



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CAMPUS DE ARAÇATUBA - FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Avaliação do processo de reparo periimplantar
utilizando matriz óssea heterógena
desmineralizada ou osso autógeno. Análise
histológica e histométrica em tíbias de coelhos

ARAÇATUBA

2009



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CAMPUS DE ARAÇATUBA - FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Avaliação do processo de reparo periimplantar utilizando matriz óssea heterógena desmineralizada ou osso autógeno. Análise histológica e histométrica em tíbias de coelhos

Tese de doutorado apresentado à Faculdade de Odontologia do “Campus de Araçatuba – UNESP”, como parte do programa para obtenção do grau de Doutor em Odontologia (Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial)

Orientada:

Martha Alayde Alcantara Salim

Orientador:

Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior.

Araçatuba – SP

2009

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

Salim, Martha Alayde Alcantara

S165a Avaliação do processo de reparo periimplantar utilizando matriz óssea heterógena desmineralizada ou osso autógeno. Análise histológica e histométrica em tíbias de coelhos / Martha Alayde Alcantara Salim. – Araçatuba :

[s.n.], 2009

115 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2009

Orientador: Prof. Idelmo Rangel Garcia Júnior

1. Implante dentário endósseo 2. Transplante ósseo 3. Matriz óssea

Black D7
CDD 617.64

DADOS CURRICULARES

MARTHA ALAYDE ALCANTARA SALIM

Nascimento: 15/10/72 - Vitória – ES

Filiação: Alayde Alcantara Salim e João Salim Thomaz

Graduação(1990/1994):

Curso de Odontologia da

Universidade do Federal do Espírito

Santo- UFES- ES

Pós-graduação (1996/1998):

Especialização em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial- Universidade do Estado do Rio de Janeiro- UERJ-RJ.

Pós-graduação (1999/2000):

Mestrado em Odontologia- Área de

Concentração Patologia Buco Dental –

Universidade Federal Fluminense – UFF - RJ

Pós-graduação (2008/2009):

Doutorado em Odontologia- Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp/SP.

DEDICATÓRIA

A MINHA QUERIDA FAMÍLIA, ALAYDE, MARIA ALAYDE E BRUNO

PELO AMOR DEDICADO SEMPRE.

AO MEU PAI JOÃO SALIM (IN MEMORIAN), SEI QUE ESTÁ MUITO

FELIZ COM MAIS ESSA CONQUISTA.

AGRADECIMENTO PRINCIPAL

A Deus, por todas as bênçãos recebidas durante a minha vida, com presença marcante em todos os momentos, permitindo que mais uma etapa da minha caminhada fosse cumprida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha querida família, minha mãe ALAYDE, minha irmã MARIA ALAYDE e meu sobrinho BRUNO por me apoiarem em todos os momentos, mesmo tendo que estar distante por tantas vezes.

Aos queridos e amados tios, tias, primos da minha grande e amada família que tenho muito orgulho em fazer parte. Agradeço pela convivência, paciência e por servirem de exemplo de união.

A uma nova família que Deus me presenteou, VIVIANE, GAMALIEL, ESTEVÃO e IVONE. Vocês foram mais que grandes amigos, foram anjos que Deus enviou para conseguir suportar as dificuldades da minha caminhada. Vocês são meus exemplos de solidariedade e amor gratuito

Ao meu grande amigo e eterno mestre Dr. ROBERTO PRADO. Você é o meu grande exemplo de vida, caráter, profissionalismo e amizade. Seria impossível expressar em poucas linhas toda a minha gratidão a você. A sua presença em minha vida foi uma grande benção de Deus. Quero poder estar sempre ao seu lado! Obrigada!

Ao meu namorado RAFAEL VENANCIO, meu sincero e profundo agradecimento pelo amor, paciência e apoio em todos os momentos.

Aos professores da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial da FAESA, ANTÔNIO MELO CABRAL e RENATA PITTELLA CANÇADO pelo apoio e contribuição durante todo o período dessa pós-graduação. Vocês foram muito mais que profissionais e sim verdadeiros amigos. Sem a ajuda de vocês seria impossível essa conquista!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. IDELMO RANGEL GARCIA JUNIOR, pelo exemplo de profissionalismo e dedicação, que me possibilitaram adquirir novos conhecimentos. O meu sincero e eterno agradecimento.

À Professora Dra. ROBERTA OKAMOTO, pela disponibilidade nos momentos necessários.

Ao Prof. Dr. OSVALDO MAGRO FILHO pelos ensinamentos e dedicação permitindo sempre um convívio agradável nas atividades do curso, estreitando os laços de proximidade com os alunos da pós-graduação.

À secretária do departamento de cirurgia e amiga CLEIDE LEMES DA SILVA pela amizade e carinho demonstrados.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, sob direção do Prof. Dr. PEDRO FELÍCIO ESTRADA BERNABÉ E PROF^a. ADJ. Dra. ANA MARIA PIRES SOUBHIA, e à Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa) da UNESP, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

À Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial, professores TETUO OKAMOTO, MICHEL SAAD NETO, IDELMO RANGEL GARCIA JÚNIOR, OSVALDO MAGRO FILHO, ALESSANDRA MARCONDES ARANEGA.

Aos funcionários do Laboratório de Cirurgia UNESP, BERNADETE, DIRCE E GILMAR pela colaboração e amizade.

Aos funcionários da pós-graduação: DIOGO E VALÉRIA, por toda a ajuda e paciência.

À ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL DE VITÓRIA (AVE/ FAESA-ES) pela compreensão e confiança durante os períodos de minha ausência, pela cordialidade e respeito demonstrados pelos diretores, coordenadores, professores e funcionários. Em especial ao presidente ALEXANDRE NUNES THEODORO por sempre apoiar o desenvolvimento e a pesquisa, a diretora acadêmica BENEDITA MATHIAS DE ALMEIDA, ao superintendente GUILHERME NUNES THEODORO, aos coordenadores ALEXANDRE CARDOSO CUNHA e CRISTIANE DE MOURA LEITE TAKEMOTO. Agradecimento especial aos saudosos Dr. ANTÁRIO THEODORO e APRIGÍO FREIRE. Tenho orgulho em fazer parte desta instituição!

Aos colegas de profissão Dr. CARLOS TIMÓTEO, Dr. ANDRÉ ALBERTO CÂMARA PUPPIN, Dr. ARTHURO, Dra. THAIZ CARRARA, Dr. SERGIO BORLOT, MAXIMILIANO FRANÇA, minha gratidão pelo respeito e profissionalismo. A colaboração de todos foi muito importante para esta conquista.

Aos amigos e profissionais exemplares do curso de especialização e mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial da UNIGRANRIO/ HGB, Dr. VITOR MONTEIRO NOVAES, Dr. ROBERTO PRADO, Dr. SERGIO LUIZ MELO GONÇALVES, Dr. ANTÔNIO ESTEFANO, Dr. EDUARDO PINTO, Dr. JÚLIO LEITE, Dra. BIANCA BRAVIM e FUNCIONÁRIAS MIRIAN, LENICIA. Vocês são exemplos

que podemos associar o ambiente de trabalho a amizades sinceras. Meu muito obrigado!

A grande amiga LILIANE SCHEIDEGGER DA SILVA ZANETTI pela amizade sincera em todas as circunstâncias e pelos momentos alegres vividos. Você foi fundamental para esta conquista!

Aos meus queridos amigos, KARLA BARCELOS, PATRÍCIA BIANCHI, MONICA LEAL ALCURE, ALINE BERNARDINA, GABRIELA DUARTE, CAROLINA CARVALHO, BEYLE NADEGE, SILVANA RIBEIRO, agradeço o convívio agradável, amizade e tempo dedicados, tendo sido fundamentais no cumprimento de mais essa etapa profissional.

Minha secretária, JULIANA ALMEIDA, muito mais que profissional exemplar, você é uma grande amiga e uma pessoa de caráter admirável. Obrigada por estar ao meu lado nesta jornada.

Aos meus convidados de banca examinadora, Dr. ROBERTO PRADO, Dr. SERGIO LUIZ MELO GONÇALVES, Dr. JOSÉ RENATO COSTA E Dr. PAULO SÉRGIO PERRI DE CARVALHO por compartilharem neste momento os seus conhecimentos e muito acrescentarem nesta pesquisa.

Ao Prof. Dr. JOSÉ RENATO COSTA, por me acompanhar desde o início da minha jornada profissional. Obrigada pelos ensinamentos e incentivo.

Aos colegas de turma do doutorado: NICOLAS HOMSI, MARCOS HEIDY e ALBANIR GABRIEL, pela amizade e companheirismo.

Aos colegas de pós-graduação BRUNO MACHADO, JÉSSICA LEMOS GULINELLI, THALLITA PEREIRA QUEIROZ, ABRAHÃO CAVALCANTI, FRANCISLEY AVILA, RODOLPHO VALENTINI, HELOÍSA MARÃO, CASSIANO PEREIRA, PEDRO IVO SANTOS, PAMELA LETÍCIA, JÔNATAS ESTEVES, FERNANDO GUASTALDI, WALTER GEALH, ELLEN GAETTI, ELISA SATORI e PAULO FARIA, pelos momentos compartilhados, carinho e amizade. A ajuda de vocês foi inestimável. A amizade de vocês foi minha maior conquista!

Ao grande amigo que conquistei Dr. NICOLAS HOMSI pela lealdade, companheirismo e disposição em ajudar. Minha sincera amizade será o meu maior agradecimento.

Agradecimento especial aos meus amigos BRUNO MACHADO, PAMELA LETÍCIA, RODOLPHO VALENTINI E THALITA PEREIRA QUEIROZ, dedico o sucesso da pesquisa a vocês que tanto me ajudaram

Ao Prof. Dr. ÉLCIO MARCANTÔNIO JÚNIOR agradeço a disponibilidade em permitir a utilização do Laboratório e equipamento EXAKT® da Faculdade de Odontologia de Araraquara/UNESP. À funcionária CLÁUDIA e ao colega RAFAEL FAEDA pelo tempo dispensado.

Aos professores de Cirurgia Buco Maxilo Facial da UFES, Dr. JOSÉ RENATO COSTA, Dr. ROBSON REZENDE, Dr. ANDRÉ PUPPIN, Dra. IVETE BECALLI, Dr. RICARDO GOTTARDI e Dra. FÁTIMA, pela minha formação profissional.

Aos Professores da Área de Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial da UERJ, em especial prof. Dr. PAULO JOSÉ MEDEIROS; e mestrado em patologia Buco Dental da UFF, prof^a Dra. Eliane Pedra Dias, responsáveis pela minha formação na Especialização e Mestrado. Meus sinceros agradecimentos pelos ensinamentos que fundamentaram minha formação clínica e docente.

À **IMPLALIFE BIOTECNOLOGIA**, pela disponibilidade em colaborar com este trabalho cedendo os implantes e chaves utilizadas na fase experimental, contribuindo na formação de profissionais e para o avanço nas pesquisas nacionais.

A todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para que mais este passo fosse concluído em minha formação.

EPÍGRAFE

Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, porque cada pessoa é única e para nós, nenhuma substitui a outra.

Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, mas não vai sozinho, nem nos deixa a sós...

Leva um pouco de nós e deixa um pouco de si mesmo.

Há os que levam muito, mas não há os que levam nada.

Há os que deixam muito, mas não há os que deixam nada.

