

HELEN RAMON ESPER DE CARVALHO

**Estudo comparativo do Biogran® e Endobon® associados
a implantes com defeitos periimplantares.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Implantodontia.

Orientador: Prof. Adj. Osvaldo Magro Filho

**Araçatuba – SP
2015**

Catálogo na Publicação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - FOA / UNESP

- C328e Carvalho, Helen Ramon Esper de
Estudo comparativo do Biogran® e Endobon® associados a implantes com defeitos periimplantares/ Helen Ramon Esper de Carvalho. – Araçatuba, 2015.
68 f. : il.; tab. + 1 CD-ROM.
- Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
Orientador: Prof. Osvaldo Magro Filho
1. Implantes dentários. 2. Transplante ósseo. 3. Materiais biocompatíveis. I. T.

Black D7
CDD 617.64

DADOS CURRICULARES

HELEN RAMON ESPER DE CARVALHO

Nascimento 05/11/76 – Presidente Prudente/SP

Filiação Cesar Roberto Esper

Eliana Ramon Crepaldi Esper

1997/2000 **Graduação**

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo

2003/2005	Pós-Graduação
1. Graduação em Engenharia de Produção (2003/2004) 2. Graduação em Engenharia de Produção (2004/2005)	1. Pós-Graduação em Engenharia de Produção (2005/2006) 2. Pós-Graduação em Engenharia de Produção (2006/2007)

Mestrado em Odontologia

Área de Concentração Cirurgia e Traumatologia

Buco-Maxilo-Facial

Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

2012/2015 **Pós-Graduação**

Doutorado em Odontologia

Área de Concentração Implantodontia

Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

DEDICATÓRIA

AOS MEUS AMORES *BETO, MARIA LUIZA E VICTOR HUGO*, PELO AMOR DEDICADO SEMPRE, VOCÊS SÃO A MOTIVAÇÃO DE TUDO, OBRIGADO POR TEREM ME ESCOLHIDO COMO ESPOSA E MÃE, SEM VOCÊS NADA TERIA SENTIDO... OBRIGADA PELA COMPREENSÃO NAS MINHAS AUSÊNCIAS E A POSSIBILIDADE DE REALIZAÇÃO DE MAIS UM SONHO! AMOR INCONDICIONAL E ETERNO!

AGRADECIMENTOS

A *DEUS*, causa primária de todas as coisas, pelo dom da vida, pelas bênçãos recebidas todos os dias.

Aos meus pais *ELIANA* e *CESAR* pela oportunidade de existir, obrigada pelos exemplos de pessoas do bem, pelo aconchego, dedicação e amor mesmo à distância, gratidão eterna.

Aos meus irmãos *ALEXANDRE* e *DIMAS* por toda a força e incentivo que sempre me oferecem. Obrigada por serem meus parceiros de vitórias e derrotas por toda a vida, mesmo com a distância e a saudade sempre presentes.

À *FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA* sob a direção da *PROFESSORA ANA MARIA PIRES SOUBHIA* pela oportunidade da realização de mais uma etapa na minha formação.

À *COORDENADORA DA PÓS GRADUAÇÃO PROFESSORA MARIA JOSÉ HITOMI NAGATA*, pela oportunidade, exemplo de profissionalismo, competência e liderança.

Ao *PROFESSOR OSVALDO MAGRO FILHO*, meu orientador, por ter me acolhido e acreditado na minha capacidade para que tudo isso fosse possível. Obrigada pela paciência e confiança, pela compreensão e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao *PROFESSOR IDELMO RANGEL GARCIA JÚNIOR*, pela paciência e disponibilidade com que sempre me atendeu.

À PROFESSORA ROBERTA OKAMOTO, pela orientação e participação direta nas fases de realização deste trabalho, pela competência e extrema delicadeza prestada aos alunos de pós-graduação.

Aos técnicos de laboratório **DIRCE, GILMAR, PAULO GRATAO**, muito obrigada pela gentileza, disponibilidade e colaboração na confecção de deste trabalho.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação **CRISTIANE, LILIAN E VALÉRIA ZAGATTO**, pela eficiência, prontidão e generosidade com os alunos da pós-graduação.

Ao **PROFESSOR DR. ÉLCIO MARCANTÔNIO JUNIOR** pela possibilidade de utilização do Laboratório EXAKT® com a colaboração da técnica **ANA CLÁUDIA**, muito obrigada pela gentileza, educação e profissionalismo com que me tratou.

Aos funcionários da **BIBLIOTECA**, especialmente **ANA CLÁUDIA** pela gentileza e eficiência no seu trabalho.

Ao Professor **FRANCISLEY ÁVILA DE SOUZA**, pela fundamental ajuda na realização deste trabalho, pela profissionalismo, humildade e dedicação à pesquisa e ao ensino.

Ao Amigo e Professor **LEONARDO FAVERANI** pelo incentivo, educação e presteza com que sempre me acolheu.

Aos COLEGAS DE PÓS-GRADUAÇÃO GERALDO GRIZA E MARIA DEL PILAR RODRIGUES SANCHES, obrigada pelo carinho, incentivo e disponibilidade por me ajudarem na realização deste trabalho.

Ao LUAN PIER pela imensa ajuda na realização da histometria.

À PROFESSORA SONIA REGINA PANZARINI BARIONI E CELSO KOOGI SONODA por participarem da banca do meu EGQ. Muito obrigada pela ajuda e orientações, exemplo de profissionais dedicados, éticos e competentes.

Ao patologista da Fundação PIO XII, HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS, THIAGO GABRIEL pela realização das leituras das lâminas histológicas.

À empresa IMPLALIFE BIOTECNOLOGIA pelo fornecimento dos implantes utilizados nesta pesquisa.

A TODOS A MINHA GRATIDÃO ETERNA

EPÍGRAFE

***“SEM SONHOS, A VIDA NÃO TEM BRILHO
SEM METAS, OS SONHOS NÃO TÊM ALICERCE
SEM PRIORIDADES, OS SONHOS NÃO SE TORNAM
REAIS”.***

AUGUSTO CURY

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	15
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	16
LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS	17
1. INTRODUÇÃO	18
2. PROPOSIÇÃO	21
3. MATERIAL E MÉTODO	22
3.1. ANÁLISE HISTOLÓGICA	26
3.2. ANÁLISE HISTOMÉTRICA	26
3.2.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
3.3. ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA	28
3.4. TESTE BIOMECÂNICO	29
3.4.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
4. RESULTADOS	29
4.1. DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA – H.E.....	31
4.2. RESULTADO HISTOMÉTRICO	33
4.2.1. ANÁLISE QUALITATIVA	33
4.2.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
4.3. ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA	35

4.4. RESULTADO BIOMECÂNICO	38
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS	46
ANEXOS	55

RESUMO

ESPER, HR. Estudo comparativo do Biogran® e Endobon® associados a implantes com defeitos periimplantares. [Tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2015

Introdução: A utilização de biomateriais em reconstruções para implantodontia tem sido amplamente discutida nos últimos anos. **Proposição:** O objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento biológico do vidro bioativo (Biogran®) e do osso bovino (Endobon®) durante o processo de osseointegração associados a implantes com defeitos periimplantares em tíbias de rato. **Material e método:** Foram instalados 75 implantes na tíbia esquerda de 75 ratos *Wistar* machos. Os implantes foram divididos em três grupos experimentais. No Grupo 1 (Controle) foi provocado um defeito periimplantar monocortical circular e os implantes foram inseridos e deixados apenas com coágulo. No Grupo 2 os implantes foram inseridos com o mesmo defeito ósseo e o espaço preenchido com Biogran® e no Grupo 3 o espaço entre osso e implante foi preenchido com Endobon®. Os animais foram submetidos à eutanásia aos 14 e 42 dias e realizaram-se as análises histológica, histométrica (porcentagem de extensão linear de contato osso-implante - *BIC* e área óssea - *BA*), imunoistoquímica (expressão das proteínas osteocalcina - *OC* e osteopontina - *OPN*) e biomecânica (torque reverso). **Resultados:** Histologicamente todos os implantes encontraram-se osseointegrados. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nos valores de torque reverso ($p > 0,05$) aos 42 dias. Para *BIC*, aos 14 dias foi de 8,29; 15,04; e 16,20%, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Aos 42 dias, os valores médios de *BIC* foram 30,84; 33,13; e 13,93% para os mesmos grupos, demonstrando que não houveram diferenças

estatísticas entre grupos, porém com respostas diferentes entre períodos. Para a quantificação de formação óssea por área (*BA*), a resposta entre grupos difere. A resposta da *BA* média do Grupo 1 (18,75%) não difere da resposta média do Grupo 3 (21,62%). Porém, difere do Grupo 2 (34,73%). Os resultados imunoistoquímicos foram analisados por Análise Qualitativa Ordinal, que demonstraram escores de moderados a intensos, para os três grupos aos 14 e 42 dias para OC e OPN.

Conclusão: A osseointegração pode ocorrer mesmo na presença de defeitos ósseos periimplantares circulares. Os defeitos ósseos periimplantares não-críticos podem ser reparados apenas com coágulo, porém a presença do Biogran® demonstrou melhores resultados com relação a formação óssea por área (*BA*) neste modelo experimental.

Palavras-chave: Implantes dentários, transplante ósseo, materiais biocompatíveis.

ABSTRACT

ESPER, HR. Comparative study of Biogran® Endobon® associated with implants with periimplant defects. [Thesis]. Araçatuba: São Paulo University; 2015

Introduction: The use of biomaterials in reconstructions for dental implants has been widely discussed in recent years. **Proposition:** The aim of this work was to analyze the biological behavior of the bioactive glass (Biogran®) and bovine bone (Endobon®) during the osseointegration process associated with implants with peri-implant defects in rat tibia. **Material and Methods:** 75 implants were installed in the left tibia of 75 male *Wistar* rats. The implants were divided into three experimental groups. In Group 1 (Control) was caused monocortical circular peri-implant defect and the implants were inserted and left only with clot. In Group 2 implants were inserted with the same bone defect and the space filled with Biogran® and in Group 3 the space between bone and implant was filled with Endobon®. The animals were euthanized at 14 and 42 days and there were the histological analysis, histometric (percentage of linear extension bone-implant contact - BIC and bone area - BA), immunohistochemistry (expression of the proteins osteocalcin - OC and osteopontin - OPN) and biomechanics (reverse torque). **Results:** Histologically all implants were osseointegrated. No statistically significant differences were observed in the values of reverse torque ($p > 0.05$) at 42 days. For BIC, at 14 days was 8.29; 15.04; and 16.20% for the groups 1, 2 and 3, respectively. After 42 days, the BIC values were 30.84; 33.13; and 13.93% for the same groups, demonstrating that there were no statistical differences between groups, but with different responses between periods. For the quantification of bone formation per area (BA), the response differs between groups. The average BA response in Group 1 (18.75%) did not differ from the average Group 3 response (21.62%). However, different

from Group 2 (34.73%). The immunohistochemical results were analyzed by Qualitative Ordinal Analysis, which showed scores moderate to severe for the three groups at 14 and 42 days for OC and OPN. **Conclusion:** The osseointegration can occur even in the presence of circular peri-implant bone defects. Non-critical peri-implant bone defects can be repaired only with clot, but the presence of Biogran® showed better results with respect to bone formation per area (BA) in this experimental model.

Key-words: Dental Implants, Bone transplantation, Biocompatible materials.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AS – Azul de Stevenel

BA – Formação Óssea por Área

BIC – Extensão Linear de Contato Osso-Implante

CEEA – Comitê de Ética em Experimentação Animal

EDTA – Ácido Etileno-Diamino-Tetracético

FA – Fuccsina Ácida

HE – Hematoxilina e Eosina

mm - Milímetros

MMA – Metil metacrilato

OC – Osteocalcina

OPN – Osteopontina

MEC – Matriz Extra-Celular

µm - Micrometros

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema demonstrando a instalação dos implantes nos 3 grupos experimentais	25
Figura 2 - Regiões de segunda e terceira espiras padronizadas para cálculo de BIC e BA. AS/FA, (A) aumento de 10X e (B) e (C) 250X	27
Figura 3 - Pós-operatório de 14 dias. Região das espiras dos implantes em tíbia nos grupos Controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. HE aumento de 125X	31
Figura 4 - Pós-operatório de 42 dias. Região das espiras dos implantes na região medular da tíbia esquerda nos grupos controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. HE aumento de 125X	32
Figura 5 - Pós-operatório de 14 dias. Região das espiras dos implantes na região medular da tíbia nos grupos Controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. AS/FA aumento de 250X	33
Figura 6 - Pós-operatório de 42 dias. Região das espiras dos implantes na região medular da tíbia esquerda nos grupos controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. AS/FA aumento de 250X	34
Figura 7 - Quadro contendo as imagens das lâminas com imunomarcações para OC	36
Figura 8 - Quadro contendo as imagens das lâminas com imunomarcações para OPN	37

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 - Análise de Variância para extensão linear de contato osso-implante (BIC)	65
Tabela 2 - Análise de Variância para formação óssea por área (BA)	65
Tabela 3 - Teste de Tukey para comparações de médias para formação óssea por área (BA)	66
Tabela 4 - Escores atribuídos à quantidade de osteocalcina e osteopontina nos 3 grupos analisados nos períodos de 14 e 42 dias	66
Gráfico 1 - Valores obtidos para BIC nos períodos de 14 e 42 dias	67
Gráfico 2 - Médias percentuais de BIC nos 3 grupos experimentais aos 14 e 42 dias	67
Gráfico 3 - Médias percentuais de BA nos 3 grupos experimentais aos 14 e 42 dias	68
Gráfico 4 - Médias das amostras de torque reverso dos grupos Controle, Biogran e Endobon no período de 42 dias	68

1. INTRODUÇÃO

O conceito definido de osseointegração consiste na conexão direta estrutural e funcional entre o tecido ósseo normal viável e o implante em função.¹ Microscopicamente representa o contato direto entre o tecido ósseo e a superfície do implante, sem a interposição de tecido mole. Achados de microscopia eletrônica revelam que existe uma fina camada de fibras colágenas organizadas entre o tecido ósseo a superfície do titânio.² Os conceitos atuais revelam que a osseointegração vai existir quando ocorrer a fixação do implante de forma que ele permaneça imóvel e assintomático clinicamente após a incidência de carga mastigatória.³ Segundo os autores que iniciaram os estudos na implantodontia, os fatores que determinam a osseointegração podem ser a biocompatibilidade do material, o desenho do implante, o tipo de superfície, a qualidade do leito receptor, a realização de técnica cirúrgica criteriosa e a ausência de forças durante o período pós-operatório.³⁻⁵

Dois diferentes padrões de formação óssea foram descritos.⁶⁻⁷ A *osteogênese de contato* que implica em formação óssea em contato direto com a superfície do implante, e a *osteogênese à distância*, que implica na formação óssea à partir das superfícies do leito ósseo remanescente.