Esta é a mais bela responsabilidade de nossa vida: a prova tremenda de que cada um de nós é importante e de que ninguém se aproxima do outro ao acaso.

(Anônimo)

SALIM, M A A. **Avaliação do processo de reparo periimplantar utilizando matriz óssea heteróloga desmineralizada ou osso autógeno. Análise histológica e histométrica em tíbias de coelhos.** 115f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar o reparo ósseo em defeitos periimplatares experimentais utilizando enxerto autógeno e implante de matriz óssea bovina desmineralizada em tíbias de coelhos. Foram instalados 30 implantes de titânio diâmetro de 3,75 mm plataforma regular (4,1 mm) e altura de 10 mm, no qual cada animal recebeu dois implantes na face lateral da porção mediana da tíbia. Ao redor dos implantes foi confeccionado defeito ósseo de 6,0 mm de diâmetro através da trefina e enxertado no local osso autógeno ou matriz óssea heteróloga desmineralizada. As lâminas obtidas foram submetidas à análise histológica e histométrica com contagem das áreas de osso neoformado, matriz óssea bovina, medula e enxerto de osso autógeno. Como resultado observou-se diferença significativa entre a formação de novo osso no período de 15 dias quando comparado o grupo de implante de matriz óssea bovina desmineralizada e enxerto autógeno, demonstrando maior formação óssea neste último; e diferença significativa entre a permanência do tecido implantado em relação ao enxerto autógeno, demonstrado pela permanência da matriz no período de 60 dias. Avaliando os dados obtidos nesta pesquisa concluímos que o processo de reparo periimplantar ocorreu com maior neoformação óssea no grupo tratado por enxerto de osso autógeno e a

matriz óssea bovina desmineralizada se comportou como um condutor ósseo de lenta absorção sem demonstrar reação inflamatória aguda ou crônica.

SALIM, M A A. Evaluation of periimplantar repair using demineralized heterogenous bone matrix or autogenous bone. Histological and histometric. 115f. Thesis (Ph.D.) - School of Dentistry, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

Abstract

This study aimed to evaluate the bone healing in experimental periimplantar defects using autogenous graft and implantation of bovine demineralized bone matrix in the tibia of rabbits. Were installed 30 titanium implants of 3.75 mm diameter regular platform (4.1 mm) and height of 10 mm, in which each animal received two implants in the median portion of the tibial. Around the implants was made bone defect of 6.0 mm in diameter through the trephine and grafted in place autogenous bone or demineralized bone matrix heterogenous. The slides obtained were subjected to histological and histometric count with areas of newly formed bone, bovine bone matrix, bone marrow and bone graft. Results revealed a significant difference between the formation of new bone within 15 days when compared to the group of implant bovine demineralized bone matrix and autogenous graft, showing a higher bone formation in the latter, and a significant difference between the permanence of the implanted tissue in compared to autograft, demonstrated by the permanence of the matrix within 60 days. Evaluating the data obtained in this study concluded that the repair process was better in periimplant bone formation than in the group treated with autogenous bone graft and demineralized bovine bone matrix acted as a conductor low absorption without showing acute inflammatory reaction or chronic.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Comparação percentual da média dos tecidos ao longo do tempo.

Grupo01 enxerto autógeno72

Gráfico 2 - Comparação percentual da média dos tecidos ao longo do tempo.

Grupo02 matriz óssea bovina73

Gráfico 3 - Comparação percentual da média dos tecidos entre os grupos matriz

óssea bovina e enxerto autógeno aos 15 dias74

Gráfico 4 - Comparação percentual da média dos tecidos entre os grupos matriz

óssea bovina e enxerto autógeno aos 60 dias75

Gráfico 5 - Comparação percentual da média da extensão linear osso implante

(ELCOI) entre os grupos matriz óssea bovina e enxerto autógeno aos 60

dias76

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Área cervical do implante. Aos 15 dias pós-operatórios. Observar a presença de fragmento ósseo enxertado e intensa formação óssea junto a superfície do implante e defeito ósseo periimplantar49
- Figura 2 - Defeito ósseo periimplantar. Aos 15 dias pós-operatórios Fragmento de osso autógeno envolto por tecido ósseo neoformado rico em trabéculas ósseas exibindo intensa celurização osteoblástica51
- Figura 3 - Área cervical do implante. Aos 30 dias pós-operatórios. Trabeculado ósseo neoformado envolvendo fragmentos de tecido ósseo autógeno e intimamente aderido à superfície do implante mostrando histologicamente o processo de osseointegração53
- Figura 4 - Área cervical do defeito ósseo periimplantar experimental. Aos 30 dias pós-operatórios. Fragmento de tecido ósseo enxertado próximo a parede do defeito experimental incorporado por tecido ósseo neoformado54
- Figura 5 - Área cervical do implante. Aos 60 dias pós-operatórios. Trabeculado ósseo neoformado maturo e intimamente aderido à superfície do implante mostrando histologicamente o processo de osseointegração. Observa-se preenchimento da área do defeito periimplantar experimental55
- Figura 6 - Área cervical do implante. Aos 60 dias pós-operatórios. Observar osso neoformado preenchendo a área do defeito periimplantar experimental 56
- Figura 7 - Área cervical do implante. Aos 15 dias pós-operatórios. Observar a presença da matriz óssea em contato com a superfície do implante na área

do defeito ósseo experimental. Observam-se poucas áreas de tecido ósseo neoformado na periferia do defeito ósseo57

Figura 8 - Área cervical do implante. Aos 15 dias pós-operatórios. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada preenchendo área do defeito ósseo experimental e em contato com a área cervical do implante. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada sendo incorporada por tecido ósseo neoformado59

Figura 9 - Área cervical do implante. Aos 15 dias pós-operatórios. Área mostrando fragmento de matriz junto ao defeito ósseo periimplantar com poucas e delgadas trabéculas ósseas neoformadas e em contato com a superfície do implante60

Figura 10 - Área cervical do implante. Aos 30 dias pós-operatórios. Observar áreas de osso neoformado preenchendo defeito ósseo experimental e em contato com a área cervical do implante. Amplos espaços medulares61

Figura 11 - Área cervical do implante. Aos 60 dias pós-operatórios. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada e osso neoformado preenchendo área do defeito ósseo experimental e em contato com a área cervical do implante63

Figura 12 - Área cervical do implante. Aos 60 dias pós-operatórios. Presença de trabéculas ósseas circundando as áreas de matriz óssea bovina desmineralizada, mostrando ainda processo de substituição da mesma por novo osso	64
Figura 13 - Visão panorâmica da matriz óssea desmineralizada implantada no subcutâneo. Aos 30 dias pós-operatórios	65
Figura 14 - Matriz óssea desmineralizada implantada no subcutâneo. Aos 15 dias pós-operatórios	67
Figura 15 - Matriz óssea desmineralizada implantada no subcutâneo. Aos 15 dias pós-operatórios	67
Figura 16 - Matriz óssea implantada no subcutâneo. Aos 30 dias pós-operatórios ..	68
Figura 17 - Matriz óssea implantada no subcutâneo. Aos 60 dias pós-operatórios ..	70
Figura 18 - Matriz óssea implantada no subcutâneo. Aos 60 dias pós-operatórios ..	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estatística descritiva de extensão entre tecido ósseo neoformado, enxerto de matriz e medula do grupo 02 matriz óssea bovina nos tempos de 15 e 60 dias	92
Tabela 2 - Estatística descritiva de extensão entre tecido ósseo neoformado, medula e enxerto de osso autógeno do grupo 01 enxerto autógeno nos tempos de 15 e 60 dias	93
Tabela 3 - Estatística descritiva (em percentual) de extensão entre os tempos do grupo 02 matriz óssea bovina nos tempos de 15 e 60 dias	94
Tabela 4 - Estatística descritiva (em percentual) de extensão do grupo enxerto autógeno nos tempos de 15 e 60 dias	95

LISTA DE ABREVIATURAS

μm = micrômetro

AON = Área de osso neoformado

AT= artefato de técnica

BMP's= proteínas morfogenéticas

C= fibras colágenas

cm = centímetros

CM= canal medular

E= enxerto

EDTA= etilenodiaminotetracético

ELCOI = Extensão linear de contato entre osso e implante

EM= espaço medular

et al = colaboradores

g= grama

HA = hidroxiapatita

HCL= ácido clorídrico

I= implante

mg = miligrama

mg/kg = miligramas por quilo

ml = mililitros

MOB= matriz óssea bovina

mol = molar

N = Newton

OM= osso maturo

ON= osso neoformado

PMMAL = polimetilmetacrilato lento

RPM = rotações por minutos

SPSS= social package statistical science

TC = tecido conjuntivo subcutâneo

V = vaso sanguíneo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	24
2 REVISÃO DA LITERATURA	30
3 PROPOSIÇÃO	39
4 MATERIAL E MÉTODO	40
5 RESULTADO	48
5.1 Avaliação clínica	48
5.2 Análise Qualitativa	48
5.3 Análise Quantitativa	72
5 DISCUSSÃO	77
6 CONCLUSÃO.....	83
7 REFERÊNCIAS.....	84
TABELAS	92
ESTATÍSTICA	96
ANEXOS	99
ANEXO A – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA.....	99
ANEXO B– NORMAS DA REVISTA CLINICAL ORAL IMPLANTS RESEARCH...	100
ANEXO C – FIGURAS COMPLEMENTARES	101

1 INTRODUÇÃO

A previsibilidade dos resultados encontrados nos estudos relacionados à osseointegração, desde as pesquisas iniciadas na década de 60, tem permitido o desenvolvimento de novas técnicas que visam o aperfeiçoamento da reabilitação com implantes osseointegrados (BRANEMARK PI et al, 1969).

Resultados positivos em relação a esses estudos, com índices de sucesso superiores a 90%, sendo utilizados na reabilitação com implantes, levaram a obtenção do conceito definido de osseointegração como a conexão direta estrutural e funcional entre o tecido ósseo normal viável e o implante em função (ADELL R, LEKHOLM U, ROC KLER B, BRANEMARK, 1981).

Microscopicamente, a osseointegração representa o contato direto entre o tecido ósseo e a superfície do implante, sem interposição de tecido mole. Achados de microscopia eletrônica revelaram que existe uma fina camada de fibras colágenas organizadas entre o tecido ósseo e a superfície de titânio (ALBREKTSSON T, LEKHOLM U, 1989; ALBREKTSSON T, ZARB G, 1993).

Os conceitos atuais revelam que a osseointegração vai existir quando ocorrer fixação do implante de forma que ele permaneça imóvel e assintomático clinicamente após a incidência de carga mastigatória. 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 do implante, a qualidade do leito ósseo receptor, a realização de uma técnica cirúrgica criteriosa e a ausência da incidência de forças durante o período pós-operatório (BRANEMARK PI et al, 1969; ADELL R, LEKHOLM U, ROCKLER B, BRANEMARK PI, 1981; ALBREKTSSON T, ZARB G, 1993; BRANEMARK PI et al,1977).

Outro conceito determinante da osseointegração é a estabilidade primária. A mesma ocorre no momento da instalação do implante e está relacionada ao nível de contato ósseo primário, que é influenciado principalmente pela qualidade do trabeculado, além do comprimento, geometria e superfície do implante (COCHRAN DL et al, 1998; MEREDITH N,1998).

A estabilidade primária após o procedimento da instalação de implantes é um dos fatores responsáveis pela osseointegração dos mesmos. Altos índices de fracasso e perda de implantes têm sido atribuídos a achados associados a implantes em osso de qualidade ruim e conseqüentemente estabilidade primária diminuída (ALBREKTSSON T, et al,1986; BUSER D, WEBER HP, BRAGGER U, BALSIGER C,1991; DEPORTER D A et al, 1996).

Com o nítido estabelecimento da implantodontia, 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 ósseos autógenos, alógenos, xenógenos ou aloplásticos/biomateriais; a

aplicação de fatores de crescimento; a regeneração óssea guiada; a distração osteogênica; e as combinações entre essas técnicas. (ALBREKTSSON T, et al,1986)

Os três diferentes tipos de processos associados ao sucesso dos enxertos ósseos são: a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução (BUSER et al, 1996), sendo que:

1 Osteogênese é definida como células ósseas vivas transplantadas e com capacidade de formar novo tecido ósseo no leito hospedeiro, ex:Osso autógeno. (ALBREKTSSON T et al 1986);

2 Osteoindução é a habilidade em induzir o osso do hospedeiro a produzir novo tecido ósseo. Ex: Osso autógeno e fatores de crescimento;

3 Osteocondução envolve o uso de materiais substitutos ósseos inertes ou autógenos não viáveis, além de enxertos alogênicos de banco de ossos, que oferecem pouco ou nenhum estímulo às células pluripotenciais do osso nativo. Estes consistem em uma matriz física ou arcabouço, aumentando a base sólida para a deposição de novo osso. Os enxertos osteocondutores guiam e conduzem o desenvolvimento de novo tecido ósseo através de sua matriz de suporte. Ex: Osso banco de ossos e materiais aloplásticos/biomateriais (ALBREKTSSON T et al 1986).

As células osteoprecursoras são encontradas nos tecidos próximos ao osso, assim como as células do estroma da medula óssea, células do periósteo, endósteo e dos canais intracorticais, reagindo à indução com proliferação e diferenciação diretamente nos osteoblastos. As células osteoprecursoras induzidas

são encontradas distantes do osso, sendo semelhantes aos fibroblastos abundantes no tecido conjuntivo subcutâneo, músculo-esquelético, baço e cápsula renal. Suas reações para estimular a formação óssea imitam a formação endocondral (BUSER et al 1996).

Enxerto autógeno é o retirado do próprio paciente. É altamente osteogênico, osseoindutor e osseocondutor. As regiões de obtenção podem ser sítios intra-orais ou extra-orais. As áreas doadoras intra-orais mais comuns são a região retro-molar, tuberosidade da maxila, ramo da mandíbula, sínfise mandibular, processo coronóide e tórus. Os enxertos extra-orais podem ser retirados da crista ilíaca, calota craniana, tíbia entre outras regiões (GARG AK, 1998).

Os enxertos alógenos são obtidos de cadáveres e armazenados em bancos de ossos. Formam osso por osseoindução ou osseocondução e podem ser mineralizados ou desmineralizados. A desmineralização remove a fase mineral e expõe o colágeno e os fatores de crescimento do osso (PETRUNGARO PS, AMAR S, 2005; PIATTELLI A, SCARANO A, PIATTELLI M, 1998).

O enxerto xenógeno é obtido de outra espécie animal, geralmente bovina, e têm sido largamente utilizado em implantodontia. A sua preparação envolve procedimentos de desmineralização, congelamento e secagem. Pode ser utilizado puro ou associado aos enxertos ósseos autógenos (YOUNG C, SANDSTEDT P, SKOGLUND A, 1999).

Os enxertos aloplásticos/biomateriais são feitos de material sintético ou natural, sendo apenas osseocondutores, funcionando como um material de

preenchimento. Um exemplo são as cerâmicas, como a hidroxiapatita (HA). São seguras e bem toleradas, mas tem pouco potencial para formar novas inserções, diminuindo as chances de incorporação óssea. Podem ser sintéticas, como o fosfato de cálcio, ou naturais, como o coral. (YOUNG C, SANDSTEDT P, SKOGLUND A, 1999).

No princípio da década de 60 foram realizadas inúmeras pesquisas relacionadas ao processo de ossificação. URIST (1965) observou que em amostras-controle de osso descalcificado não-tratadas, implantadas em músculo de coelho e ratos, resultaram em formação de cartilagem e osso. Isto permitiu a formulação da hipótese de formação óssea por auto-indução, na qual as células indutoras induzem outras células a se diferenciarem em osteoprogenitoras. Após a implantação de matriz óssea ou BMP's, observam-se três fases da osteoindução: a quimiotaxia, a mitogênese e a diferenciação (URIST M R, STRATES B S. 1971).

Os fatores de crescimento ósseo são substâncias osseopromotoras utilizadas para estimular a formação óssea e acelerar o processo de integração entre osso e implante. As proteínas morfogenéticas (BMP's), por exemplo, têm sido utilizadas para estimular a proliferação e especialização de células-tronco na reconstituição do tecido ósseo bucal. As BMP's são uma família de proteínas que regulam os processos celulares como a diferenciação, proliferação e morfogênese celulares. Têm sido identificadas em diferentes espécies, regulando e determinando o desenvolvimento de muitos tecidos e órgãos durante a embriogênese. Atualmente, podem ser sintetizadas pelo processo de engenharia genética desde BMP-1 até BMP-15. As BMP's são consideradas verdadeiros morfogenes, sendo também

detectadas no desenvolvimento embrionário e na vida pós-natal. O alvo das BMP's são as células indiferenciadas perivasculares do tecido conjuntivo (URIST M R, STRATES B S, 1971). A presença de células progenitoras ósseas no processo de regeneração não são necessárias quando os morfogens são utilizados; entretanto, a quantidade de osso neoformado é ilimitada. Elas ativam a seleção de genes para o desenvolvimento ósseo, induzindo nova formação óssea na regeneração das fraturas, na incorporação de enxertos ósseos e na ossificação heterotópica (JOYCE M E, 1990).

No processo de remodelação e reparo, a liberação de BMP's pode ser responsável pela iniciação da cascata osteogênica (URIST et al, 1967). Várias moléculas de BMP's, incluindo as BMP-2, BMP-4, BMP-5 e BMP-7, são osseointodutoras e todas aparentemente induzem a formação óssea por um processo similar, apresentando qualidade de osso semelhante na implantação ectópica em ratos. (JOYCE , 1990).

2 REVISÃO DA LITERATURA

O esqueleto ósseo, assim como todo outro tecido do corpo, é passível de perdas estruturais por causas diversas, ocasionando assim a necessidade de reconstruções (AGHALOO T L, MOY P R, 2007).

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

Uma nova fase da implantodontia se estabeleceu quando (BRÅNEMARK, 1985) definiu osseointegração como uma conexão estrutural e funcional direta entre osso vivo ordenado e a superfície de um implante submetido à carga funcional. No entanto, a presença de alterações ósseas como fenestrações, defeitos residuais, alvéolos pós-exodônticos, diástases entre osso/implante por sobreexposição e de tecido ósseo de baixa qualidade podem afetar o prognóstico desta modalidade de tratamento (GOTFREDSEN et al, 1991; PIATTELLI et al, 1997).

A estabilidade do implante resulta do contato direto entre o osso ao redor do implante e a sua superfície, podendo ser dividida em primária e secundária, sendo a primeira determinada pelo modelo do implante, técnica cirúrgica, qualidade óssea e por defeitos anatômicos do leito receptor. Já a estabilidade secundária é dependente da resposta tecidual ao implante e à cirurgia e do reparo ósseo. Experimentalmente

tem sido mostrado que o crescimento ósseo pode ocorrer na presença de uma micromovimentação relativa entre o implante e o osso hospedeiro, entretanto em casos onde ela é excessiva, pode ocorrer a formação de uma camada fibrosa ao redor do implante (SOBALLE et al, 1992).

A interface implante/enxerto ósseo constitui uma situação de reparo complexa, pois envolve a revascularização, a incorporação do enxerto e a integração dos implantes (SJÖSTRÖM et al, 2005).

O uso de enxertos autógenos frescos busca restabelecer as características morfofuncionais das áreas comprometidas. O osso autógeno é considerado o padrão ouro dos materiais para enxertia utilizados para defeitos ósseos, por causa de sua biocompatibilidade e propriedades biológicas como o potencial osteogênico e osseocondutivo, a baixa resposta imunogênica e sua rápida absorção por células osteoclásticas. Os enxertos autógenos são considerados os mais indicados para o preenchimento de defeitos ósseos (LEKHOLM et al, 1999), no entanto, sua utilização nem sempre é viável devido à necessidade de segunda cirurgia para sua remoção, à morbidade do sítio doador e à limitada disponibilidade em casos de grandes reconstruções (BECKER et al, 1994; TREJO et al, 2000; RAGHOEBAR et al, 2001). Os enxertos podem ser em blocos ou particulados, utilizados isolados ou em associação com alógenos ou aloplásticos. Os locais doadores descritos na coleta do tecido ósseo podem ser: região mentoniana, área retromolar, tuberosidade da maxila, osso ilíaco, costela, calota craniana, tíbia e fíbula (CORADAZZI et al, 2007).

Buscando evitar ou minimizar os inconvenientes dos enxertos autógenos, perspectivas favoráveis têm sido descritas quanto à associação dos enxertos autógenos com os biomateriais (MELLONIG & BOWERS, 1990) ou somente com o uso de substitutos ósseos (RUTHERFORD et al, 1992). A opção para o enxerto homogêneo ou heterógeno eliminaria o trauma cirúrgico da área doadora, entretanto, são passíveis de reações imunogênicas que acarretam, em alguns casos, a perda dos mesmos (HABAL & REDI, 1987).

A Odontologia está inserida em um grande contexto e progresso tecnológico nos quais surgiram as mais diferentes aplicações na área dos biomateriais, que vão desde o uso de alvéolos de dentes extraídos até a complementação de cirurgias de implantes osseointegrados, ou em defeitos periodontais e deformidades faciais. Sendo assim, a maior parte dos estudos na área de biomateriais que possam ser substitutos ósseos está voltada para a descoberta de um material que apresente um bom potencial osseoindutor ou osseocondutor e que sofra bioabsorção em um curto período de tempo. As deficiências intra-ósseas, como as deixadas por periimplantites, alvéolos recém extraídos ou as relacionadas ao procedimento de instalação de implantes, algumas vezes vão requerer tratamento utilizando um substituto ósseo (RISSOLO A R, BENNET J, 1998).

O desenvolvimento de substitutos ósseos sintéticos, como os biomateriais, é de considerável importância, pois os mesmos evitam potenciais complicações imunogênicas relacionadas aos derivados de fontes biológicas (QUATTLEBAUM et al, 1998).

Dentro deste contexto, a utilização de biomateriais em implantodontia, principalmente em casos em que o leito receptor do implante apresenta quantidade e qualidade óssea inadequadas, se torna particularmente importante. Vários fatores interferem na formação tecidual periimplantar e subsequente mineralização, destacando-se o envolvimento mecânico local na interface entre o osso e o implante. A necessidade de reconstrução desses defeitos levou ao desenvolvimento de diferentes técnicas de obtenção e a diversos tipos de substitutos ósseos, dentre eles os enxertos autógenos, alógenos, xenógenos e aloplásticos (OLSEN et al, 2005).

Existem duas grandes classes de biomateriais: os osseoindutores e os osseocondutores. Os materiais osseoindutores participam da reparação de uma ferida óssea induzindo a formação de novo tecido ósseo, enquanto os materiais osseocondutores preenchem a cavidade, orientando o tecido ósseo em sua formação (TAGA, 1996).