Outro conceito determinante na osseointegração é a estabilidade primária, buscada após o procedimento da instalação dos implantes. Altos índices de fracasso e perda de implantes têm sido atribuídos a achados associados a implantes em osso de qualidade ruim e consequentemente com estabilidade primária diminuída.⁸⁻¹⁰

Um leito ósseo em condições ideais para implante muitas vezes não é encontrado na clínica. A instalação de implantes osseointegrados em alvéolos após a

extração dental imediata, ou ainda, em áreas de qualidade e quantidade óssea deficientes como deiscências, fenestrações, defeitos verticais e periimplantares, constituem a grande parcela das condições clínicas encontradas no momento da avaliação e reabilitação oral do paciente.^{11,12} Situações como a sobrefresagem também levam cirurgiões dentistas a buscarem soluções para a falta de estabilidade primária do implante.¹³

Diante destas situações, houve a necessidade de avanços no campo das reconstruções, no sentido de preparar ou otimizar o leito receptor. Os métodos existentes para aumentos ósseos dos rebordos alveolares antes ou durante a instalação de implantes dentários podem ser variados: os enxertos autógenos, xenógenos ou aloplásticos; os fatores de crescimento; a regeneração óssea guiada; a distração osteogênica; e a combinação entre as técnicas.⁸

O enxerto xenógeno é obtido de outra espécie animal, geralmente de origem bovina, e tem sido amplamente utilizado em Implantodontia. A sua preparação envolve procedimentos de desmineralização, congelamento e secagem. Pode ser utilizado puro ou associado aos enxertos autógenos.¹⁴ O Endobon® é um exemplo de material xenógeno, é um osso desproteínizado de origem bovina. O osso bovino é muito similar ao osso humano e preenche várias das propriedades ideais para reconstrução óssea. Já foi bem pesquisado e é bem tolerado pelo corpo com uma substituição lenta, permitindo manutenção do volume a longo prazo.¹⁵

Dentre os materiais aloplásticos, uma das opções é constituída de sílica como o Biogran®, que seus grânulos atuam como carreadores para fatores de crescimento ou na promoção de células de formação óssea. Como são completamente sintéticos, não há área doadora, limitação da quantidade e sem risco de transmissão de doenças. O processo de fabricação controla o tamanho das

partículas, os espaços entre elas e sua consistência para se aproximar ao aspecto do osso natural.¹⁶ Os vidros bioativos têm se destacado como osteocondutores, são materiais com propriedades superiores à hidroxiapatita e validados pela interação da interface entre a superfície do implante e o tecidos adjacentes.¹⁷⁻¹⁹ Além disso, foi demonstrado serem de fácil manipulação, atuarem como e hemostático, além de mais estáveis em um local de sangramento do que a hidroxiapatita. Eles têm a característica peculiar a sílica na sua composição, tornando-os altamente bioativos. São estruturalmente reativos quando em contato com fluídos dos tecidos, através de uma série de reações químicas e favorecendo a reabsorção e a formação de novo tecido ósseo.²⁰⁻²⁵

A interface implante/enxerto ósseo constitui uma situação de reparo complexa, pois envolve a revascularização, a incorporação do enxerto e a integração dos implantes.²⁶ A associação de biomateriais aos implantes vem sendo estudada nos últimos anos, especialmente em defeitos pós-exodônticos e fenestrações ósseas.^{27,28} Alternativas para lidar com a sobrefresagem, porém, ainda foi pouco estudada.¹³ A utilização dos biomateriais pode reduzir micromovimentos na área cirúrgica, prevenindo a formação de tecido fibroso ao redor do implante, o que causa um deslocamento da interface osso/implante, evitando assim, o fracasso da implante.^{29,30}

Dentro desse contexto, a utilização de enxertos e biomateriais em implantodontia, principalmente em casos onde o leito receptor do implante apresenta quantidade e qualidade óssea inadequadas, se torna importante.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi analisar o comportamento biológico do vidro bioativo (Biogran®) e do osso bovino (Endobon®) durante o processo de osseointegração associados a implantes com defeitos periimplantares monocorticais em tíbias de rato. Foram realizadas as análises histológica, histométrica, imunoistoquímica e biomecânica.

3. MATERIAL E MÉTODO

Previamente à sua realização, a metodologia empregada no trabalho foi submetida ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Protocolo 2012-01109 (Anexo A)

Neste estudo foram utilizados 75 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, variedade *Wistar*) com peso corporal variando entre 250 a 300 gramas. Os animais foram alimentados com ração sólida triturada (Ração Ativada Produtor, Clayton S. A.) durante todo o experimento e água à vontade, exceto no período das 12 horas antecedentes ao ato cirúrgico.

Implantes

Neste estudo foram utilizados 75 implantes de conexão interna e módulo de inserção quadrado, confeccionados para a região tibiana do rato, com dimensão de 2mm de diâmetro e 7mm de comprimento. Todos apresentavam as mesmas características, titânio grau 4 e superfície tratada com duplo ataque ácido. (IMPLALIFE Biotecnologia, Jales, São Paulo, Brasil)

Biomateriais usados no preenchimento

Biogran®

Material aloplástico composto por vidro bioativo com tamanho de partícula de aproximadamente 300 a 350 µm (Biomet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, USA).

Endobon®

É uma hidroxiapatita cerâmica derivado de osso bovino esponjoso numa forma granulação de 500-1000 µm, totalmente desproteinado por uma alta temperatura. (Biomet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, USA).

Cirurgia experimental e descrição dos grupos

Os animais foram anestesiados via intramuscular com Cloridrato de Xilazina (Anasedan AgriBrands Ltda), na dosagem de 0,6mg/100g de peso corporal, para promover um relaxamento muscular. Na seqüência, com Cloridrato de Ketamina (Dopalen AgriBrands Ltda), na dosagem de 0,7mg/100g de peso corporal, para a obtenção do efeito anestésico. Após anestesia foi realizada a tricotomia na porção medial da tíbia direita e esquerda, anti-sepsia com solução tópica de polivinilpirrolidona- Iodo (Riodeine. – Ind. Farmac. Rioquímica Ltda) e incisão com uma lâmina de bisturi número 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão) de aproximadamente 25 mm de comprimento. O tecido foi divulsionado em espessura total, afastado por meio de descoladores de periósteo para expor a porção óssea e os animais foram divididos em 3 grupos experimentais com 25 animais por grupo, dos quais 7 animais foram utilizados para análise histométrica aos 14 e 42 dias, 4 foram utilizados para análise histológica e imunoistoquímica também aos 14 e 42 dias e 3 foram separados para análise biomecânica, apenas aos 42 dias.

Grupo 1 - Implante instalado com defeito e preenchido com coágulo: As cavidades foram feitas na seqüência de brocas lança nas 2 corticais e broca 3mm na cortical superior da tíbia esquerda. Foram preenchidas apenas com coágulo e o

implante inserido imediatamente, sem buscar estabilidade primária dos mesmos (figura 1).

Grupo 2 – Implante instalado com defeito e preenchido com Biogran®: As cavidades foram feitas na sequência de brocas do grupo 1. Foram completamente preenchidas com o biomaterial e o implante inserido imediatamente.

Grupo 3 – Implante instalado com defeito e preenchido com Endobon®: As cavidades foram feitas na mesma sequência de brocas do grupo 1. As cavidades foram completamente preenchidas com o biomaterial e o implante inserido imediatamente.

Na sequência os tecidos foram suturados em planos, empregando-se fio reabsorvível (Poliglactina 910 – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brasil), com pontos contínuos no plano profundo e com fio monofilamentar (Nylon 5.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brasil) com pontos interrompidos no plano mais externo.

Após os procedimentos cirúrgicos os animais receberam injeção intramuscular de 20.000 U.I. de Penicilina G benzatina (Fontoura Wyeth S. A. Indústrias Farmacêuticas, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e Dipirona Sódica (1mg/Kg/dia, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil) em dose única.

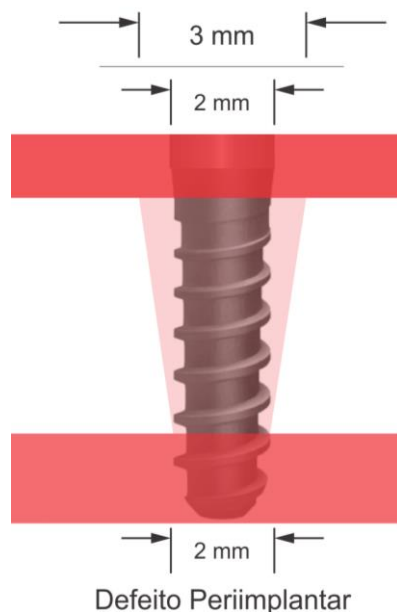


Figura 1 - Esquema demonstrando a instalação dos implantes nos 3 grupos experimentais.

Eutanásia e preparo das amostras para análise microscópica

No período de 14 dias, 11 animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia e para os 42 dias, mais 14 animais, por meio de superdosagem anestésica. As metáfises das tíbias foram removidas e suas margens reduzidas a aproximadamente 1 cm e fixadas em solução de fomalina tamponada 10% (Reagentes Analíticos; Dental Dinâmica Ltda, Catanduva, Brasil) por 48 horas e lavadas em água corrente por 24 horas.

3.1. ANÁLISE HISTOLÓGICA

Foram utilizadas 4 tíbias para cada grupo e para cada período. As amostras foram fixadas em formalina, descalcificadas em Ácido Etilenodiamino tetra-acético (EDTA, 18%) por 5 semanas, os implantes foram removidos e, em seguida, foram desidratadas em sequência de alcoóis e diafanizadas. As peças foram mergulhadas em xilol e incluídas em parafina separadamente e receberam cortes de 5µm de espessura. Os cortes foram montados em lâminas histológicas e corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina (H.E.).

As imagens obtidas dos cortes semi seriados foram analisadas em microscópio óptico (Jenamed 2 Histology, Carl Zeiss, Jena/Alemanha) e capturadas por meio de uma câmera fotográfica digital (sistema AxioCam ICcl, Carl Zeiss Microimaging) acoplada ao microscópio e ao computador Itautec infowayST43443329 DC, monitor LG®E2355V, 800x600 dpi. A captura das imagens foi feita através do aplicativo Axio Vision Release 4.8.2 SPI (12-2011), Carl Zeiss, Alemanha). Buscou-se identificar as características do reparo ósseo e a qualidade da osseointegração em cada grupo experimental nos períodos de 14 e 42 dias.

3.2. ANÁLISE HISTOMÉTRICA

Após a fixação em formaldeído, as tíbias de 7 animais de cada grupo no período de 14 e 42 dias também foram lavadas e submetidas a uma sequência de concentrações crescentes de alcoóis com troca de solução a cada 24 horas seguido de banho de acetona por 24 horas. Logo após, foram imersas resina fotopolimerizável (Technovit 7200 VLC; Exakt Advanced Technologies GmbH, Norderstedt, Germany). Após obtenção dos blocos em resina acrílica, os espécimes

foram submetidos a cortes semi precisos utilizando uma serra (Exakt Advanced Technologies) e submetidos a um polidor automático (Exakt Advanced Technologies) com lixas de diferentes graduações e obtidos assim os cortes com espessura média de 70um. As lâminas foram coradas usando Stevenel's Blue + Fucsina Ácida. As imagens foram capturadas e analisadas pelo software Image J (Processing Software and Image Analysis. Ontario, ON, Canada) (ANEXO C). Foram feitas análises de extensão linear de contato osso-implante (BIC), medindo-se o perímetro (valores convertidos em %) das regiões de segunda e terceira espiras dos dois lados do implante, padronizados para todos os grupos (fig. 2). Também foram analisadas as porcentagens de formação óssea por área (BA), padronizando se a área óssea dentro do espaço triangular entre as duas espiras de cada lado selecionadas para BIC (Anexo C).

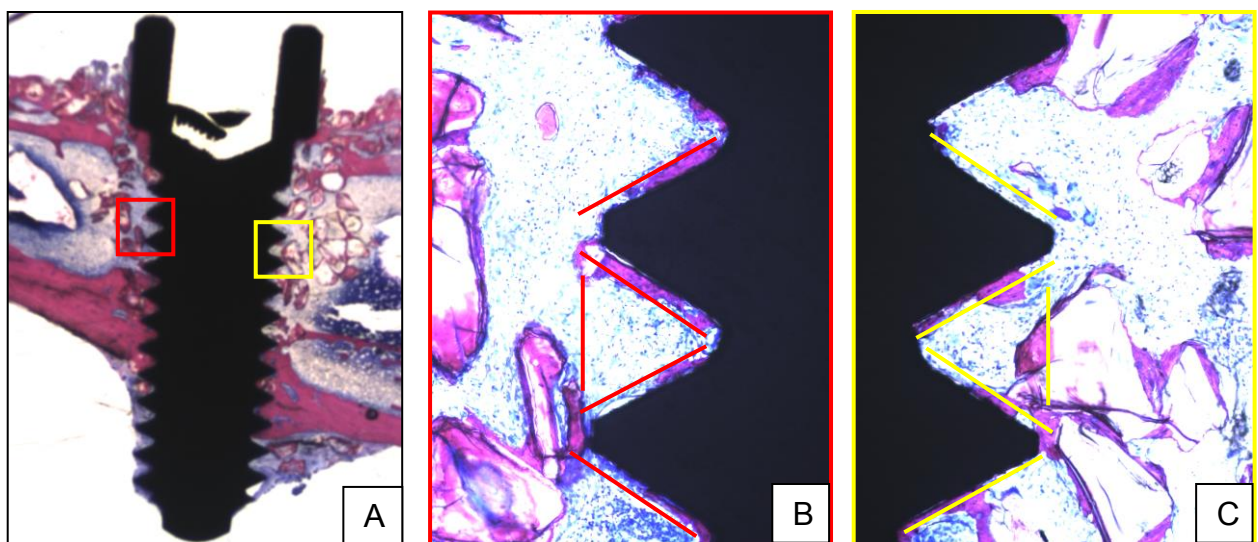


Figura 2 - Regiões de segunda e terceira espiras padronizadas para cálculo de BIC e BA. AS/FA, (A) aumento de 10X e (B) e (C) 250X.