Desde o primeiro trabalho, URIST (1965) em diversos estudos tem se concentrado para o uso de osso desmineralizado com propriedades osseoindutivas como substituo ósseo. Dentre os enxertos, os autógenos e homógenos oferecem melhores resultados. Assim, bancos de enxertos são criados na tentativa de viabilizar meios de conservação que venham facilitar o uso de tecidos em condições de serem utilizados como implantes (OKAMOTO et al, 2001).

Métodos de processamento como a desmineralização do tecido ósseo e a utilização apenas de sua matriz, são procedimentos que vêm sendo estudados. Após o processo de desmineralização, a matriz obtida é constituída de proteínas

morfogenéticas, que induziriam a diferenciação de células mesenquimais em condroblastos e formação de tecido osteóide. REDI A H, HUGGINS C, 1972, descreveram a seqüência histológica de neoformação óssea a partir de osso desmineralizado e demonstraram que as proteínas morfogenéticas que têm sido extraídas de osso podem induzir a diferenciação de células do tipo mesenquimatosas em cartilagem ou osso. Os implantes de banco de ossos são criados na tentativa de viabilizar meios de conservação que venham facilitar o uso de tecidos em condições de utilização como implante. O processo de conservação, através de nitrogênio líquido, congelamento, liofilização ou meios químicos, como o álcool a 70%, tiomersal, soro fisiológico ou glicerina são comumente utilizados na conservação de tecidos (OKAMOTO et al, 2001).

Meios químicos de conservação, como a glicerina, têm oferecido bons resultados, preservando a integridade celular mesmo após provocar desidratação tecidual. Desta forma, tecidos como dura-máter, córneas e cartilagens foram mantidos em glicerina para posterior utilização como implante. Estudos têm mostrado que, além de bactericida de largo espectro, a glicerina reduz as propriedades imunogênicas dos tecidos implantados (OKAMOTO et al, 1990).

Após o processo de desmineralização, a matriz óssea obtida é constituída de proteínas morfogenéticas que teriam a propriedade de induzir a diferenciação de células mesenquimais em condroblastos e formar tecido osteóide (HOPP et al, 1989). Por outro lado, o processo pelo qual é realizada a desmineralização do tecido ósseo poderá alterar a qualidade da matriz óssea obtida (OKAMOTO et al, 2001). OKAMOTO et al, em 2001, estudaram os resultados de implantes de matriz óssea

obtidos através de dois processos de desmineralização, mostrando que ocorrem reações teciduais diferentes nos materiais desmineralizados através de ácido fórmico-citrato de sódio ou ácido clorídrico. A matriz óssea obtida através da desmineralização rápida com ácido clorídrico sofre, no leito receptor, absorção mais precoce e neoformação óssea mais intensa junto às margens do material, quando comparado ao grupo de descalcificação lenta com o ácido fórmico-citrato de sódio. Este estudo se assemelha aos resultados observados por GARCIA JÚNIOR, 1997 e OKAMOTO, 1996 verificaram absorção e remodelação mais precoce e substituição e incorporação mais rápida pelo tecido ósseo neoformado no implante conservado em glicerina. Estes autores observaram também que a absorção da matriz ocorreu pelas bordas das mesmas (OKAMOTO et al 2001).

GARCIA JÚNIOR, 1997 analisou histologicamente o comportamento da matriz óssea homogênea desmineralizada após implantação no espaço subcutâneo dorsal e no alvéolo dental de ratos. O autor conclui que o material implantado induziu neoformação óssea tanto no espaço subcutâneo quanto no alvéolo, e que o material remanescente no interior do alvéolo não trouxe prejuízo na cronologia do reparo alveolar. Considerando algumas destas características, por vezes nos deparamos com a necessidade de coleta de grande quantidade de osso livre para implantação, o que, em alguns casos, não é permitido pelos leitos doadores de osso autólogo, limitando assim a quantidade de osso para enxerto. Diante disto, a expectativa com o uso das matrizes ósseas desmineralizadas superam o fato apenas de preenchimento de defeitos ósseos e possibilitam estimular e interagir com o organismo, levando a neoformação óssea local. Na verdade, o tratamento dos defeitos ósseos não está

apenas na simples reposição do tecido perdido ou lesado, mas sim no restabelecimento das funções morfofisiológicas das áreas lesadas. O preparo de tecidos naturais homogêneos e heterogêneos resguarda o princípio de interação biológica com o corpo humano, no intuito de substituir, remodelar e interagir com o organismo receptor e busca atender todos os requisitos de controle de infecção cruzada. Esta seria a alternativa ideal no tratamento dessas áreas (GARCIA JÚNIOR, 1997).

SENN (1989) utilizou-se de osso homogêneo preparado através de processo de desmineralização para correção de defeitos ósseos deixados por quadros de osteomielite. Os bons resultados clínicos encontrados chamaram a atenção dos autores pela resposta de neoformação óssea sem perda de volume local. Esta experiência clínica levou à possibilidade deste implante, composto de osso desmineralizado, substituir enxertos autógenos. Em seguida, uma série de relatos clínicos com resultados variados foi apresentada utilizando-se osso desmineralizado, no entanto não havia estudos experimentais mostrando o comportamento histológico do implante, a padronização do procedimento de desmineralização e a conservação da matriz óssea (GARCIA JÚNIOR, 1997).

Em 1966, Van PUTTIE realizou um estudo em animais experimentais e determinou que o processo de desmineralização óssea mais indicado para obtenção de matriz óssea com poder de osseoindução deveria ser através de HCl (ácido clorídrico). Além disso, este autor sugeriu que, para a constatação do potencial de osseoindução de qualquer implante, deveria ser realizada a sua implantação em locais diferentes do esqueleto ósseo.

Atualmente, formulações de matrizes ósseas desmineralizadas de origem humana ou bovina em partículas, blocos, pó, gel e outros, são comercializados em diferentes condições de preparo e conservação (FEIGHAN et al, 1996).

A grande maioria dos componentes existentes nas matrizes ósseas desmineralizadas já foi determinada. Estes componentes são responsáveis pelos eventos celulares que, após implantações, na maioria das vezes, levam à osseoindução. Tais componentes, conhecidos como proteínas morfogenéticas do osso (bone morphogenetic proteins – BMP), participam juntamente com os elementos celulares do tecido ósseo, as citocinas e os componentes extracelulares da formação, manutenção e regeneração do tecido ósseo. A presença de proteínas morfogenéticas do osso após a implantação, exerce uma forte ação quimiotática sobre elementos celulares indiferenciados, que assim, diferenciam-se em células osteoprogenitoras (URIST MR, STRATES BS, 1971).

Além disto, o processo de obtenção da matriz óssea através de ciclos de desmineralização não apenas assegura a conservação do conteúdo protéico como, ao mesmo tempo, evita a sobrevivência de microorganismos patógenos, uma vez que a esterilização através de calor seco, úmido, soluções químicas ou radiações interferem na qualidade do tecido a ser implantado (URIST et al, 1975).

Objetivando o tratamento clínico, as matrizes ósseas desmineralizadas são utilizadas em procedimentos periodontais, defeitos ósseos congênitos, correções de rebordos alveolares atróficos, nas áreas de cirurgia plástica, em cirurgia e traumatologia crânio e buco-maxilo-facial (GARCIA JÚNIOR, 1997).

As implantações em espaço subcutâneo visam os seguintes aspectos (URIST et al, 1975):

- 1 Comprovar alguma atividade osseoindutora do enxerto em estudo, sendo os locais mais indicados aqueles distantes do esqueleto ósseo, como tecido muscular, espaço subcutâneo e câmara anterior do olho;
- 2 Avaliar a resposta inflamatória desencadeada durante a permanência do enxerto. A análise histológica qualitativa do tecido inflamatório existente na periferia do enxerto nos permite avaliar o seu grau de biocompatibilidade.

A obtenção, preparação e conservação dos enxertos são fatores importantes que interferem na qualidade estrutural da matriz e no seu comportamento junto ao tecido receptor (MOORE et al, 1990).

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o processo de reparo ósseo periimplantar utilizando implante de matriz óssea heterógena (bovina) desmineralizada e osso autógeno através de análise histológica e histométrica em tíbias de coelhos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 coelhos (Nova Zelândia) machos, adultos, com idade de 5 meses, peso corpóreo de 3 a 4 Kg, variação Albinus, mantido em gaiolas individuais, alimentados com ração sólida e água libitum no biotério UNESP-Araçatuba.

4.1 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os animais foram mantidos em jejum durante oito horas prévias ao procedimento cirúrgico e foram anestesiados (anestesia geral) pela combinação de 3mg/kg de Ketamina intramuscular (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) e 0,22 ml/Kg de cloridrato de xilazina (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda – Osasco, São Paulo, Brasil) e receberam cloridrato de mepivacaína (0.3 ml/Kg, Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000, Septodont, França) como anestesia local e para hemostasia do campo operatório.

Após a anestesia geral dos animais foi realizada tricotomia na porção medial da tíbia direita e anti-sepsia da região a ser incisada com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante (PVPI 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto) associado à PVPI tópico.

Com uma lâmina número 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão) foi realizada uma incisão de aproximadamente 3 cm de comprimento na porção mediana da tíbia direita e a seguir, o tecido mole foi divulsionado em espessura total

e afastado com o auxílio de descoladores de periósteo do tipo Molt, expondo o osso para receber os implantes.

Foi utilizado um motor elétrico para implantes DRILLER SMART 350® com velocidade final de 1600 r.p.m. para confecção dos defeitos ósseos e um contra-ângulo redutor de 16:1 (Kavo, Santa Catarina, Brasil). O preparo dos leitos receptores foi iniciado com uma fresa lança para delimitar a localização dos implantes e romper a cortical óssea superior. Em seguida foi utilizada a fresa helicoidal de 2,0mm, a piloto de 2,0mm/3,0mm e finalmente a fresa para implantes cônicos de 10 mm de comprimento (IMPLALIFE, São Paulo, Brasil), seqüencialmente, com irrigação por meio de solução de cloreto de sódio a 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil) durante toda a preparação.

Após a instalação dos implantes foi confeccionado defeitos ósseos através de trefina com 5,0 mm de diâmetro, que proporciona um defeito ósseo de 6,0 mm de diâmetro. Os defeitos confeccionados envolveram somente a cortical óssea superior (monocortical).

O defeito ósseo produzido foi preenchido por enxerto de osso autógeno (grupo 01) e implante de matriz óssea bovina desmineralizada (grupo 02).

Foram instalados 30 implantes de titânio superfície diâmetro de 3,75 mm plataforma regular (4,1 mm) e altura de 10 mm, (IMPLALIFE, São Paulo, Brasil), esterilizados por raios gama. Estes implantes apresentam o módulo de rebordo quadrado para encaixe da chave de adaptação do torquímetro (IMPLALIFE

BIOTECNOLOGIA, São Paulo, Brasil). Os implantes apresentavam o processo de tratamento a partir de terceira rosca cervical do implante.

Cada animal recebeu dois implantes na face lateral da porção medial da tíbia direita, respeitando-se uma distância de aproximadamente 5 mm entre os mesmos, havendo ancoragem primária na cortical inferior da tíbia, proporcionando estabilidade local dos mesmos. Ao redor dos implantes foi confeccionado defeito ósseo através da trefina e enxertada com osso autógeno obtido e matriz óssea heterógena desmineralizada alternadamente. O enxerto de osso autógeno foi obtido através de coletor ósseo descartável marca NEODENT[®] por raspagem da região tibial adjacente as defeitos ósseos. Os implantes de matriz óssea desmineralizada foram obtidos de bancos de ossos através de processamento que será descrito a seguir.