3.2.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O efeito entre tratamentos, entre períodos e a interação entre grupo e período foi medido por Análise de Variância Univariada composta de um modelo fatorial completo, enquanto que a diferença entre as médias dos referidos efeitos foram avaliadas pelo Teste de Comparações Múltiplas de Médias de Tukey ($\alpha=5\%$).

3.3. ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA

Foram utilizadas 4 tíbias de cada grupo e de cada período. Foi realizada a inibição da atividade da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio, a recuperação antigênica com o tampão citrato por 20 minutos e o bloqueio das reações inespecíficas com leite desnatado e albumina bovina durante as incubações dos anticorpos.

Foram utilizados anticorpos primários contra as proteínas Osteopontina (OPN) e Osteocalcina (OC) (Santa Cruz Biotechnology), com o objetivo de se obter marcações para análise qualitativa que representariam a expressão dessas proteínas caracterizando neoformação e mineralização óssea nos diferentes períodos e grupos estudados. Utilizou-se anticorpo secundário biotinilado (Pierce Biotechnology), o amplificador Streptavidina Biotina (DAKO) e a diaminobenzidina (Dako) como cromógeno. Ao término das reações foi realizada a contra-coloração dos cortes com Hematoxilina de Harris.

Para a análise foi utilizado um microscópio óptico com objetiva de aumento 16 e 25X Leica Aristoplan Microsystems (Leitz, Bensheim, Alemanha) acoplado a uma câmera de captura de imagem (Leica DFC 300FX, Leica microsystems,

Heerbrugg, Switzerland) e conectado a um microcomputador com um software analisador de imagens digitalizadas (Leica Câmera Software Box, Leica Imaging Manager -IM50 Demo Software). Duas imagens foram obtidas de cada lâmina para análise: A região cortical superior do implante e a região medular. Para efeito comparativo da intensidade das imunomarcações entre os grupos experimentais, foi criado um escore onde as imunomarcações foram classificadas em uma escala de 4 graus (ausente – 0, leve -1, moderada-2 e intensa-3), caracterizando uma Análise Qualitativa Ordinal.

3.4. TESTE BIOMECÂNICO

Em todos os grupos experimentais, apenas no tempo pós-operatório de 42 dias foi feita a análise biomecânica por meio do torque reverso dos implantes previamente à eutanásia dos mesmos. Foram utilizados 3 animais de cada grupo. Os animais foram anestesiados segundo protocolo descrito anteriormente e foi realizada uma nova incisão na porção medial das tíbias para a exposição dos implantes. As chaves intermediárias foram adaptadas nos implantes e em seguida, foi aplicada a força de torque reverso para a remoção dos implantes. O teste foi realizado aumentando-se o torque reverso até a rotação do implante no interior do tecido ósseo, rompendo completamente a interface osso/implante, momento este em que o torquímetro (Analogic Torque Meter, 15-BTG, Tohnichi, Tokyo, Japan) com escala graduada de 3 N.cm à 24 N.cm, registrou a força necessária para este rompimento.

3.4.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância para um delineamento inteiramente ao acaso, com 3 tratamentos e 3 repetições, e nível de significância de 5%. Nas comparações múltiplas das médias, utilizou-se o teste de Tukey (nível de significância = 0,05). Para essas análises foi utilizado o procedimento General Linear Models (GLM) do programa computacional SAS (SAS 9.1, SAS Institute, Cary. NC, USA).

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA – H.E.

14 dias

Aos 14 dias notou-se neoformação óssea medular leve, com fina camada óssea na interface medula-implante no grupo controle (seta preta – Fig. 3A) e mais espessa nos grupos tratados. Verificou-se a presença do biomaterial (setas vermelhas – Fig. 3B e 3C) nos grupos tratados e trabéculas ósseas neoformadas ao redor das partículas de biomaterial. Na região cortical observa-se neoformação óssea cortical leve, em atividade osteogênica e remodelação. Não se verifica fibrose nos grupos Controle e no Endobon®. No Biogran® observou-se fibrose leve, focal, discreta, não significativa. Nenhum dos grupos apresentou reação inflamatória. Nos 3 grupos observa-se a formação de osso imaturo, mais celularizado (setas verdes – Fig. 3A, 3B e 3C).

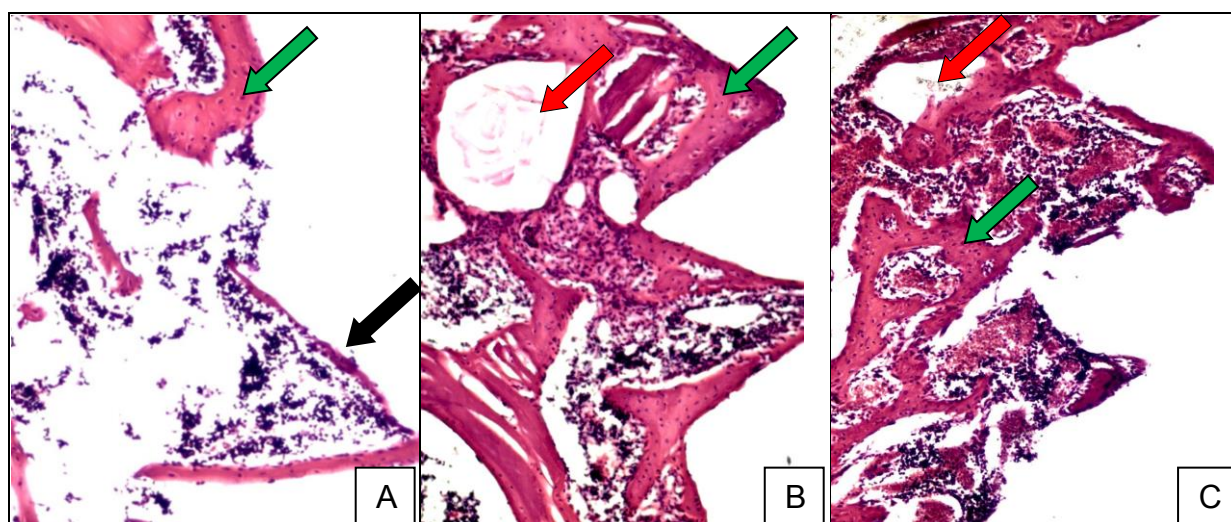


Figura 3 - Pós-operatório de 14 dias. Região das espiras dos implantes em tíbia nos grupos Controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. HE aumento de 125X.

42 dias

Neste período o processo de remodelação se mostra claro com relação à disposição do tecido neoformado remodelado, corticalizado, com osso lamelar em contato com a superfície dos implantes em maior ou menor espessura de acordo com a região tibiana (setas pretas – Fig. 4A, 4B, 4C). Cortical e medula se encontram bem organizadas, ocupando, a medula, a maior parte dos vales nas áreas centrais e junto às corticais, o osso lamelar prevalece. Verifica-se a presença dos biomateriais nos grupos tratados (setas vermelhas – Fig. 4B e 4C). Não se observa a presença de fibrose nos grupos Controle e Biogran® e no grupo Endobon® observa-se fibrose discreta e focal, não significativa na cortical.

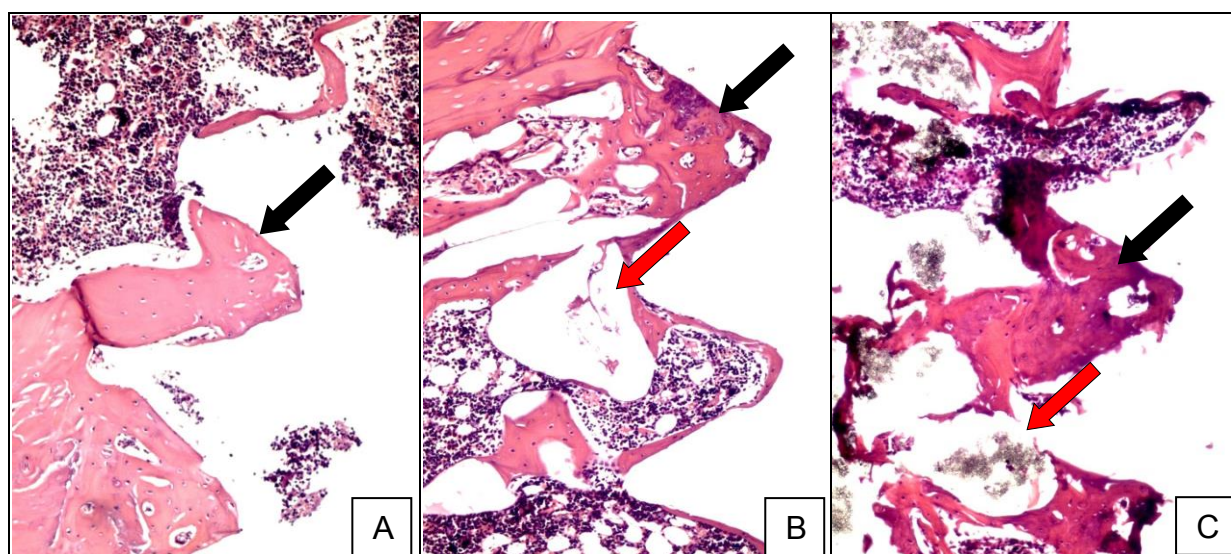


Figura 4 - Pós-operatório de 42 dias. Região das espiras dos implantes na região medular da tíbia esquerda nos grupos controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. HE aumento de 125X.

4.2. RESULTADO HISTOMÉTRICO

4.2.1. ANÁLISE QUALITATIVA – AZUL DE STEVENEL + FUCCINA ÁCIDA (AS/FA)

14 dias

Aos 14 dias no grupo controle observa-se a presença de tecido conjuntivo na região medular nos picos e vales das roscas dos implantes (seta preta – Fig. 5A). Já nos grupos tratados observa-se neoformação óssea medular leve, com formação de algumas trabéculas ósseas imaturas (setas verdes – Fig. 5B e 5C). Verifica-se a presença do biomaterial (setas vermelhas – Fig. 5B e 5C) nos grupos tratados e trabéculas ósseas neoformadas ao redor das partículas de biomaterial. Na região cortical superior no grupo controle, observa-se a presença de tecido conjuntivo em contato com a área de assentamento da cabeça do implante (módulo de rebordo) e nos grupos tratados a presença de biomaterial na região. Nenhum dos grupos apresentou reação inflamatória significativa.

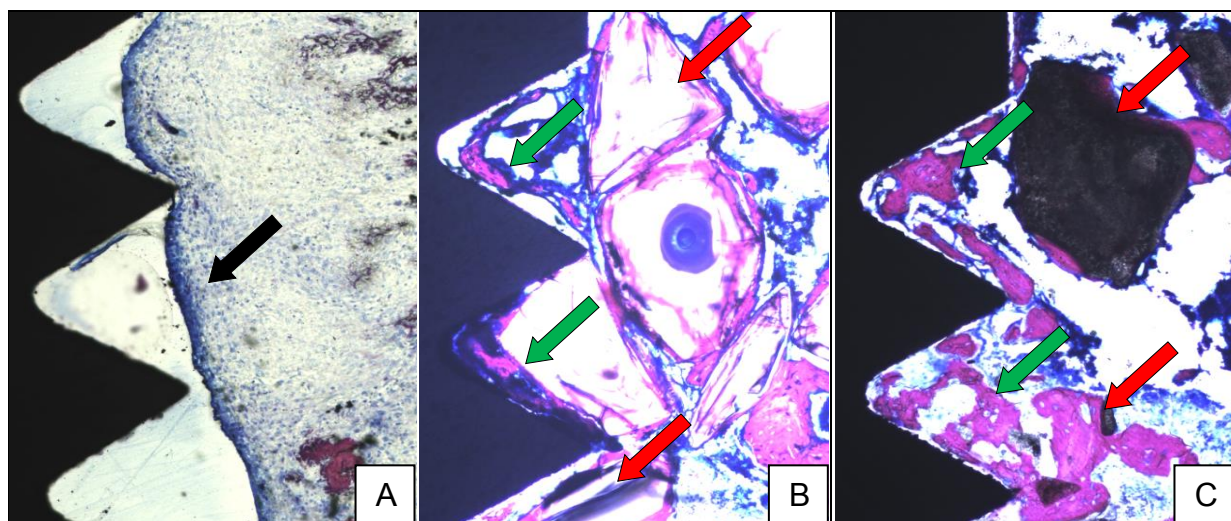


Figura 5 - Pós-operatório de 14 dias. Região das espiras dos implantes na região medular da tíbia nos grupos Controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. AS/FA aumento de 250X.

42 dias

Neste período observa-se a presença de tecido ósseo neoformado remodelado, corticalizado, com osso lamelar em contato com a superfície dos implantes em maior ou menor espessura de acordo com a região tibiana (setas amarelas – Fig. 6A, 6B, 6C). Cortical e medula se encontram bem organizadas, ocupando, a medula, a maior parte dos vales nas espiras medulares. Na área cortical superior do implante as interfaces revelam a presença de tecido ósseo neoformado celularizado em contato com a superfície do implante, principalmente na área de assentamento da cabeça do implante (módulo de rebordo), em função de sua localização cortical. Verifica-se que os biomateriais se mantiveram presentes ao final do processo analisado (setas vermelhas – Fig. 6B e 6C).

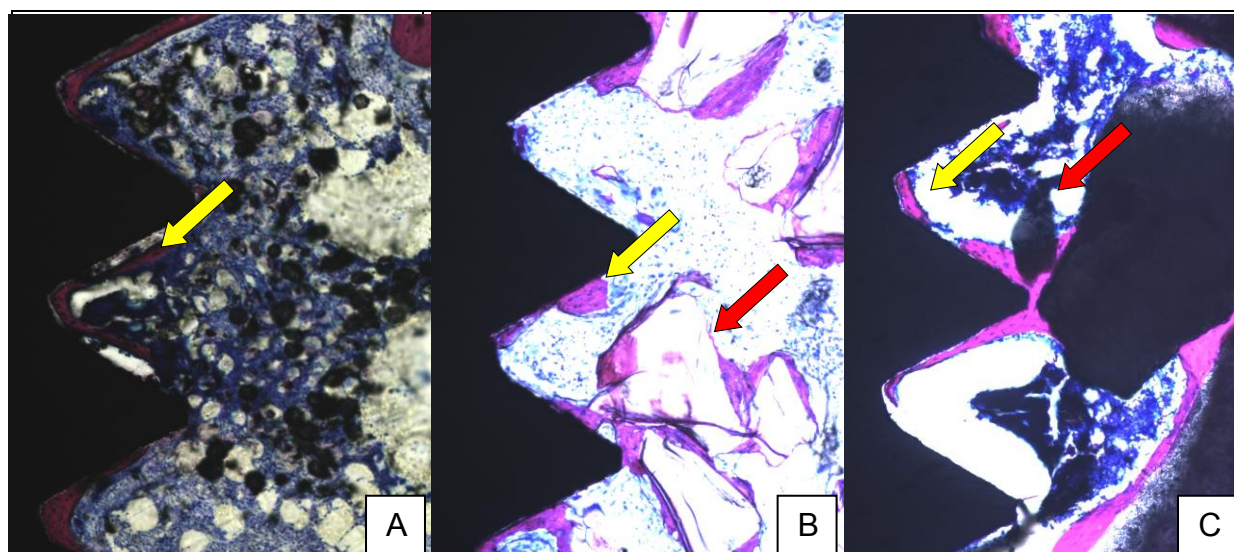


Figura 6 - Pós-operatório de 42 dias. Região das espiras dos implantes na região medular da tíbia esquerda nos grupos controle, Biogran® e Endobon®, respectivamente. AS/FA aumento de 250X.

4.2.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

1º Resultado – Extensão linear de contato osso-implante em % (BIC)

Não há efeito da formação óssea entre os grupos. Porém a formação óssea tem resposta diferente entre períodos (Gráfico 1 e 2).

As respostas das interações envolvendo grupo e período foram as mesmas, porém, para o GIII, $p=0,056$ muito próximo de $p=0,05$, o que sugere-se não descartar uma provável interação (Tabela 1).

2º Resultado – Formação óssea por área em % (BA)

A resposta entre grupos difere. A resposta da formação óssea média do grupo 1 (18,75%) não difere da resposta média do grupo 3 (21,62%). Porém, difere do grupo 2 (34,73%) (Tabela 2 e 3).

4.3. RESULTADO IMUNOISTOQUÍMICO

Foram realizadas reações imunoistoquímicas utilizando anticorpos contra as proteínas Osteocalcina (OC) e Osteopontina (OPN). O objetivo foi obter marcações para análise qualitativa que representassem a expressão destas proteínas caracterizando mineralização óssea nos diferentes grupos e períodos estudados. Na tabela 4 estão representados os escores de expressão das proteínas.

Osteocalcina (OC) – Aos 14 dias, para o grupo controle, observa-se importante marcação positiva de OC nos osteoblastos e tecido ósseo formado junto às espiras dos implantes (Figura 7A). Aos 42 dias observa-se tecido ósseo formado junto às espiras dos implantes, mostrando maturidade e marcação positiva para OC junto à MEC (figura 7D). No grupo Biogran, aos 14 dias, observa-se uma delgada camada de tecido ósseo junto às espiras e osteoblastos marcados para OC, mostrando aumento de atividade de

síntese da MEC. (figura 7B). Aos 42 dias, marcação positiva para OC junto à cortical óssea, mostrando a mineralização deste tecido e o seu grau de maturidade. Junto às espiras, tecido ósseo em atividade de remodelação com início de precipitação de OC sobre a MEC. (figura 7E). No grupo Endobon, aos 14 dias observa-se a presença de tecido ósseo junto aos implantes e importante marcação positiva para osteoblastos junto às trabéculas ósseas, bem como osteócitos envoltos pelo tecido ósseo. Não foi possível observar marcação de OC sobre a MEC, aspecto compatível ao período analisado. (figura 7C). Aos 42 dias, presença de tecido ósseo delgado junto às espiras, mostrando o processo de osseointegração em desenvolvimento. O trabeculado delgado apresenta marcação positiva para OC, mostrando o processo de mineralização da MEC em andamento. (figura 7F).

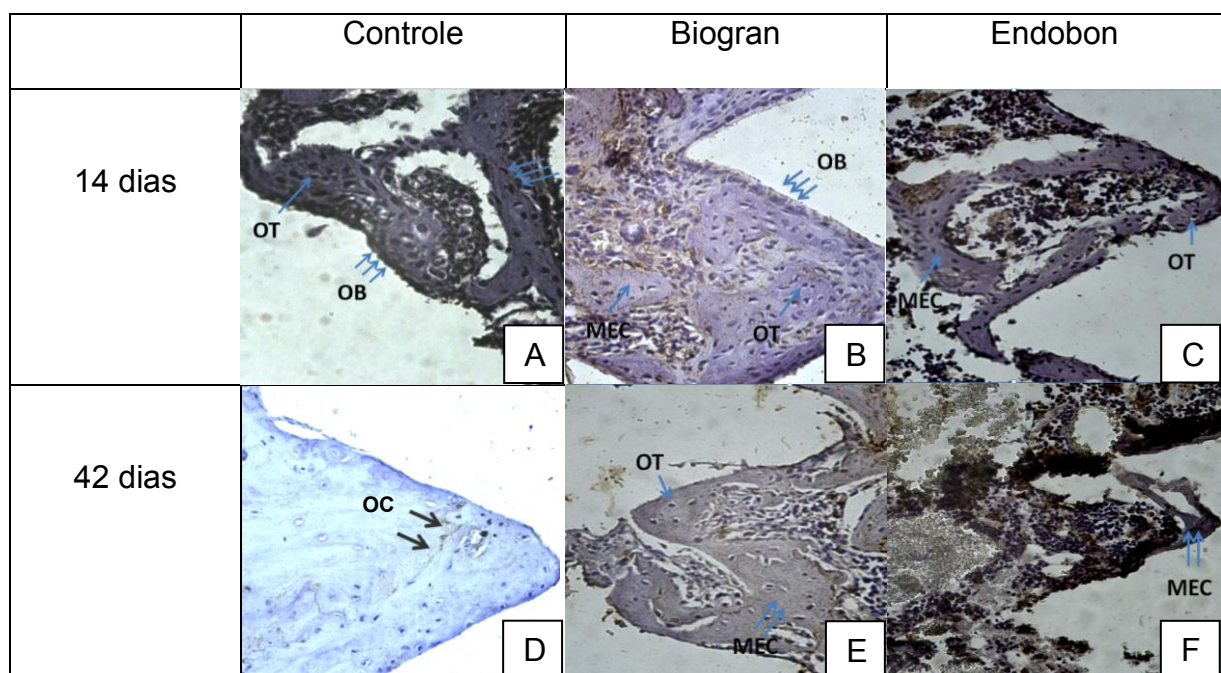


Figura 7 - Quadro contendo as imagens das lâminas com imunomarcações para OC. OT: osteócitos; MEC: matriz extra celular; OB: osteoblastos; OC: osteocalcina. Aumento 250X.

Osteopontina (OPN) – No grupo controle, aos 14 dias, observa-se a presença de osteoblastos e osteócitos positivos para OPN, grande celularização e pouco tecido ósseo

formado (figura 8A). Aos 42 dias, tecido ósseo maduro com marcação da OPN nas linhas cementantes (figura 8D). Para o grupo Biogran, aos 14 dias, observa-se tecido ósseo formado junto às espiras mostrando marcação positiva para OPN nos osteoblastos. Não foi possível observar linhas de reversão, positivas para OPN (figura 8B). Aos 42 dias, grande quantidade de osso em atividade de remodelação junto às espiras. Presença de osteoblastos marcados por OPN que também se mostra precipitada sobre a MEC. Não se observam as linhas de reversão marcadas para OPN (figura 8E). No grupo Endobon, aos 14 dias observa-se marcação positiva para OPN em osteoblastos e osteócitos. Não foram observadas marcações para OPN em linhas de reversão, mostrando um tecido ósseo recém-formado (figura 8C). Aos 42 dias, marcação positiva para OPN ostrando a presença desta proteína que caracteriza início da mineralização e marcação positiva para OPN nas linhas cementantes (reversão) (figura 8F).

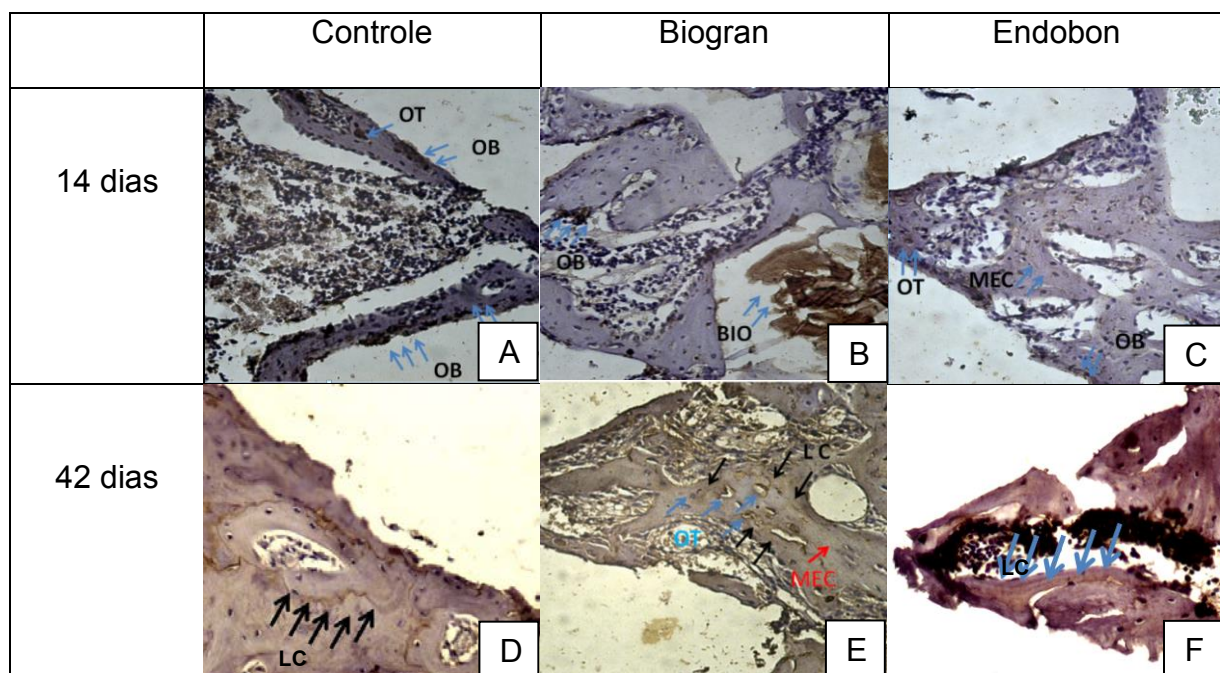


Figura 8 - Quadro contendo as imagens das lâminas com imunomarcações para OPN. OT: osteócitos; MEC: matriz extra celular; OB: osteoblastos; LC: linhas cementantes; BIO: biomaterial.

4.4. RESULTADO BIOMECÂNICO

Aos 42 dias os valores de torque reverso podem ser observados no gráfico 4, com os valores médios de 10,16 N.cm para o grupo I, 9,50 N.cm para o Grupo II e 10,33 N.cm para o Grupo III. Pelas comparações múltiplas das médias e pelo teste de Tukey ($\alpha=5\%$) as médias dos tratamentos não diferiram significativamente entre si para o torque reverso ($p > 0,05$). (ANEXO D)

5. DISCUSSÃO

A osseointegração é definida como uma ligação estrutural e funcional direta entre o osso vivo e a superfície de um implante, tipicamente feito de titânio. No rato, os implantes não são carregados; portanto, um aspecto da definição de osseointegração não é cumprido. Mantendo essa limitação em mente, a questão da melhor forma de avaliar a osseointegração ainda permanece: histologia somente, tomografia microcomputadorizada, ou testes biomecânicos. Histologia e histomorfometria de espécimes descalcificadas tradicional são os métodos mais utilizados para avaliar a interface osso/implante.³¹

A seleção da tíbia de ratos para a avaliação reparação óssea é justificada principalmente pela abordagem cirúrgica fácil pela semelhança que tem com a microarquitetura do osso alveolar humano.³¹

No presente estudo, procuramos encontrar uma alternativa para ocasiões críticas como tecido ósseo de baixa qualidade ou a distância entre osso e o implante provocada por sobrefresagem ou em implantações pós-exodônticas, para melhoria do travamento primário e estabilidade dos implantes. Muitos autores discutem a distância permitida entre o implante e a parede alveolar, associado ou não a biomateriais. Os alvéolos pós-exodônticos apresentam um diâmetro maior que o diâmetro do implante, o que causa um “gap” ou defeito periimplantar e influencia sua estabilidade e a osseointegração.^{32;33} Em 1977, Schenk e Willenegger³⁴ realizaram estudo em coelhos e observaram formação óssea comprometida em defeitos periimplantares acima de 1.0 mm. Harris et al., (1983)³⁵ afirmavam que a distância entre a parede óssea e o implante maior que 0,5 mm comprometia o estabelecimento de um aceitável contato osso/implante. Em 1988, Carlsson et al.³⁶

utilizaram o mesmo modelo experimental comparando 3 valores de defeito (A=0 mm, B=0.35 mm e C=0.85 mm) e puderam observar gaps residuais nos grupos B e C nos períodos de 6 e 12 semanas. Em 1999, Akimoto et al.³⁷ ao instalarem implantes pós-exodônticos em cães avaliaram defeitos periimplantares de 0.5 a 1.4 mm após 12 semanas. Os resultados demonstraram que a dimensão do defeito é inversamente proporcional ao contato osso/implante. Entretanto, Botticelli et al. (2003)³⁶, Paolantonio et al. (2001)³⁸, encontraram diferentes resultados em defeitos criados com 1 mm e 2 mm, respectivamente, concluindo que estes defeitos marginais são preenchidos por osso e com alto grau de osseointegração, independentemente da utilização de barreiras mecânicas. No presente estudo o defeito circunferencial provocado foi de 3 mm, gerando uma distância periimplantar de 0,5 mm, para se evitar fraturas na tíbia do rato com o peso e idade estabelecidos.