Em todos os animais, foram realizados após tricotomia e antissepsia, uma incisão na região femoral lado direito de aproximadamente 2cm de comprimento e inserido um fragmento de matriz óssea heterógena desmineralizada com aproximadamente 0,5 cm x 0,5 cm de tamanho no espaço subcutâneo para avaliar a biocompatibilidade da matriz óssea bovina desmineralizada.

Após a instalação dos implantes e materiais de enxerto, os tecidos foram suturados em planos empregando-se fio absorvível (Poligalactina 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.

No pós-operatório os animais receberam administração intramuscular de Pentabiótico (0,1mL/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) com uma dose no pós-operatório imediato e de Dipirona Sódica (1mg/kg/dia, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil) totalizando 3 doses. A eutanásia dos animais foi realizada por sobredose do anestésico geral (3 vezes a dose terapêutica) nos períodos de 15, 30 e 60 dias pós-operatórios, com 5 animais em cada período de correspondente e as peças obidas fixadas em formaldeído tamponado a 10% por 48 horas.

4.2 OBTENÇÃO DA MATRIZ ÓSSEA

Foi obtido tecido ósseo de mandíbula bovina em frigorífico de alto padrão com inspeção federal pelo Ministério da Agricultura. Imediatamente após o sacrifício do animal, removeu-se a porção do ramo mandibular, armazenando-a em solução gelada de cloreto de sódio 0,9% a uma temperatura variando entre 0 e 4 graus centígrados, por um período de 60 minutos (BRAILE et al., 1982). Em seguida, o ramo mandibular foi imerso em solução descalcificadora de HCl (ácido clorídrico) a 4 mol com temperatura variando entre 6 e 8 graus centígrados permanecendo por um período de 14 dias com trocas diárias da solução (Van de PUTIE & URIST, 1966; GARCIA JÚNIOR, 1997). Neste momento, através de cortes com de osteótomo, foram obtidos fragmentos retangulares medindo aproximadamente 1 cm² 0,4 cm de espessura, que sofreram novas trocas diárias durante mais 07 dias e

após, levados para banhos em solução fisiológica gelada por um período ininterrupto de 24 horas.

Após o processo de lavagem e remoção total do ácido descalcificador, os fragmentos ósseos para implantação foram armazenados em glicerina a 98% e mantidos sob uma temperatura em torno de 8 graus centígrados por um período de 20 dias. (OKAMOTO et al, 1990; GARCIA JUNIOR, 1997). Noventa minutos antes do procedimento cirúrgico de implantação, os fragmentos de matrizes ósseas foram retirados da solução de glicerina a 98%, lavados em solução fisiológica 0,9% gelada (em torno de 8 graus centígrados) por um período de 30 minutos, imersos em glutaraldeído a 2% por um período de 30 minutos e novamente lavados e mantidos em solução fisiológica até o momento de sua implantação (BRAILE et al, 1982).

4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA ESTABILIDADE

Os animais utilizados no experimento foram sacrificados nos períodos de 15, 30 e 60 dias por meio de sobredose anestésica.

Nos períodos correspondentes de 30 e 60 dias da eutanásia foi avaliada clinicamente a estabilidade dos implantes através de torque reverso através da adaptação da chave intermediária e torquímetro analógico (ATG24CN, Tohnichi, Tokyo, Japan/www.tohnichi.co.jp) com escala graduada de 30N.

4.4 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

As peças obtidas da tíbia direita desses animais foram reduzidas e fixadas em solução de formaldeído tamponado a 10% (Reagentes Analíticos®, Dinâmica Odonto-Hospitalar Ltda, Catanduva, SP, Brasil) durante 48 horas e banhadas em água corrente por 24 horas. Após a fixação, as peças passaram pela etapa de desidratação a partir da seqüência crescente de álcoois 70, 90, 95 e 100, gradativamente. Ao término da desidratação, as peças foram imersas em acetona (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil) por 24 horas, a seguir em solução de acetona e polimetil metacrilato lento (PMMAL) (Classico®, Artigos Odontológicos Clássico, São Paulo, SP, Brasil) na proporção de 1:1. Na seqüência, recebeu 3 banhos de PMMAL, sendo que no último banho, foi acrescentado o catalisador peróxido de benzoíla a 1% (Riedel® – De Haën AG, Seelze – Hannover, Germany). O último banho (PMMAL e catalizador) foi realizado com as peças colocadas em frascos de vidro com tampa, mantidos à temperatura ambiente por aproximadamente 01 semana, para que a resina polimerizasse. O corte e o desgaste das peças foram realizados no plano mésio-distal utilizando um sistema de corte (Exakt Cutting System, Apparatebau, Gmbh, Hamburgo, Alemanha) até a obtenção de secção de aproximadamente 70 µm de espessura.

As peças obtidas do tecido subcutâneo foram reduzidas, processadas e armazenadas em solução de formaldeído a 10%. As peças passaram por processo de desmineralização e desidratação em solução de EDTA a 18% (50 g de EDTA, 6 g de hidróxido de sódio diluídos em 250 ml de água destilada) por 60 dias e embebidas em parafina para realização de cortes seriados longitudinais com 6 µm de espessura.

As peças foram coradas em hematoxilina e eosina e visualizadas através de análise microscópica qualitativa.

4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA

Os corantes utilizados foram vermelho de alizarina e o azul de Stevenel. As amostras teciduais seccionadas para análise histomorfométrica foram realizadas por um único examinador. Para a realização das mensurações, foi utilizado um microscópio óptico (Axiolab, ZEISS) e câmera de vídeo (JVC, RGB color vídeo – TK1270) acoplada a esse microscópio e conectada a um microcomputador com um software analisador de imagens digitalizadas (ImageLab 2000).

As imagens obtidas foram capturadas pelo mesmo sistema destacado anteriormente e submetidas à análise histométrica e análise histológica com contagem das áreas de osso neoformado, matriz óssea bovina, medula e enxerto de osso autógeno utilizando como ferramenta a grade de Merz.

Os valores obtidos para nos grupos estudados foram convertidos em valores percentuais e comparados, sendo os valores percentuais tabulados para análise estatística.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada análise descritiva dos dados, através de dados médios, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo dos tecidos. Para comparar as diferenças percentuais entre grupos e tempos foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Whitney. O nível de significância adotado foi $\alpha=0,05$ e o Pacote estatístico SPSS 15 – Social Package Statistical Science – foi utilizado nesta análise.

Para comparar diferenças percentuais entre grupos e tempos foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Whitney e Kruskal-Wallis. Soares, JF; Siqueira, A.L, 1999.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os animais tiveram boa recuperação clínica pós-operatória e nenhuma alteração nas condições de saúde fora percebida durante todos os períodos avaliados neste estudo.

Após a reabertura das tíbias para a realização do torque-reverso, observou-se aos 30 e 60 dias que os implantes apresentaram-se estáveis, com osso neoformado em sua periferia e numa posição tridimensional semelhante a da posição de instalação e suportarem o torque reverso de 30 N.

5.2 ANÁLISE QUALITATIVA:

GRUPO 01 (IMPLANTE ASSOCIADO A OSSO AUTÓGENO):

AOS 15 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

O grupo tratado com osso autógeno apresenta-se com intensa neoformação óssea no defeito ósseo experimental periimplantar, preenchendo toda a área estudada. Todo o espaço correspondente ao defeito periimplantar foi preenchido por tecido ósseo neoformado e osso autógeno enxertado (FIGURA 01).

Observa-se a presença de enxerto ósseo autógeno envolto por osso neoformado (FIGURA 01).

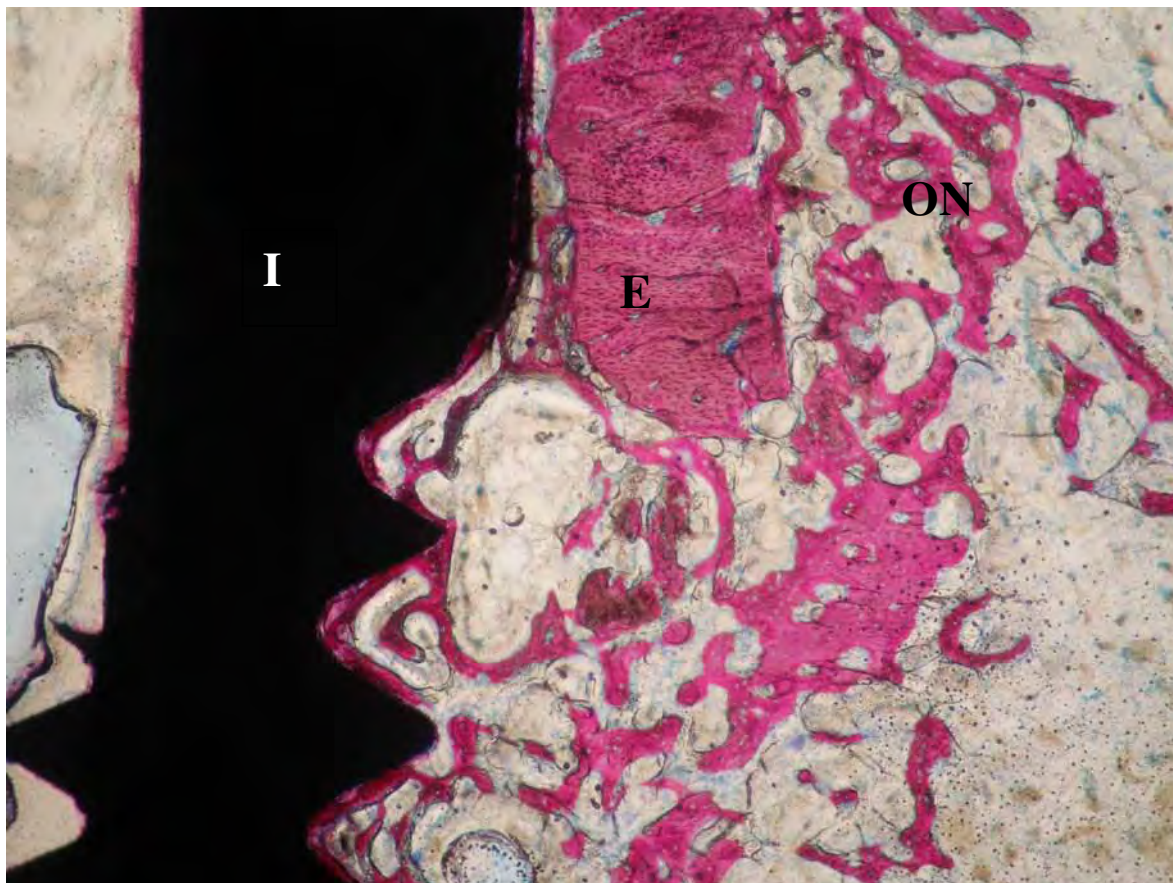


Figura 01: Área cervical do Implante. 15 dias pós-operatório. Presença de fragmento ósseo enxertado junto a superfície do implante, envolvida por osso neoformado na área do defeito ósseo experimental periimplantar. Aumento de 40X
I= implante; ON= osso neo formado; E= enxerto ósseo autógeno

Notamos a presença dos fragmentos de osso enxertado junto à região do defeito ósseo cervical do periimplantar envolvidos por tecido ósseo neoformado ricos em amplos espaços medulares exibindo ainda neste período trabéculas ósseas delgadas em fase de osteogênese. Observa-se a borda do feito ósseo experimental,

sem a presença de tecido conjuntivo fibroso e ou áreas de inflamação crônica ou aguda (FIGURA 02). Em todos os campos analisados, o tecido conjuntivo presente era compatível com medula óssea hígida. Tecido ósseo neoformado apresenta características de osso esponjoso e não observamos áreas de absorção óssea. Prevalece a presença de trabéculas ósseas neoformadas preenchendo a área do defeito ósseo periimplantar na região cervical. As trabéculas estavam preenchidas por tecido conjuntivo celularizado, com células semelhantes a osteoblastos (FIGURA 02). Em várias áreas do terço cervical do implante observamos formação de uma superfície de contato entre o osso neoformado e a superfície do implante (FIGURA 02).

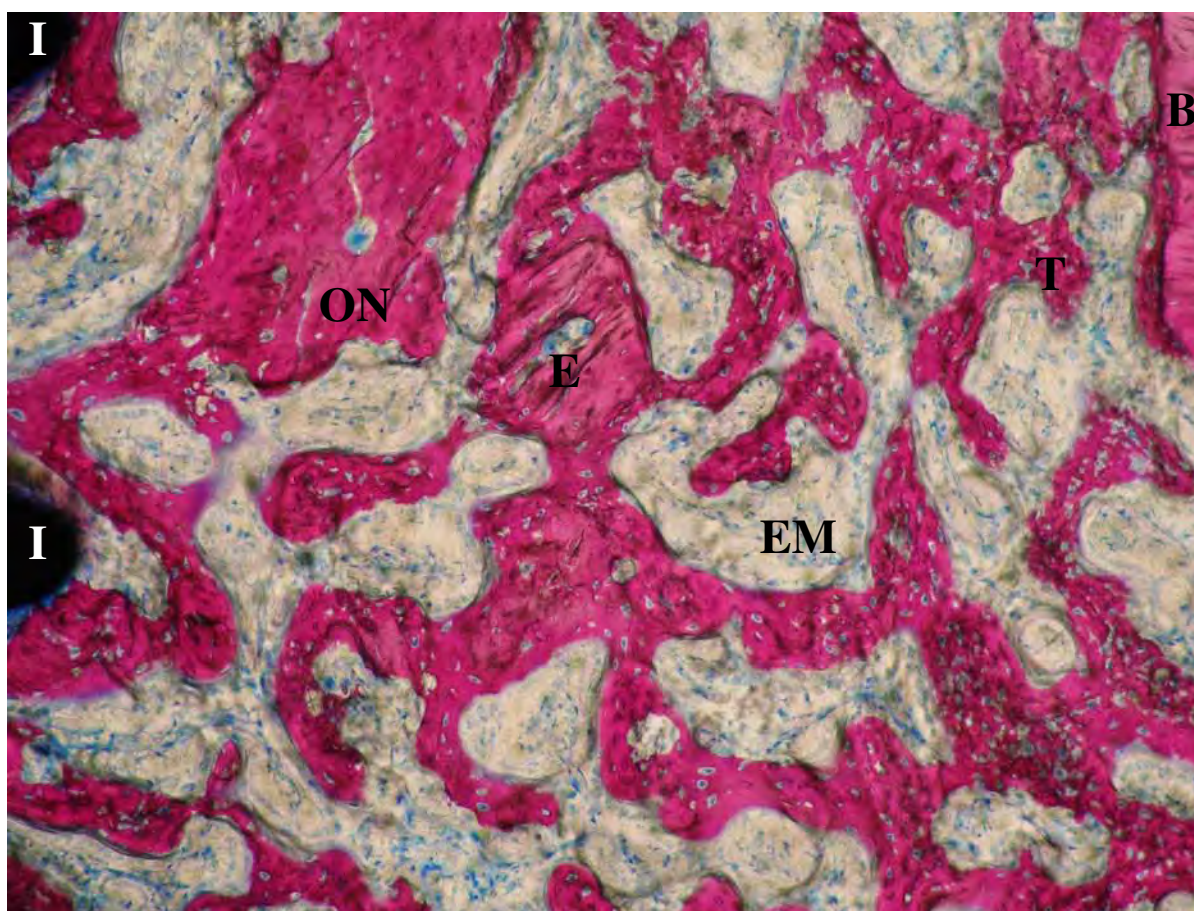


Figura 02: Defeito ósseo periimplantar. 15 dias pós-operatório. Fragmento de osso autógeno envolto por tecido ósseo neoformado rico em trabéculas ósseas exibindo intensa celurização osteoblástica. Aumento de 100x.

I= implante; ON= osso neo formado; E= enxerto ósseo autógeno; B= borda do defeito periimplantar; EM= espaços medulares

AOS 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

Observa-se neoformação óssea ao redor do implante, preenchendo a área do defeito ósseo periimplantar com características de osso em fase intermediária e final de remodelação, com trabéculas mistas alternando entre delgadas e espessas, porém já demonstrando baixa atividade osteoblástica (FIGURA 04).

Observamos a formação de uma interface de contato entre o osso neoformado e a superfície do implante com aspectos teciduais e celulares que nos leva a definir como áreas de osseointegração com tecido ósseo neoformado e medula óssea em íntimo contato com o titânio da superfície do implante (FIGURA 03).

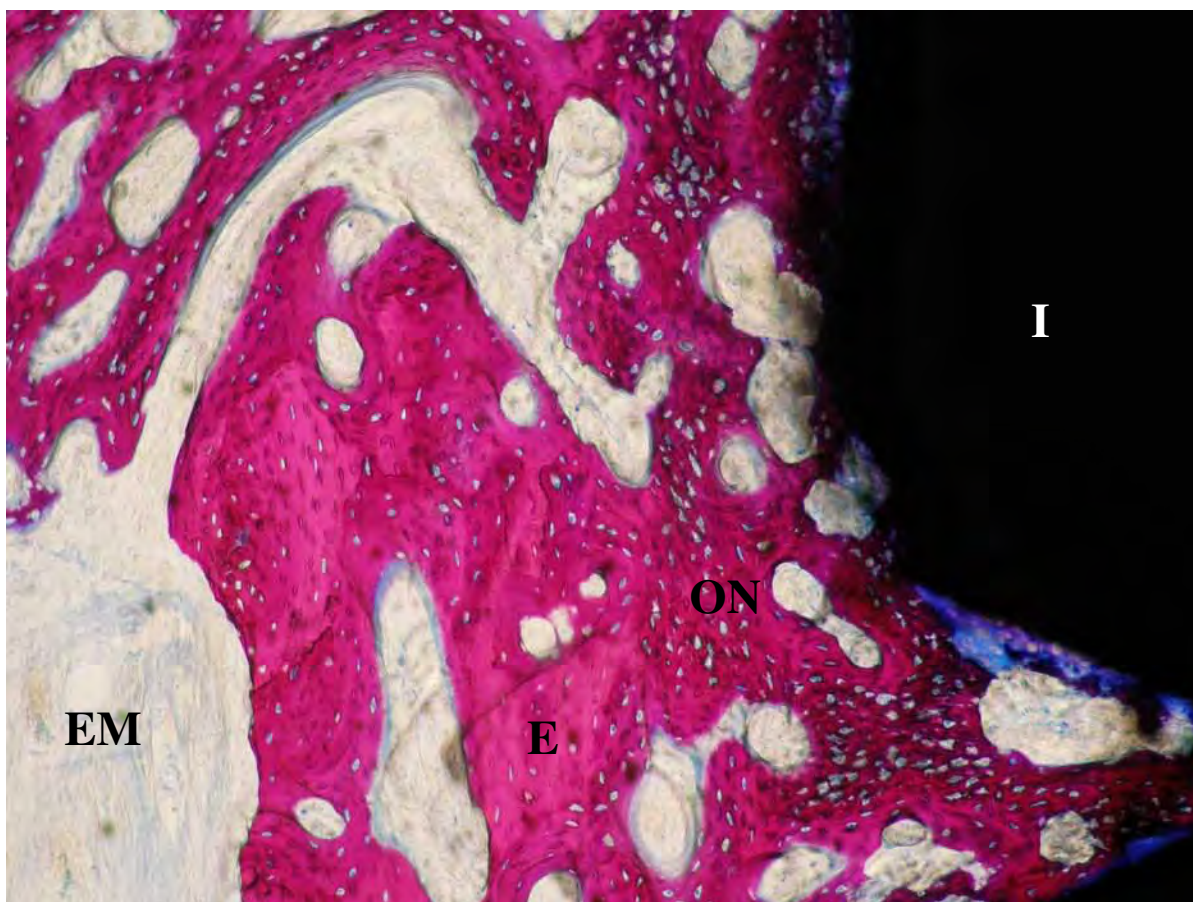


Figura 03: Área cervical do implante. 30 dias pós-operatório Trabeculado ósseo neoformado envolvendo fragmentos de enxerto autógeno e intimamente aderido à superfície do implante mostrando histologicamente o processo de osseointegração. Aumento de 100x.
I= implante; ON= osso neo formado; E= enxerto ósseo autógeno; EM= espaço medular

Neste tempo pós-operatório é possível observar o início de incorporação enxerto autógeno por tecido ósseo neoformado com características de osso maduro e em processo de substituição e remodelação. Alguns dos fragmentos de enxerto ósseo autógeno estão totalmente envolvidos por trabéculas espessas e com

formação harvesiana bem definida, com difícil identificação dos fragmentos implantados (FIGURA 04).