A literatura não se mostra conclusiva em estudos pré-clínica onde se avalia a osseointegração em modelos de estabilidade primária comprometida por defeitos periimplantares circulares ou sobrefresagem e o uso de biomateriais como uma alternativa para melhorar a osseointegração. O presente estudo foi realizado na tíbia de ratos utilizando implantes submersos, com não mais do que 0,5 mm de distância entre o implante e o osso. Neste estudo os implantes com estabilidade apenas na cortical inferior permaneceram submersos e livres de cargas funcionais durante o processo de cicatrização óssea. Vários estudos já demonstraram que a presença de micromovimentos nesta fase favorece a formação de uma cápsula fibrosa ao redor dos implantes.^{30;39;40}

No entanto, num modelo de defeito periimplantar circular de 0,5mm, os resultados mostraram a formação de novo osso em torno dos implantes em todas as amostras experimentais, observados por análise histológica, imunoistoquímica (presença de OC e OPN) e análise biomecânica (contra-torque). O resultado se mostra favorável a este modelo de defeito periimplantar; ele mostra que osseointegração ainda pode ser alcançada mesmo sem estabilidade primária do implante. Isso vai depender da distância entre o implante e o tecido ósseo e de quão favorável se encontra o ambiente biológico.¹³

O presente experimento confirmou a biocompatibilidade do Biogran® e Endobon®, uma vez que não se verificou resposta inflamatória nos períodos analisados (14 e 42 dias). O Endobon® é uma hidroxiapatita cerâmica derivado de osso bovino esponjoso numa forma granulação de 500-1000 µm, totalmente desproteinado por altas temperaturas no processo de fabricação que garante segurança contra bactérias, vírus e prions. O processo elimina o elemento orgânico e depois passa por um processo de ceramização que cria uma estrutura cristalina o qual garante a ausência de reações imunológicas e confere a biocompatibilidade.¹⁵ Aos 42 dias observa-se fibrose discreta e focal cortical, irrelevante no grupo de implantes com defeito periimplantar e Endobon®, confirmando a capacidade de incorporação do material.⁴¹⁻⁴³

O material Biogran® apresenta tamanho de partícula de 300-355 µm, considerada ideal para aplicação clínica.⁴⁴ Já foi demonstrado altos índices de sucesso na instalação de implantes osseointegrados em defeitos preenchidos com vidros bioativos, independente do tempo de preenchimento com o biomaterial, antes, durante ou após a instalação do implante.⁴⁵⁻⁴⁹ Neste estudo, a estratégia de

preenchimento do defeito simultaneamente ao implante, não verificou-se perda de nenhum implante nos tempos pós-operatórios analisados.

Na análise histológica não foi observada reação inflamatória em nenhum dos grupos e períodos experimentais analisados. Para o grupo controle, observa-se neoformação óssea leve, em atividade osteogênica e remodelação aos 14 dias e moderada aos 42 dias após a instalação dos implantes. Aos 42 dias, notou-se maior corticalização nos espaços correspondentes às espiras dos implantes. Entre os substitutos ósseos utilizados (Biogran® e Endobon®), não foram observadas diferenças expressivas entre os grupos nos períodos analisados (14 e 42 dias).

Na análise histométrica os valores encontrados para BIC aos 14 dias foram 8,29% para o grupo controle, 15,04% para o grupo Biogran e 16,20% para o grupo Endobon. Já aos 42 dias os valores foram de 30,84, 33,13 e 13,93%, respectivamente. A análise estatística demonstrou que não houve efeito da formação óssea para grupos (ou entre grupos). Porém a formação óssea tem resposta diferente entre períodos. As respostas das interações envolvendo grupo e período foram as mesmas, porém $p=0,056$ muito próximo de $p=0,05$, o que sugere-se não descartar uma provável interação do grupo 3 (Endobon®) (gráfico 1). Para avaliação da formação óssea por área (BA) entre os picos das espiras selecionadas os valores encontrados foram 13,95% para o grupo controle, 34,63% para o grupo Biogran® e 26,11% para o grupo Endobon®. Já aos 42 dias os valores foram de 23,54; 34,88 e 17,13%, respectivamente. Estes valores para BA demonstram que resposta entre grupos difere. A resposta da formação óssea média do grupo Controle (18,75%) não difere da resposta média do grupo Endobon® (21,62%). Porém, difere do grupo Biogran (34,73%) pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$), demonstrando melhor

comportamento deste grupo. De acordo com Moore et al., 2001⁵⁰ os grânulos do vidro bioativo são mais rapidamente reabsorvidos que os da hidroxiapatita, portanto permitem uma neoformação óssea mais precoce no reparo de defeitos ósseos.

A análise da expressão das proteínas Osteocalcina (OC) e Osteopontina (OPN) contribuiu para a avaliação qualitativa dos mecanismos de mineralização óssea.^{51;52} Nos 3 grupos experimentais os escores para OC e OPN foram semelhantes na Análise Qualitativa Ordinal (Tabela 4). A OC é uma proteína da matriz extracelular relacionada com o processo de mineralização do tecido ósseo. Caracteriza-se por apresentar marcação positiva em osteoblasto, osteócitos e matriz extracelular. É uma glicoproteína fosforilada não colágena secretada na matriz óssea pelos osteoblastos.⁵³ A expressão da OPN está relacionada à regulação de processos de mineralização do tecido ósseo, sendo evidenciada em células ósseas (osteoblastos e osteócitos) e em células osteoprogenitoras em proliferação e diferenciação, também promove a diferenciação e adesão dos osteoblastos e osteoclastos.^{51;52} Embora a união de todas as análises sejam relevantes para conclusão de um experimento, a análise imunoistoquímica vem ganhando credibilidade há algum tempo em virtude das descobertas em biologia óssea.⁵⁴ A identificação de mecanismos de regulação e do crescimento celular de osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, dentre outras envolvidas no processo de remodelação óssea, tornou-se de grande relevância na utilização destas técnicas para avaliação de eventos ocorridos durante o processo de reparo ósseo.⁵⁵

Na análise biomecânica observa-se que em todos os grupos os implantes ofereceram resistência ao torque, sem diferenças significantes entre si. O teste de torque reverso está entre um dos testes biomecânicos *in vivo* mais comuns

utilizados para avaliar a força de interação entre osso e superfície do implante.^{56;57} Uma alta resistência à remoção do implante encontrada durante estes testes indica boa interação entre osso e superfície do implante.

Há que se ressaltar que todos os implantes utilizados receberam tratamento de superfície com duplo ataque ácido, tendo já estabelecido que a configuração da superfície desempenha importante papel tanto no aumento da área disponível para osseointegração quanto no modo de aderência de coágulo à superfície.⁵⁸ A importância da configuração da superfície para osseointegração já foi descrita em estudos anteriores em defeitos periimplantares.⁵⁹ O tratamento de superfície promove melhores respostas biológicas, especialmente em regiões de baixa densidade óssea como encontrada na maxila posterior.⁶⁰

Neste estudo foi constatado que as análises histométrica, biomecânica e imunoistoquímica se confirmam, uma vez que nota-se que a neoformação óssea ocorreu ao redor das espiras dos implantes em todos os grupos experimentais, com resistência ao torque de remoção. Porém o grupo Biogran® demonstrou superioridade do biomaterial com relação à porcentagem de neoformação óssea (BA) quando comparado ao Controle e ao Endobon®.

Futuros estudos se fazem necessários para analisar o comportamento biológico dos biomateriais associados à instalação de implantes osseointegrados no mesmo tempo cirúrgico, numa tentativa de se corrigir defeitos periimplantares, diminuir micromovimentos e favorecer a estabilidade primária dos mesmos.

6. CONCLUSÃO

A osseointegração pode ocorrer mesmo na presença de defeitos ósseos periimplantares. Os defeitos ósseos periimplantares não-críticos podem ser reparados apenas com coágulo, porém a presença do Biogran® demonstrou melhores resultados com relação a formação óssea por área neste modelo experimental.

7. REFERÊNCIAS

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981;10:387-416.
2. Albrektsson T, Lekholm U. Osseointegration: current state of the art. *Dent Clin North Am* 1989;33(4):537-554.
3. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1(1):11-25
4. Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intra-osseous Anchorage of dental protheses. I. Experimental Studies. *Scand J Plast Reconst Surg* 1969;3:81-100.
5. Albrektsson T, Zarb G. A current interpretations of the osseointegrated response: Clinical significance. *Int J Prosthodont* 1993;6:95-105.
6. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977;16:1-132.
7. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 1998;11(5):391-401.

8. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. J Dent Educ 2003; 8:932-49.
9. Buser D, Weber HP, Bragger U, Balsiger C. Tissue integration of one-stage ITI implants: 3-year results of a longitudinal study with Hollow-Cylinder and Hollow-Screw implants. Int J Oral Maxillofac Implants 1991;6(4):405-412.
10. Deporter DA, Watson PA, Booker D. Simplifying the treatment of edentulism: a new type of implant. J Am Dent Assoc 1996;127(9):1343-1349.
11. Buser D, Dula K, Hess D, Hirt, HP, Belser UC. Localized ridge augmentation with autografts and barrier membranes. Periodontol 2000 1999;19:151-163.
12. Stentz WC, Mealey BL, Nummikoski PV, Gunsolley JC, Waldrop TC. Effects of guided bone regeneration around commercially pure titanium and hydroxyapatite-coated dental implants. I. Radiographic analysis. J Periodontol 1997;68(3):199-208.
13. Queiroz TP, Souza FÁ, Okamoto R, Luvizuto ER, Margonar R, Garcia IR Jr, Hochuli- Vieira E. Compromised primary implant stability. J Craniofac Surg 2012;23(5):524-528.
14. Young C, Sandstedt P, Skoglund A. A comparative study of anorganic xenogenic bone and autogenous bone implants for bone regeneration in rabbits. Int J Oral Maxillofac Implants 1999;14(1):72-76.

15. Ramirez-Fernandez MP, Calvo-Guirado JL, Delgado-Ruiz RA, Maté-Sánchez del Val JE, Vicente-Ortega V, Meseguer-Olmos L. Bone response to hydroxyapatites with open porosity of animal origin (porcine [OsteoBiol®mp3] and bovine [Endobon®]): a radiological and histomorphometric study. Clin Oral Impl Res 2011; 22: 767–773.
16. Darby. Periodontal materials. Australian Dental Journal 2011;56(1):107-118.
17. Misch CE, Dietsh FD. Bone-grafting materials in implant dentistry. Implant Dent 1993(2): 158–167.
18. Vrouwenvelder WCA, Groot CG, Groot K. Histological and biochemical evaluation of osteoblast cultured on bioactive glass, hydroxylapatite, titanium alloy and stainless steel. J Biomed Mater Res 1993;27:465–475.
19. Chan C, Thompson I, Robinson P, Wilson J, Hench L. Evaluation of Bioglass/dextran composite as a bone graft substitute. Int J Oral Maxillofac Surg 2002;31:73–77.
20. Oonishi HS, Kushitani E, Yasukawa H, Iwaki LL, Hench J, Wilson E, Tsuji T. Sugihara. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. Clin Orthop Relat Res 1997;334:316-325.
21. Schepers E, De Clercq M, Ducheyne P, Kempeneers R. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. J Oral Rehabil 1991;18:439–452.

22. Furusawa T, Mizunuma K. Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone-grafting material. *Implant Dent* 1997;6:93–101.
23. Schepers E, Ducheyne P. Bioactive glass particles of narrow size range for the treatment of oral bone defects: a 1-24 month experiment with several materials and particle sizes and size ranges. *J Oral Rehabil* 1997;4:71-81.
24. Wheeler SL. Sinus augmentation for dental implants: the use of alloplastic materials. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55(11):1287-1293.
25. Oonishi H, Hench LL, Wilson J, Sugihara F, Tsuji E, Kushitani S, Iwaki H. Comparative bone growth behavior in granules of bioceramic materials of various sizes. *J Biomed Mater Res* 1999; 44: 31–43.
26. Sjöström M, Lundgren S, Nilson H, Sennerby L. Monitoring of implant stability in grafted bone using resonance frequency analysis. A clinical study from implant placement to 6 months of loading. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; 34(1):45-51.
27. Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. The influence of a biomaterial on the closure of a marginal hard tissue defect adjacent to implants. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2004;15:285-292.

28. Jung RE, Ha`lg GA, Thoma DS, et al. A randomized, controlled clinical trial to evaluate a new membrane for guided bone regeneration around dental implants. Clin Oral Implants Res 2009;20:162-168.
29. Huiskes R, Van Driel WD, Prendergast PJ, et al. A biomechanical regulatory model for periprosthetic fibrous-tissue differentiation. J Mater Sci Mater Med 1997;8:785-788.
30. Lioubavina-Hack N, Lang NP, Karring T. Significance of primary stability for osseointegration of dental implants. Clin Oral Implants Res 2006;17:244-250.
31. Glösel B; Kuchler U; Watzek G; Gruber R. Review of Dental Implant Rat Research Models Simulating Osteoporosis or Diabetes. Int J Oral Maxillofac Implants 2010;25:516–524.
32. Botticelli D; Berglundh T; Buser D; Lindhe J. The jumping distance revisited: an experimental study in the dog. Clinical Oral Implants Research 2003;14(1):35–42.
33. Botticelli D, Renzi A, Lindhe J, Berglundh T, Implants in fresh extraction sockets: a prospective 5-year follow-up clinical study. Clinical Oral Implants Research 2008;19(12):1226– 1232.
34. Schenk RK, Willenegger HR. Histology of primary bone healing: modifications and limits of recovery of gaps in relation to extent of the defect. Unfallheilkunde 1977;80(5):155– 160.

35. Harris WJ, White, RE, McCarthy JC, Walker PS Weinbrg EH. Bony ingrowth fixation of the acetabular component in canine hip joint arthroplasty. Clin Orthop Rel Res 1983; 176:7-11.
36. Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Implant fixation improved by close fit. Cylindrical implantbone interface studied in rabbits. Acta Orthopaedica Scandinavica 1988;59(3):272–275.
37. Akimoto K; W. Becker W; R. Persson R, D. A. Baker DA, M. D. Rohrer MD, and R. B. O'Neal RB. Evaluation of titanium implants placed into simulated extraction sockets: a study in dogs. The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 1999;14(3):351–360.
38. Paolantonio M, Dolci M, Scarano A. Immediate implantation in fresh extraction sockets: a controlled clinical and histological study in man. J Periodontol 2001;11:1560-1571.
39. Yeh CK, Rodan GA. Tensile forces enhance prostaglandin E synthesis in osteoblastic cells grown on collagen ribbons. Calcif Tissue Int 1984;36(1):67-71.
40. Brunski JB. Implants. Biomaterials and biomechanics. CDA J 1988;16(1):66-77.
41. Gierse H & Donath K. Reactions and complications after the implantation of Endobon® including morphological examination of explants. Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery 1999;119:349–355.

42. Khodadadyan-Klostermann C, Liebig T, Melcher I, Raschke M, Haas NP. Osseous integration of hydroxyapatite grafts in metaphyseal bone defects of the proximal tibia (CT-study). *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 2002;69(1):16-21.
43. Ramírez-Fernández MP, Calvo-Guirado JL, Delgado-Ruiz RA, Maté-Sánchez del Val JE, Gómez-Moreno G, Guardia J. Experimental model of bone response to xenografts of bovine origin (Endobon®): a radiological and histomorphometric study. *Clin Oral Implants Res* 2010;22(7):727-734.
44. Wheeler DL, Stokes KE, Hoellrich RG, Chamberland DL; McLoughlin SW. Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. *J Biomed Materials Res* 1998;41:527–533.
45. Johnson MW, Sullivan SM, Rohrer M; Collier M. Regeneration of peri-implant infrabony defects using PerioGlas: a pilot study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1997;12: 835–839.
46. Schepers E, Barbier L; Ducheyne P. Implant placement enhanced by bioactive glass particles of narrow size range. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:655–665.
47. Tadjedin ES, de Lange GL, Lyaruu DM, Kuiper L; Burger EH. High concentrations of bioactive glass material (Bio-Gran) vs. autogenous bone for sinus floor elevation. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:428–436.