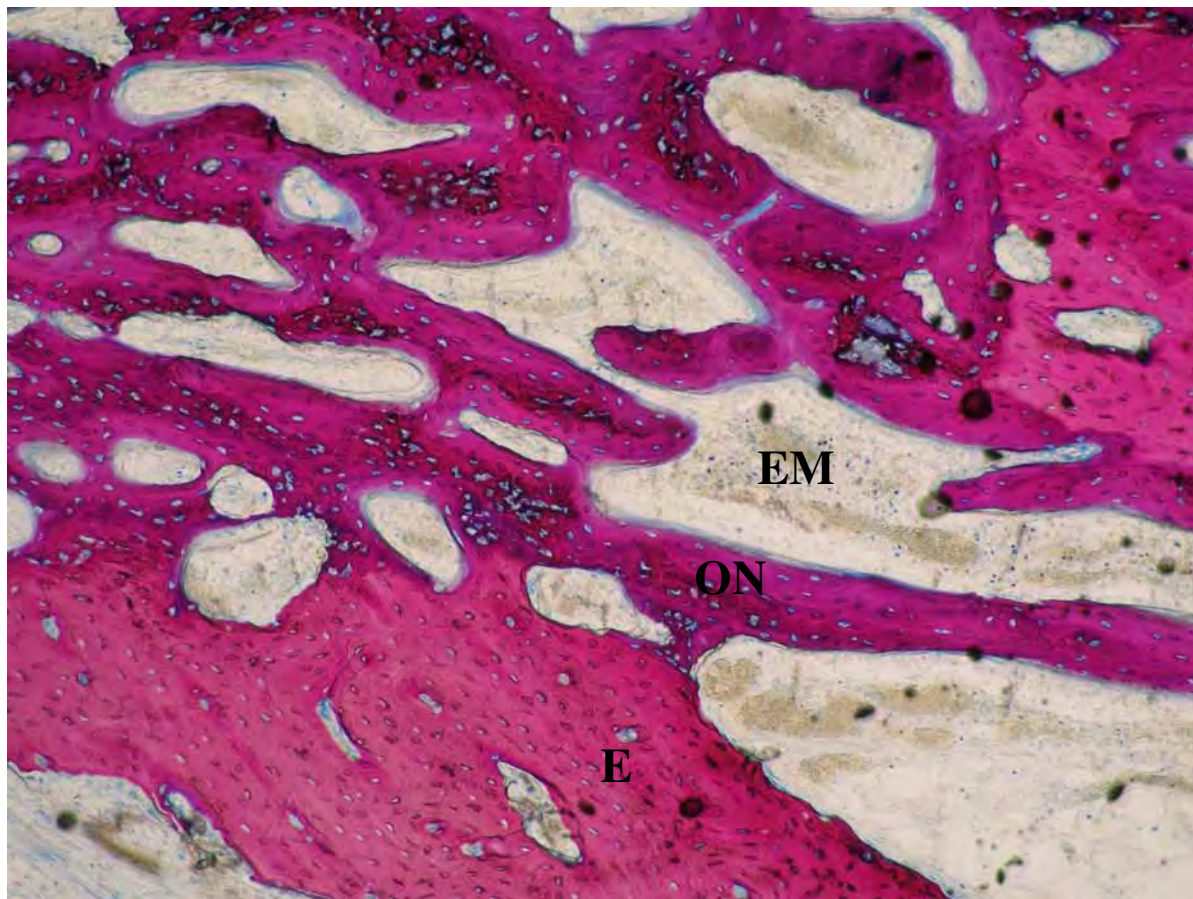


Figura 04: Área cervical do defeito ósseo perimplantar experimental. 30 dias pós-operatório. Fragmento de tecido ósseo enxertado próximo a parede do defeito experimental incorporado por tecido ósseo neoformado. Aumento de 100x.

ON= osso neo formado; E= enxerto ósseo autógeno; EM= espaço medular

AOS 60 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

Todos os implantes apresentavam-se histologicamente osseointegrados. A integridade da cortical superior da tíbia dos coelhos foi restaurada nas áreas de defeito ósseo confeccionados. Observou-se neoformação óssea na região do defeito

ósseo periimplantar a nos vales das roscas dos implantes. Presença de trabéculas ósseas circundada por tecido conjuntivo celularizado com espaços de remodelação óssea com a superfície do implante. Em muitas áreas não se pode diferenciar o tecido ósseo neoformado do osso preexistente. Não se identifica a presença dos fragmentos de enxerto ósseo (FIGURA 05), e sim a presença de osso cortical com poucos espaços medulares ao redor do implante. Observam-se amplos espaços medulares nas áreas abaixo da cortical superior da tíbia, correspondente ao terço médio do implante (FIGURA 06).

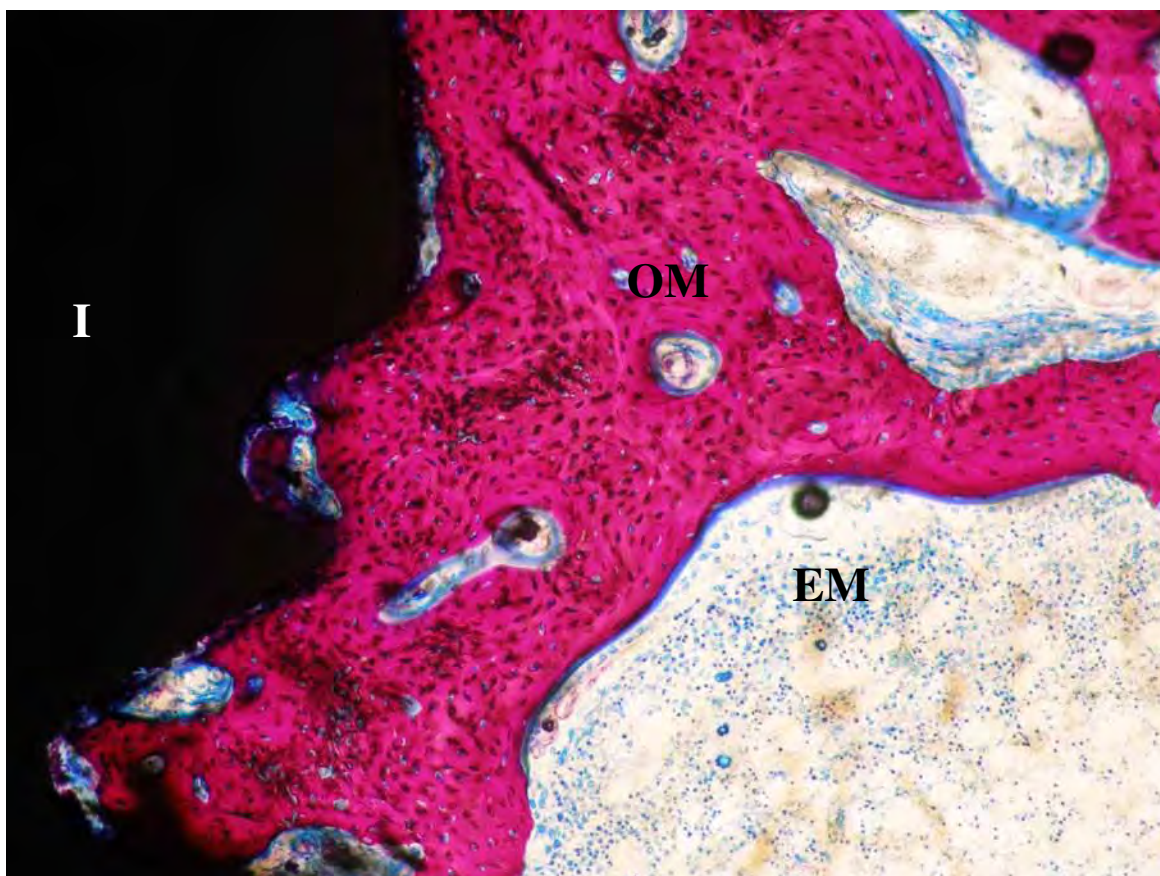


Figura 05: Área cervical do implante. 60 dias pós-operatório. Trabeculado ósseo neoformado maduro e intimamente aderido à superfície do implante mostrando histologicamente o processo de osseointegração. Observa-se preenchimento da área do defeito periimplantar experimental. Aumento de 100x.

I= implante; OM= osso maturo; EM= espaços medulares

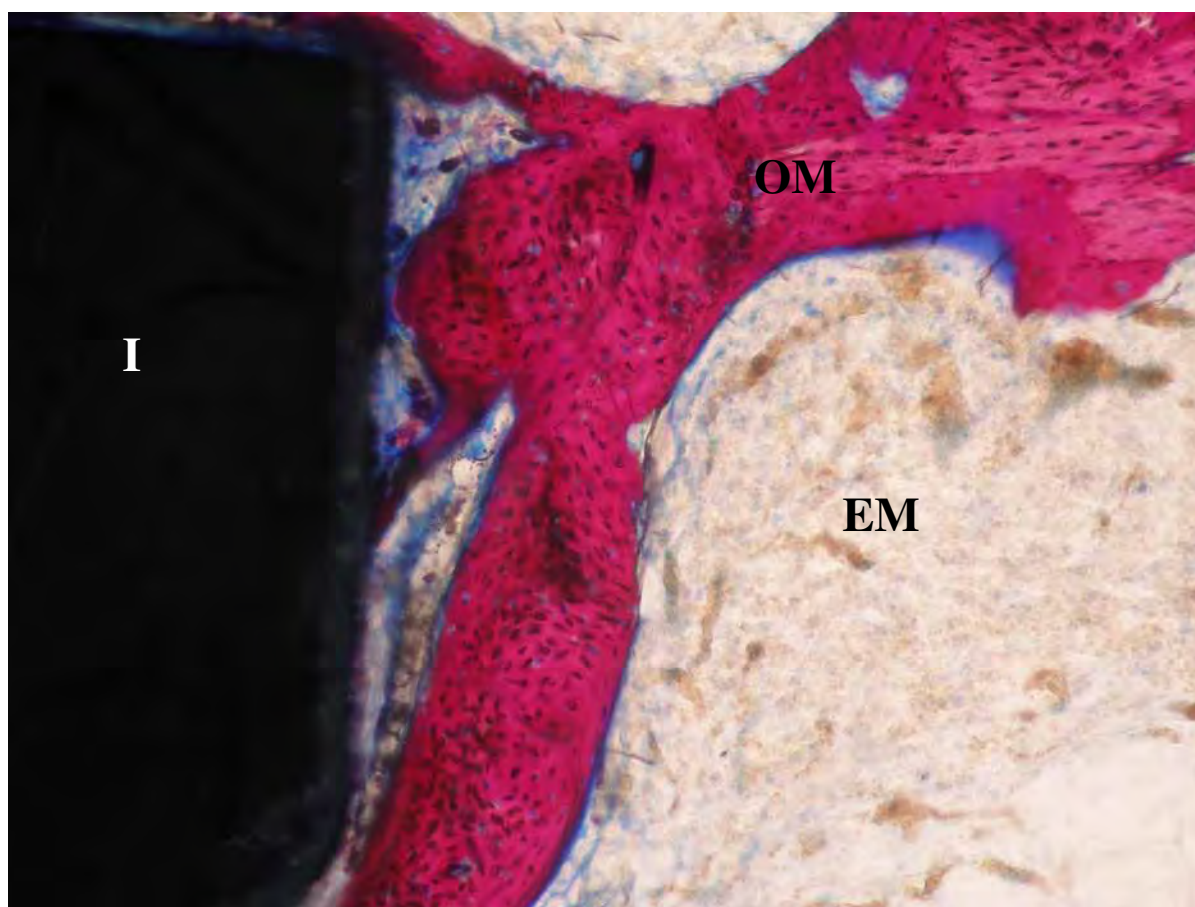


Figura 06: Área cervical do implante. 60 dias pós-operatório. Observar osso neoformado preenchendo a área do defeito periimplantar experimental, Aumento de 100x.
I= implante; ON= osso neoformado; EM= espaço medular

GRUPO 02 (IMPLANTE ASSOCIADO MATRIZ ÓSSEA BOVINA DESMINERALIZADA):

AOS 15 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

Observam-se poucas áreas de neoformação óssea ao redor do defeito ósseo periimplantar e a presença da matriz óssea bovina desmineralizada na área do defeito ósseo, sem evidências de absorção e ou degeneração (FIGURA 07).