48. Stvrtecky R, Gorustovich A, Perio C, Guglielmotti MB. A histologic study of bone response to bioactive glass particles used before implant placement: a clinical report. *J Prosthodont Dentistry* 2003;90:424–428.
49. Roriz VM, Rosa AL, Peitl O, Zanutto ED, Panzeri H, de Oliveira PT. Efficacy of a bioactive glass–ceramic (Biosilicates) in the maintenance of alveolar ridges and in osseointegration of titanium implants. *Clin Oral Impl Res* 2010;148–155.
50. Moore WR, Graves SE, Brain GI. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg* 2001;71(6):354-361.
51. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol* 2000. 2000;24:99-126.
52. Alford AI, Hankenson KD. Matricellular proteins: Extracellular modulators of bone development, remodeling, and regeneration. *Bone*. 2006;38(6):749-757.
53. Papagerakis P, Berdal A, Mesbah M, Peuchmaur M, Malaval L, Nydegger J, Simmer J, Macdougall M. Investigation of osteocalcin, osteonectin, and dentin sialophosphoprotein in developing human teeth. *Bone* 2002;30(2):377-385.
54. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;42:5050-5055.

55. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 2003;82:372-376.
56. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce S. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater* 2007;2(13),1–10.
57. Steigenga J, Al-Shammari K, Misch C, Nociti Jr FH, Wang HL. Effects of implant thread geometry on percentage of osseointegration and resistance to reverse torque in the tibia of rabbits. *J Periodontol* 2004;75,1233–1241.
58. Davies JE, Mendes VC, Ko JC, Ajami E. Topographic scale-range synergy at the functional bone/implant interface. *Biomaterials* 2014;35(1):25-35.
59. Botticelli D, Berglundh T, Persson LG, Lindhe J. Bone regeneration at implants with turned or rough surfaces in self-contained defects. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32(5):448-455.
60. Weannerberg A, Albrektsson T. Current challenges in successful rehabilitation with oral implants. *J Oral Rehabil* 2011;38; 286-294.

ANEXO A – Comitê de Ética



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

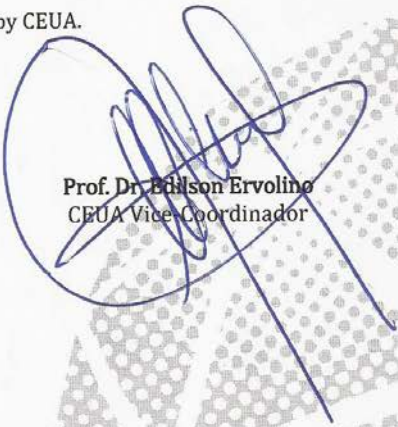
Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "Avaliação do processo de reparo periimplantar em implantes com e sem estabilidade primária associada ou não à reconstrução óssea. Estudo histomorfométrico, imunoistoquímico e biomecânico" sob responsabilidade do Pesquisador **OSVALDO MAGRO FILHO** e colaboração de Helen Ramon Esper de Carvalho e Idelmo Rangel Garcia Júnior está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o protocolo **2012-01109**.

CERTIFICATE

We certify that the research "Evaluation of the periimplantar repair process with and without primary stability with or without bone reconstruction. Histomorphometric, immunohistochemical and biomechanical study", protocol number **2012-01109**, under responsibility of **OSVALDO MAGRO FILHO** and with collaboration of Helen Ramon Esper de Carvalho and Idelmo Rangel Garcia Júnior agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.


Prof. Dr. Edilson Ervolino
CEUA Vice-Coordenador

Faculdade de Odontologia e Faculdade de Medicina Veterinária - Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal - Rua Clóvis Pestana, 793 CEP 16050-680 Araçatuba - SP
Tel (18) 3636-1440 Fax (18) 3636-1403 E-mail: fabianocadioli@fmva.unesp.br

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA.

JOMI

The International Journal of
ORAL & MAXILLOFACIAL IMPLANTS

GUIDELINES FOR AUTHORS

MANUSCRIPT SUBMISSION

Submit manuscripts via JOMI's online submission service:
www.manuscriptmanager.com/jomi
Manuscripts should be uploaded as a Word (doc) file with tables and figures preferably embedded at the end of the document.
No paper version is required.

Acceptable material. Original articles are considered for publication on the condition they have not been published or submitted for publication elsewhere (except at the discretion of the editors). Articles on implant or tissue engineering (TE) basic or clinical research, clinical applications of implant/TE research and technology, proceedings of pertinent symposia or conferences, quality review papers, and matters of education related to the implant/TE field are invited.

Number of authors. Authors listed in the byline should be limited to four. Secondary contributors can be acknowledged at the end of the article. (Special circumstances will be considered by the editorial chairman.)

Review/editing of manuscripts.

Manuscripts will be reviewed by the editorial chairman and will be subjected to blind review by the appropriate section editor and editorial staff consultants with expertise in the field that the article encompasses. The publisher reserves the right to edit accepted manuscripts to fit the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency, subject to the author's final approval.

Adherence to guidelines. Manuscripts that are not prepared in accordance with these guidelines will be returned to the author before review.

ONLINE ONLY ARTICLES

All technology and case reports will appear in online format only. Articles are listed in the issue's Table of Contents and abstracts are printed in the issue. Full text of articles is available online.

MANUSCRIPT PREPARATION

The journal will follow as much as possible the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Group) in regard to preparation of manuscripts and authorship (Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997;126:36-47). See <http://www.icmje.org>

- **Manuscripts** should be double-spaced with at least a one-inch margin all around. Number all pages. Do not include author names as headers or footers on each page.
- **Title page.** Page 1 should include the title of the article and the name, degrees, title, professional affiliation, and full address of all authors. Phone, fax, and e-mail address must also be provided for the corresponding author, who will be assumed to be the first-listed author unless otherwise noted. If the paper was presented before an organized group, the name of the organization, location, and date should be included.
- **Abstract/key words.** The abstract should include a maximum of 350 words. A list of key words should be provided, not to exceed six. Abstracts for basic and clinical research articles must be structured with the following four sections: Purpose, Materials and Methods, Results, and Conclusions. Abstracts of short communications should also be structured but should be a maximum of 250 words. For all other types of articles (i.e., literature reviews, technical and case reports), abstracts should not exceed 250 words and need not be structured.
- **Article text.** Currently there is no article page limit (within reason).
- **Acknowledgments.** Persons who have made substantive contributions to the study can be acknowledged at the end of the article. Also specify grant or other financial support, citing the name of the supporting organization and grant number.
- **Legends.** Figure legends should be typed as a group at the end of the manuscript. Detailed legends are encouraged. For photomicrographs, specify original magnification and stain.
- **Tables.** Each table should be logically organized, typed on a separate page at the end of the manuscript, and numbered consecutively. Table title and footnotes should be typed on the same page as the table.
- **Abbreviations.** The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement.
- **Trade names.** Generic terms are to be used whenever possible, but trade names and manufacturer name should be included parenthetically at first mention.
- **Numbers.** Per SI convention, authors are requested to use decimal points rather than commas for fractional numbers.

REFERENCES

- All references must be cited in the text, numbered in order of appearance.
- The reference list should appear at the end of the article in numeric sequence.
- Do not include unpublished data or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.
- Avoid using abstracts as references.
- Provide complete information for each reference, including names of all authors (up to six). If the reference is to part of a book, also include title of the chapter and names of the book's editor(s).

Journal reference style:

1. Waasdorp J, Reynolds MA. Allogeneic bone onlay grafts for alveolar ridge augmentation: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:525-531.

Book reference style:

1. Wikasjo LME, Hanisch O, Sigurdsson TJ, Caplanis N. Application of rhBMP-2 to alveolar and periodontal defects. In: Lynch SE, Genov RJ, Marx RE (eds). *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago: Quintessence, 1999:269-286.

ARTICLE ACCEPTANCE

Article acceptance is pending receipt of images judged to be of sufficient quality for publication (see the guidelines below). Once a manuscript is accepted, authors should submit high-resolution digital image files (by email or on disk) to:

Managing Editor

JOMI
Quintessence Publishing Co, Inc
4350 Chandler Drive
Hanover Park, IL 60133

Email: jomi.submit@quintpub.com

The disk/package should be labeled with the first author's name, shortened article title, and article number.

DIGITAL IMAGES/ACCEPTED ARTICLES

When preparing final images to send, consider the following points:

- Resolution must be at least 300 dpi when the image is 3 inches wide.
- Images saved in TIFF format are preferred, but JPG or EPS files are acceptable.
- Images grouped together must be saved as individual files.
- Images containing type should either be saved as a layered file or provided along with a second file with type removed.
- Line art (graphs, charts, drawings) should be provided as vector art (AI or EPS files).
- Please do not embed images into other types of documents (eg, Word, Excel, PowerPoint, etc).

MANDATORY SUBMISSION FORM

The Mandatory Submission Form (accessible at www.quintpub.com) must be signed by all authors and can be uploaded as a separate document with the article submission, or it can be mailed (see address above) or faxed (830-736-3634) to the JOMI Managing Editor.

PERMISSIONS AND WAIVERS

- Permission of author and publisher must be obtained for the direct use of material (text, photos, drawings) under copyright that does not belong to the author.
- Waivers must be obtained for photographs showing persons, otherwise faces will be masked to prevent identification.
- Permissions and waivers should be faxed along with the Mandatory Submission Form to the JOMI Managing Editor (830-736-3634).

REPRINTS

Reprints can be ordered from the publisher. Authors receive a 40% discount on quantities of 100 or 200.

ANEXO C

Passos para mensuração histométrica

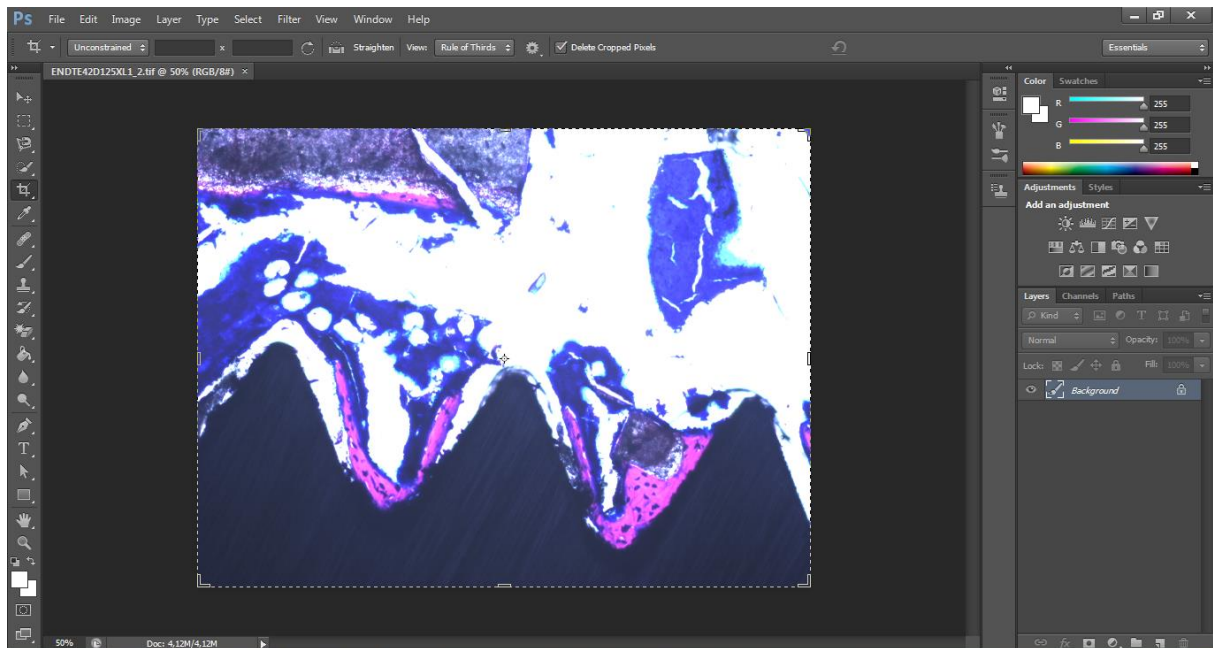


Figura 1 - Imagem Capturada

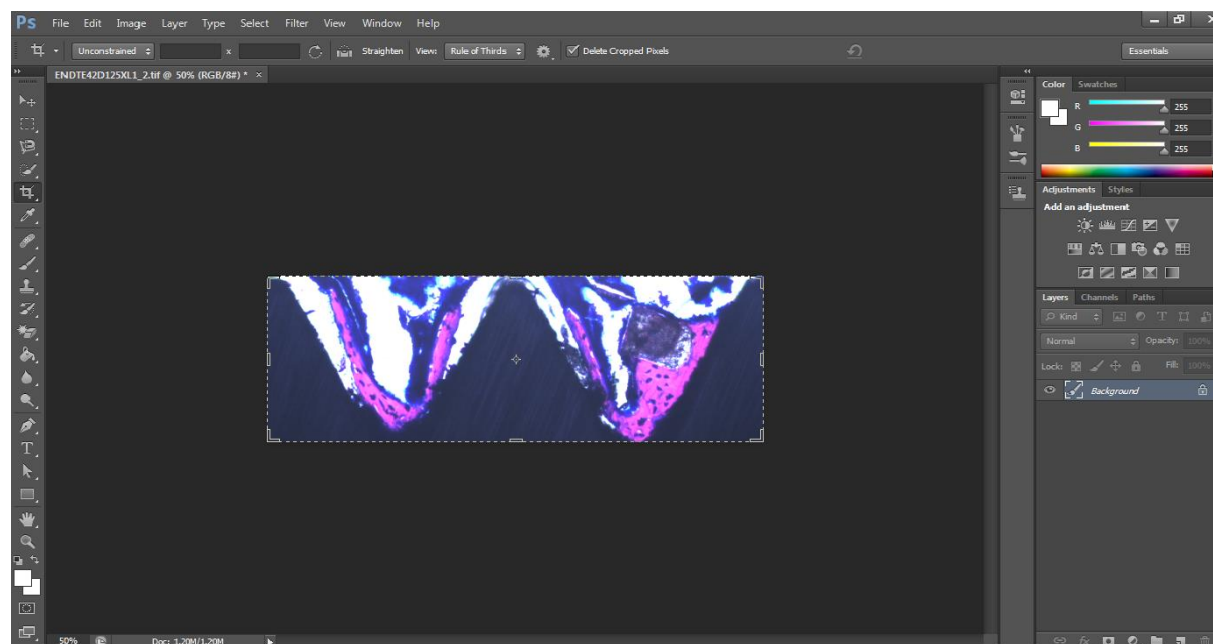


Figura 2 - Recorte da área padronizada para histometria

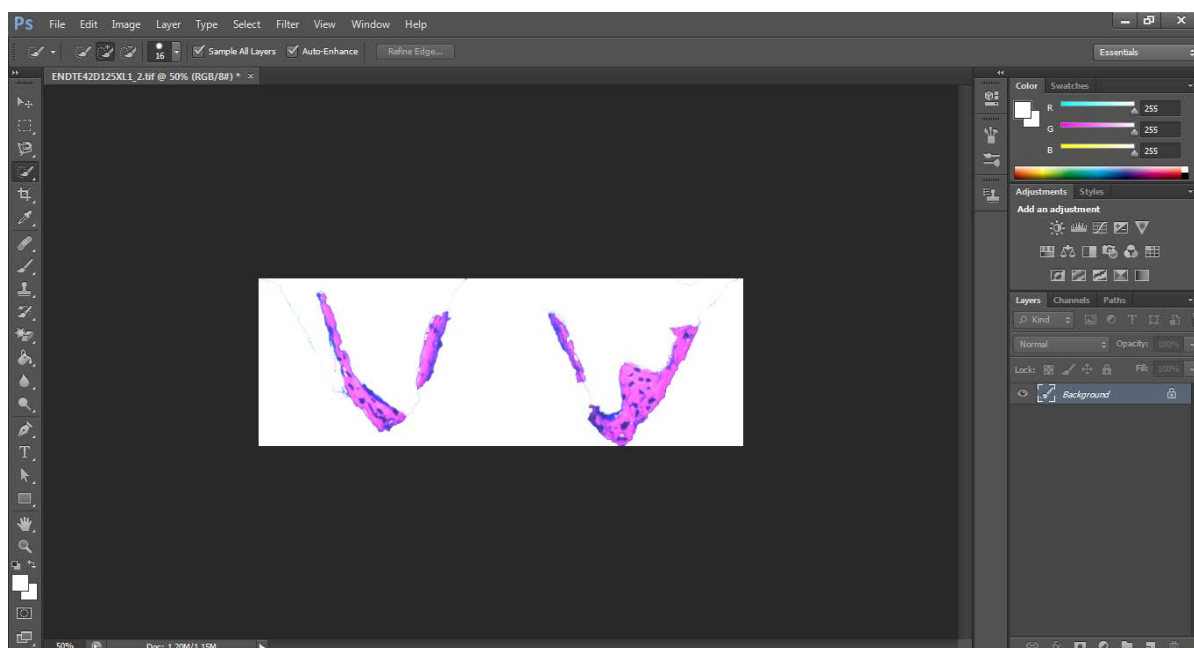


Figura 3 - Seleção apenas da área óssea a ser mensurada.

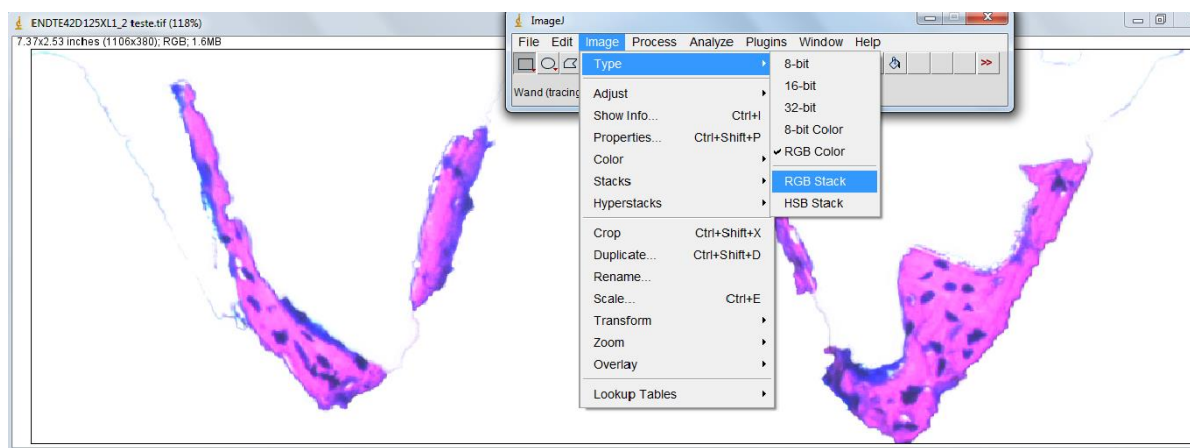


Figura 4 - Seleção apenas da área óssea a ser mensurada.

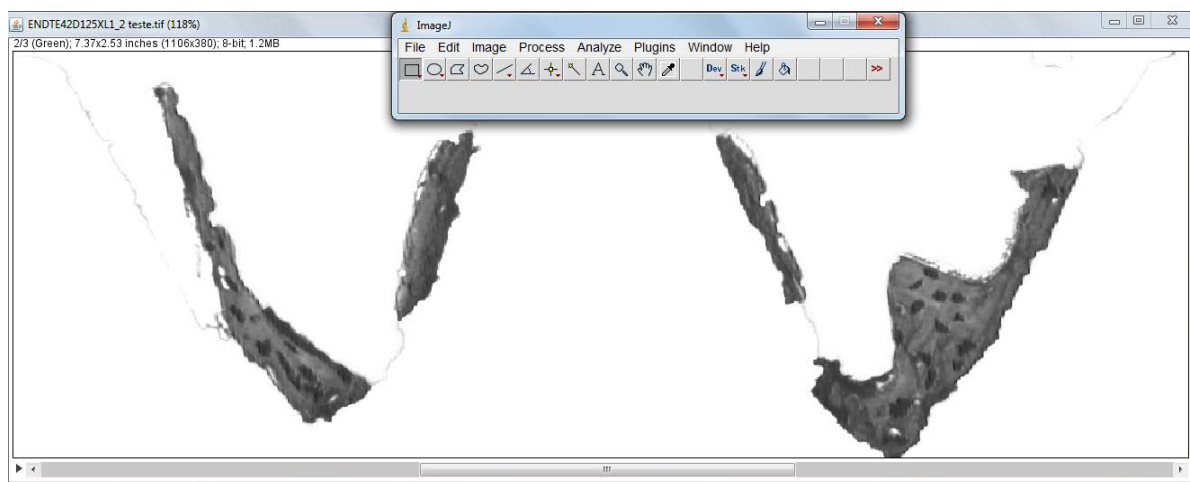


Figura 5 - No software Image J, pela ferramenta selecionada, diminui-se totalmente o contraste de cores, deixando a imagem cinza.

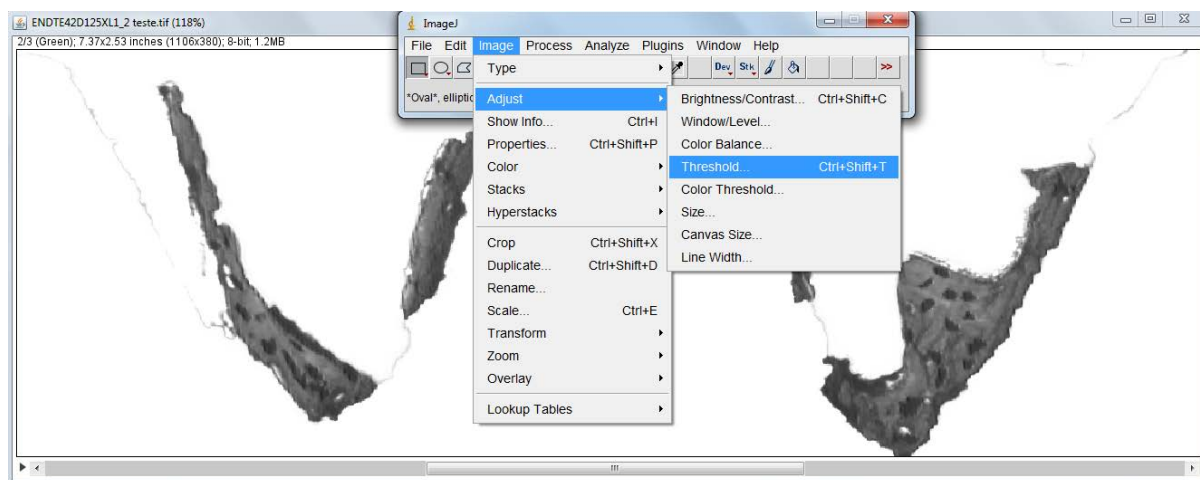


Figura 6 - A área cinza é hachurada pelo próprio software

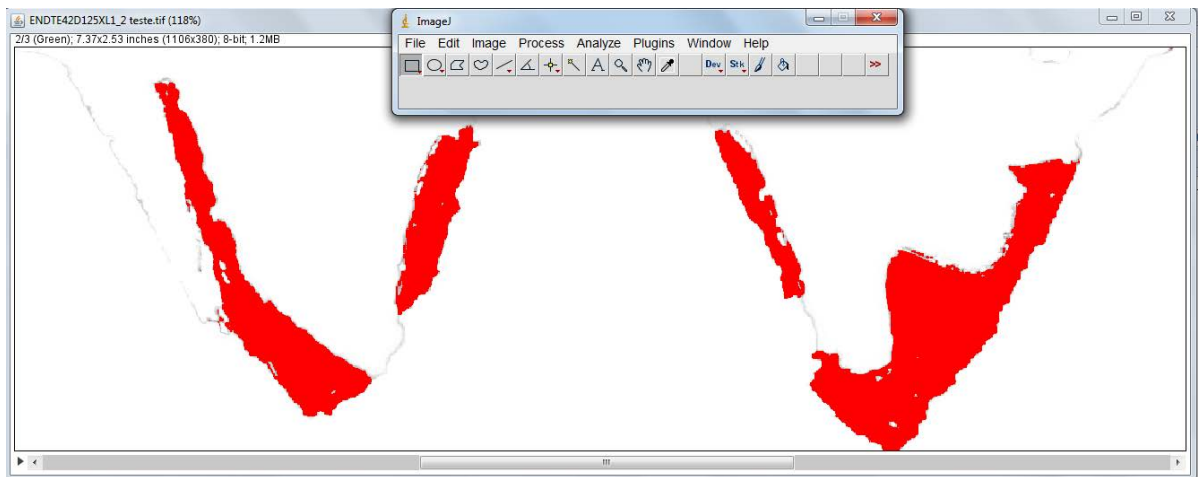


Figura 7 - A área cinza é hachurada pelo próprio software

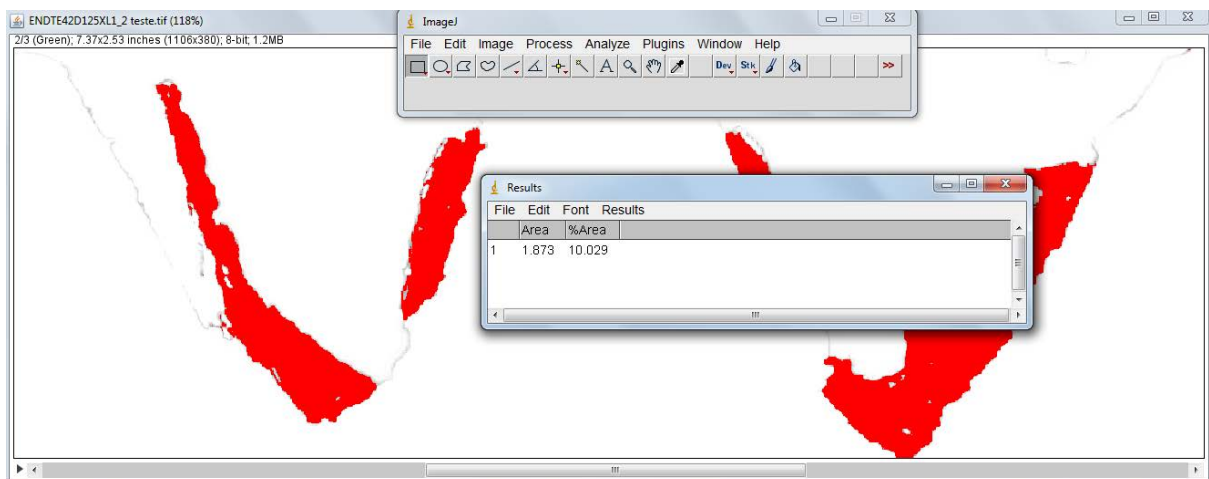


Figura 8 - A área hachurada é mensurada automaticamente e fornece resultados em pixels e em %.

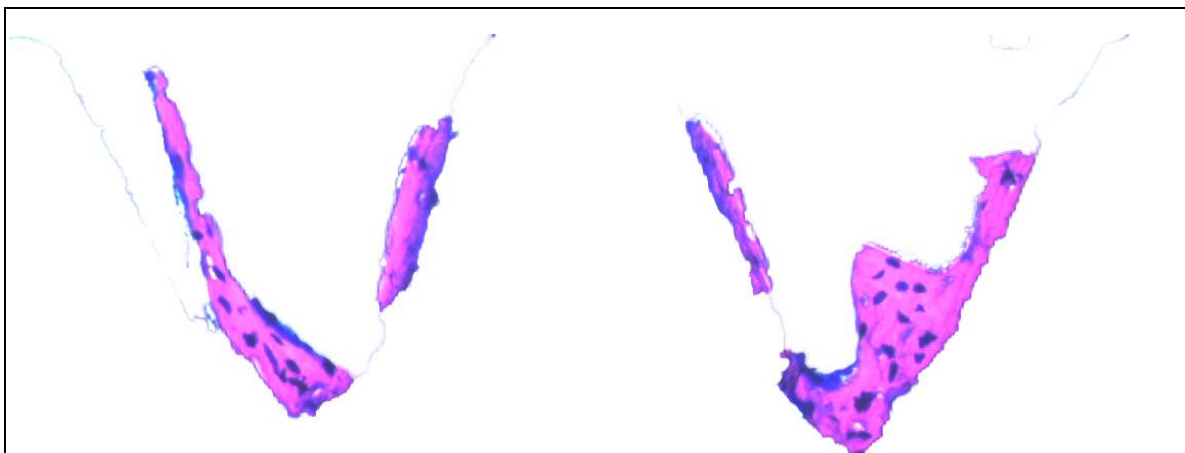


Figura 9 - A área hachurada é mensurada automaticamente e fornece resultados em pixels e em %.

ANEXO D

TESTE ESTATÍSTICO (RESULTADO BIOMECÂNICO)

Obs	Trat	Animal	Ve
1	1	1	15.0
2	1	2	8.0
3	1	3	7.5
4	2	1	10.0
5	2	2	8.5
6	2	3	10.0
7	3	1	10.0
8	3	2	11.0
9	3	3	10.0

Trat=1

Analysis Variable : Ve						
N	Mean	Std Dev	Std Error	Coeff of Variation	Minimum	Maximum
3	10.166666 7	4.193248 5	2.420973 2	41.245067 6	7.500000 0	15.000000 0

Trat=2

Analysis Variable : Ve						
N	Mean	Std Dev	Std Error	Coeff of Variation	Minimum	Maximum
3	9.500000 0	0.866025 4	0.500000 0	9.116056 9	8.500000 0	10.000000 0

Trat=3

Analysis Variable : Ve						
N	Mean	Std Dev	Std Error	Coeff of Variation	Minimum	Maximum
3	10.333333	0.577350	0.333333	5.587260	10.000000	11.000000
	3	3	3	7	0	0

Class Level Information		
Class	Levels	Values
Trat	3	1 2 3
Animal	3	1 2 3
Ve	6	7.5 8 8.5 10 11 15

Number of Observations Read	9
Number of Observations Used	9

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	1.16666667	0.58333333	0.09	0.9118
Error	6	37.33333333	6.22222222		
Corrected Total	8	38.50000000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Ve Mean
0.030303	24.94438	2.494438	10.00000

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Trat	2	1.16666667	0.58333333	0.09	0.9118

The GLM Procedure

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Ve

Note This test controls the Type I experimentwise error rate, but it generally has a higher Type II error rate than : REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	6
Error Mean Square	6.22222 2
Critical Value of Studentized Range	4.33902
Minimum Significant Difference	6.2489

Means with the same letter are not significantly different.			
Tukey Grouping	Mean	N	Trat
A	10.333	3	3
A			
A	10.167	3	1
A			
A	9.500	3	2

ANEXO E – GRÁFICOS

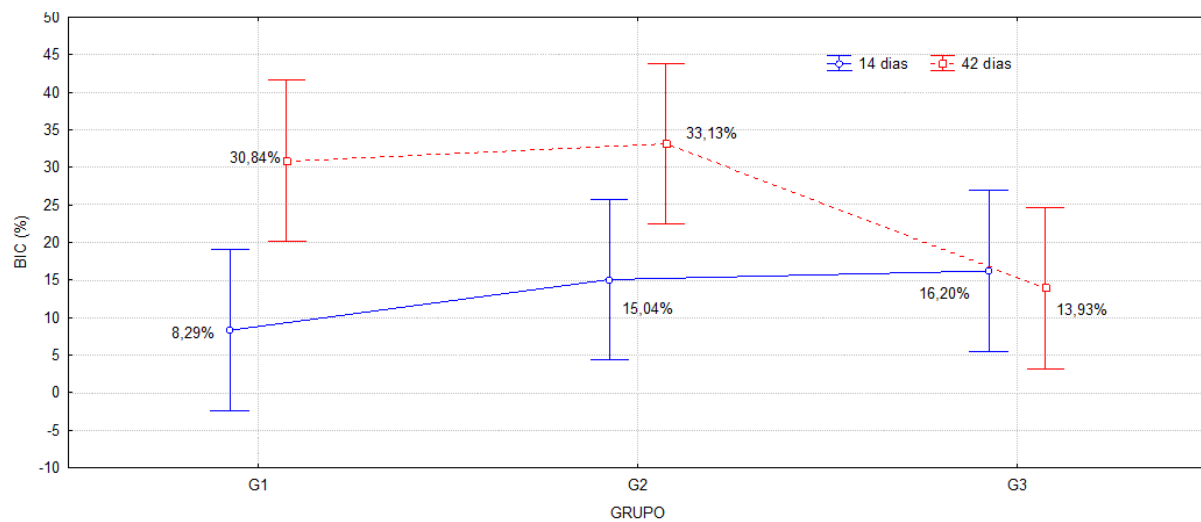


Gráfico 1 - Valores obtidos para BIC nos períodos de 14 e 42 dias.

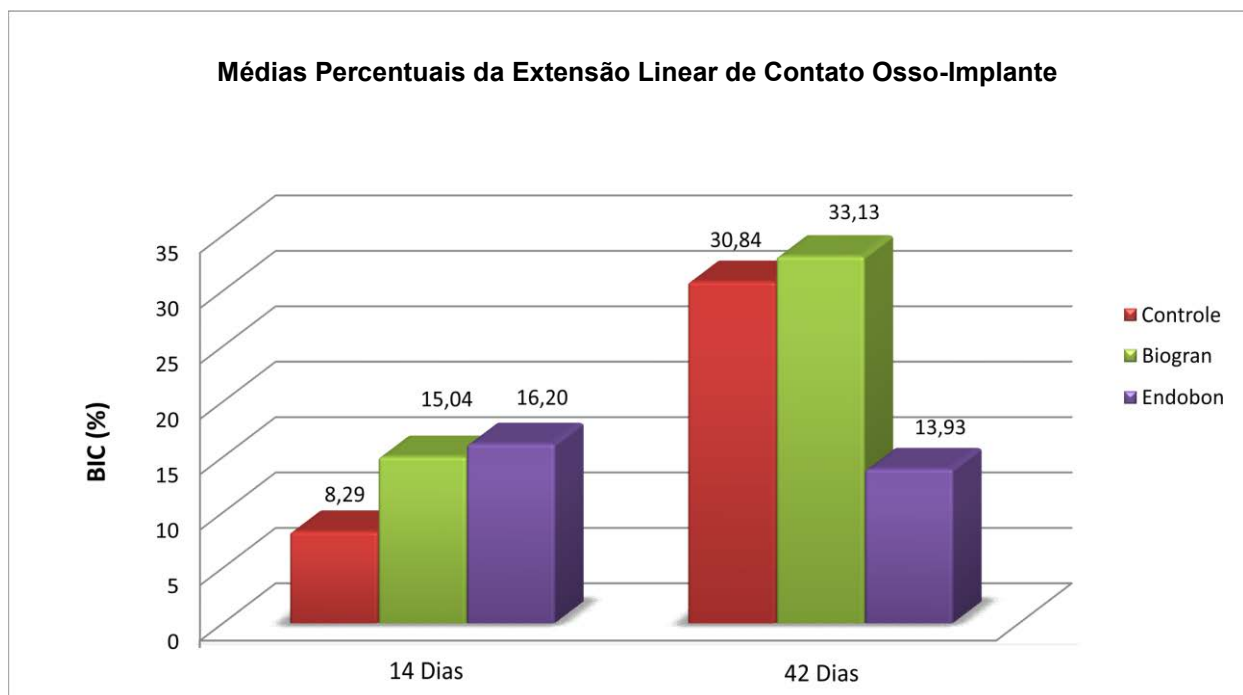


Gráfico 2 - Médias percentuais de BIC nos 3 grupos experimentais aos 14 e 42 dias.

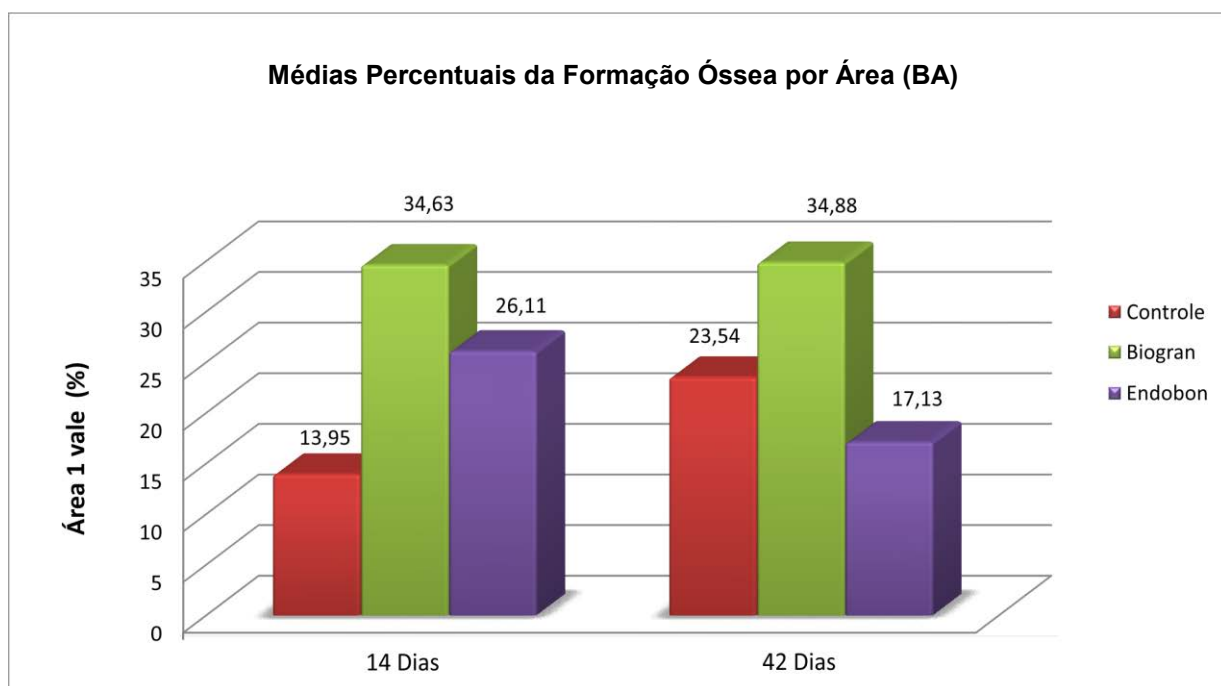


Gráfico 3 - Médias percentuais de BA nos 3 grupos experimentais aos 14 e 42 dias.

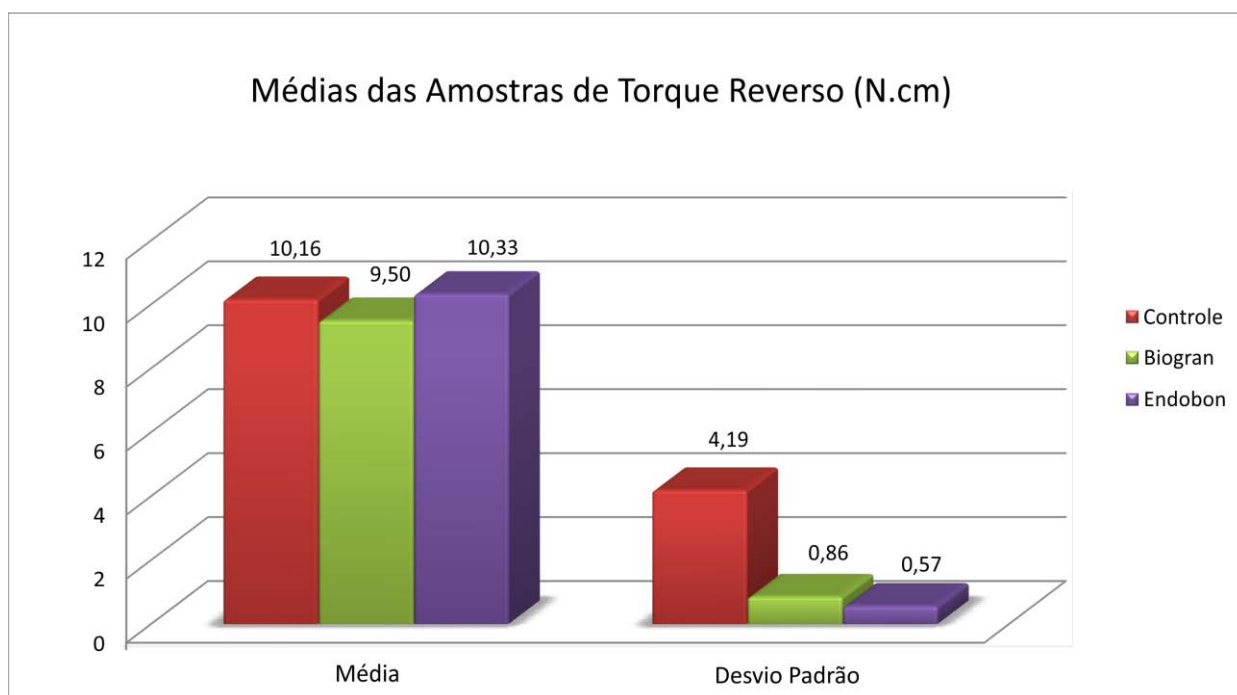


Gráfico 4 - Médias das amostras de torque reverso dos grupos Controle, Biogran e Endobon no período de 42 dias.

ANEXO F – TABELAS

	Degr. of Freedom	FO SS	FO MS	FO F	FO p
Intercept	1	16095,50	16095,50	82,05275	0,000000
GRUPO	2	569,96	284,98	1,45278	0,247305
PER	1	1718,69	1718,69	8,76168	0,005414
GRUPO*PER	2	1225,49	612,75	3,12370	0,056110
Error	36	7061,78	196,16		
Total	41	10575,92			

Tabela 1 - Análise de Variância para extensão linear de contato osso-implante (BIC).

AREA DE UM VALE					
quadro de análise variância (teste F) -fatorial completo					
	GL	FO SS	FO MS	FO F	FO p
Intercept	1	26343,73	26343,73	141,6736	0,000000
GRUPO	2	2039,71	1019,85	5,4847	0,008333
PER	1	0,87	0,87	0,0047	0,945700
GRUPO*PER	2	604,11	302,05	1,6244	0,211138
Error	36	6694,08	185,95		
Total	41	9338,77			

Tabela 2 - Análise de Variância para formação óssea por área (BA).

TESTE DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE MÉDIAS - TUKEY		
	GRUPO	FO Mean
1	G1	18,75014
3	G3	21,62436
2	G2	34,75929

Tabela 3 - Teste de Tukey para comparações de médias para formação óssea por área (BA).

Grupos		OC	OPN
1	CONT 14D	3	2/3
2	CONT 42D	2/3	2/3
3	BIO 14D	2	3
4	BIO 42D	3	2/3
5	END 14D	2	2/3
6	END 42D	3	2/3

Tabela 4 - Escores atribuídos à quantidade de osteocalcina e osteopontina nos 3 grupos analisados nos períodos de 14 e 42 dias.