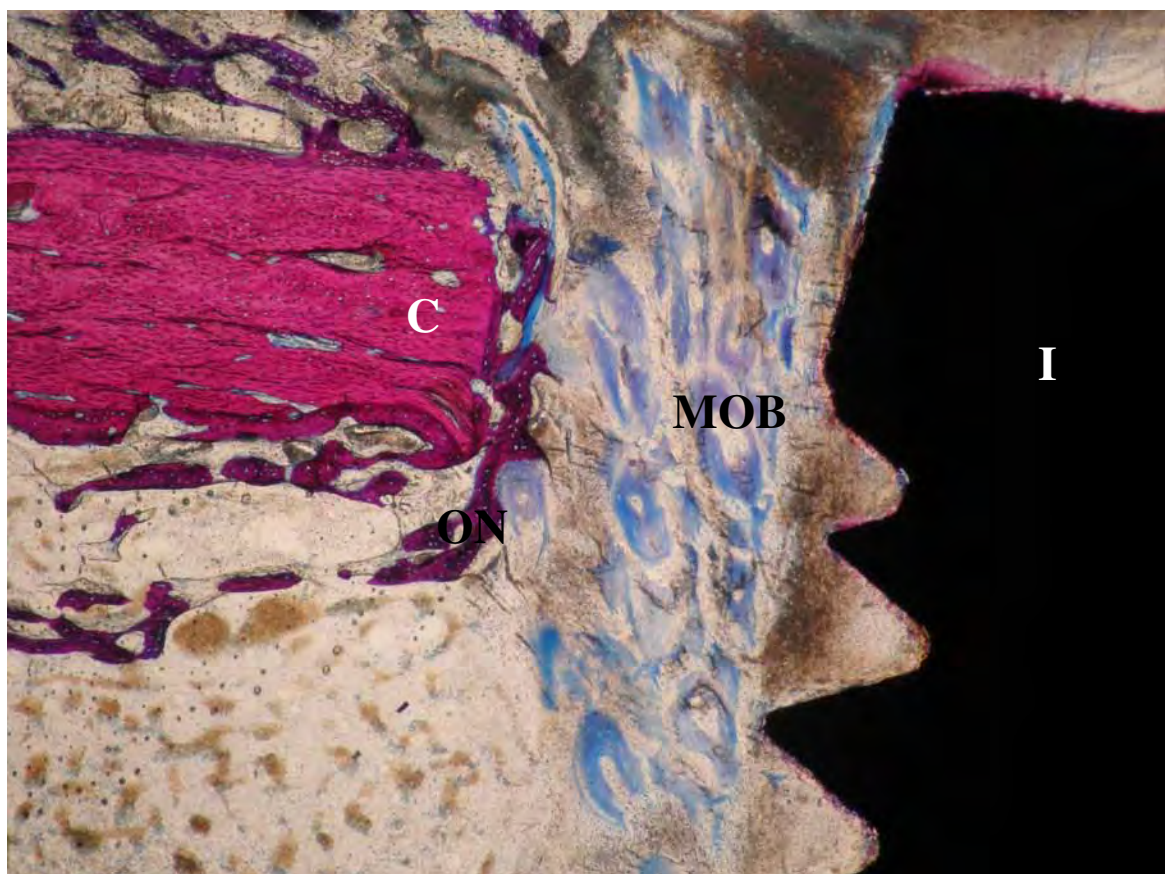


Figura 07: Área cervical do implante. Aos 15 dias pós-operatórios Observar a presença da matriz óssea em contato com a superfície do implante na área do defeito ósseo experimental. Observam-se poucas áreas de tecido ósseo neoformado na periferia do defeito ósseo. Aumento de 40x. I= implante; ON= osso neoformado; MOB= matriz óssea bovina; C= cortical óssea superior

A matriz ocupa grande parte do defeito periimplantar juntamente com tecido conjuntivo medular. Ocorre a presença de tecido ósseo neoformado a partir das paredes ósseas do defeito em direção ao corpo da matriz. Este tecido ósseo neoformado apresenta trabéculas imaturas e delgadas como no grupo de enxerto ósseo autógeno, porém em menor quantidade. Não foi observadas áreas de absorção intensa da matriz e ou do leito tratado, assim como ausência de infiltrado inflamatório local.

Notamos que o processo de incorporação e ou substituição da matriz é lento e grande parte de sua estrutura permanece preservada (FIGURA 08).

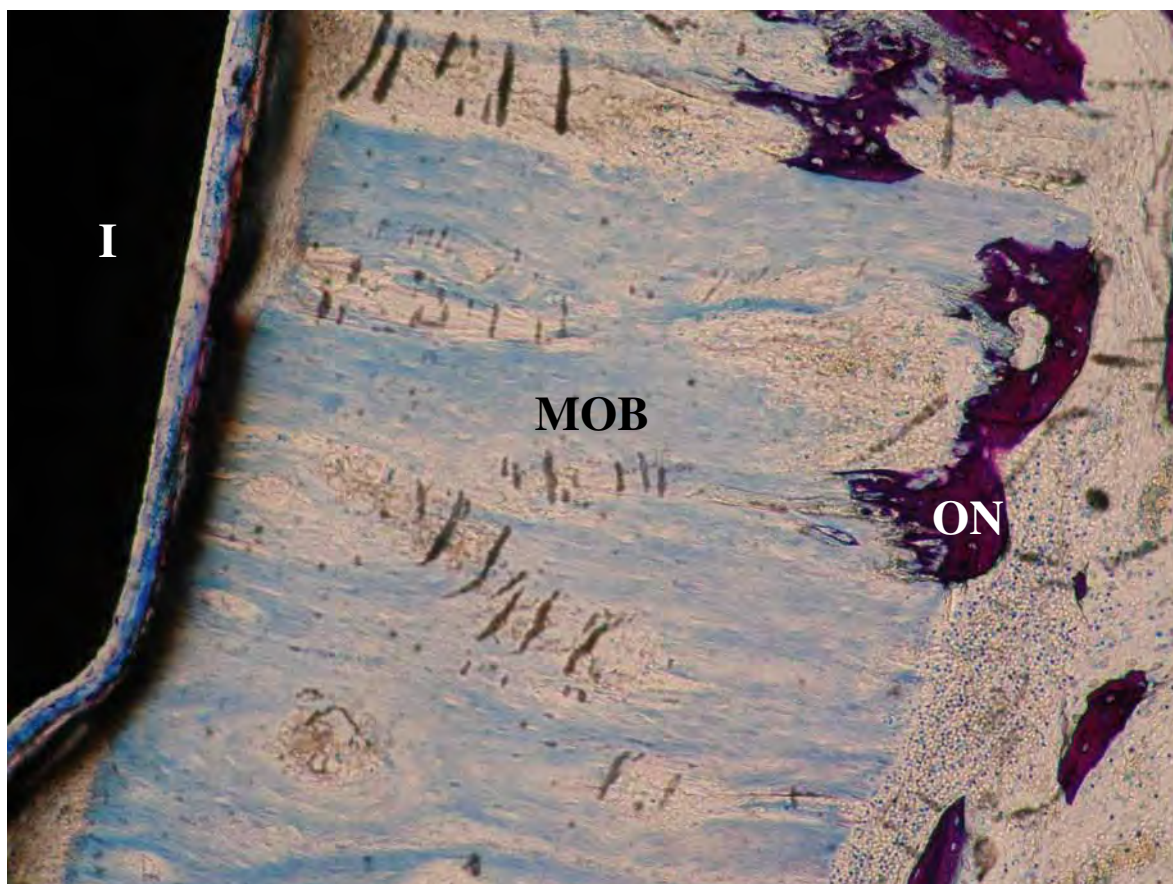


Figura 08: Área cervical do implante. Aos 15 dias pós-operatórios. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada preenchendo área do defeito ósseo experimental e em contato com a área cervical do implante. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada sendo incorporada por tecido ósseo neoformado. Aumento de 100x.
I= implante; ON= osso neoformado; MOB= matriz óssea bovina

Comparando-se ao grupo de enxerto ósseo autógeno notamos uma menor quantidade de trabéculas neformadas preenchendo a área do defeito ósseo periimplantar isto, possivelmente pela ocupação desta área pela matriz óssea bovina desmineralizada (FIGURA 09).

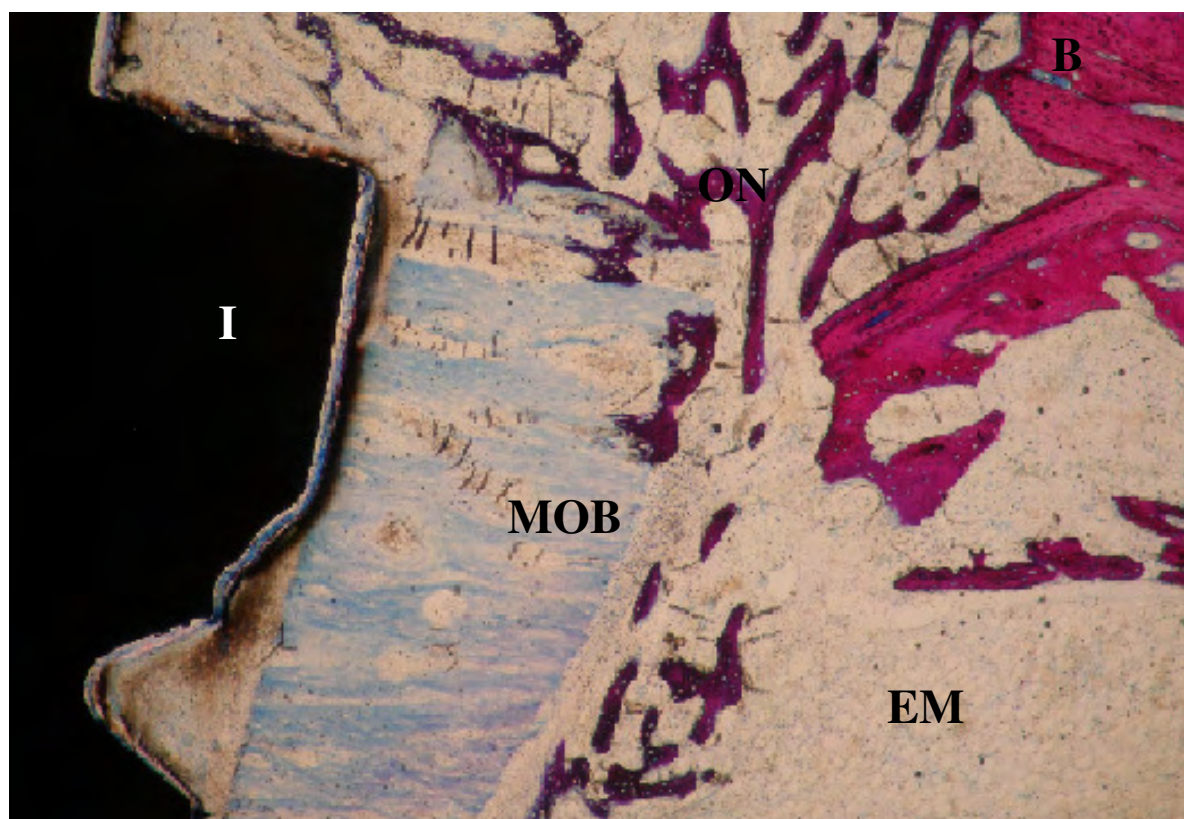


Figura 09: Área cervical do implante. 15 dias pós-operatório Área mostrando fragmento de matriz junto ao defeito ósseo periimplantar com poucas e delgadas trabéculas ósseas neoformadas e em contato com a superfície do implante. Aumento de 40x.

I= implante; ON= osso neoformado; MOB= matriz óssea bovina; B= borda do defeito periimplantar.

AOS 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

Todos os implantes apresentavam-se histologicamente osseointegrados neste período e com neoformação óssea ao redor do implante, preenchendo parcialmente as áreas do defeito ósseo periimplantar. Observa-se a presença de fragmentos de matriz óssea bovina desmineralizada, sem evidências de reabsorção local. Presença de espaços medulares entremeando as áreas ósseas neoformadas com características de osso esponjoso (FIGURA 10).

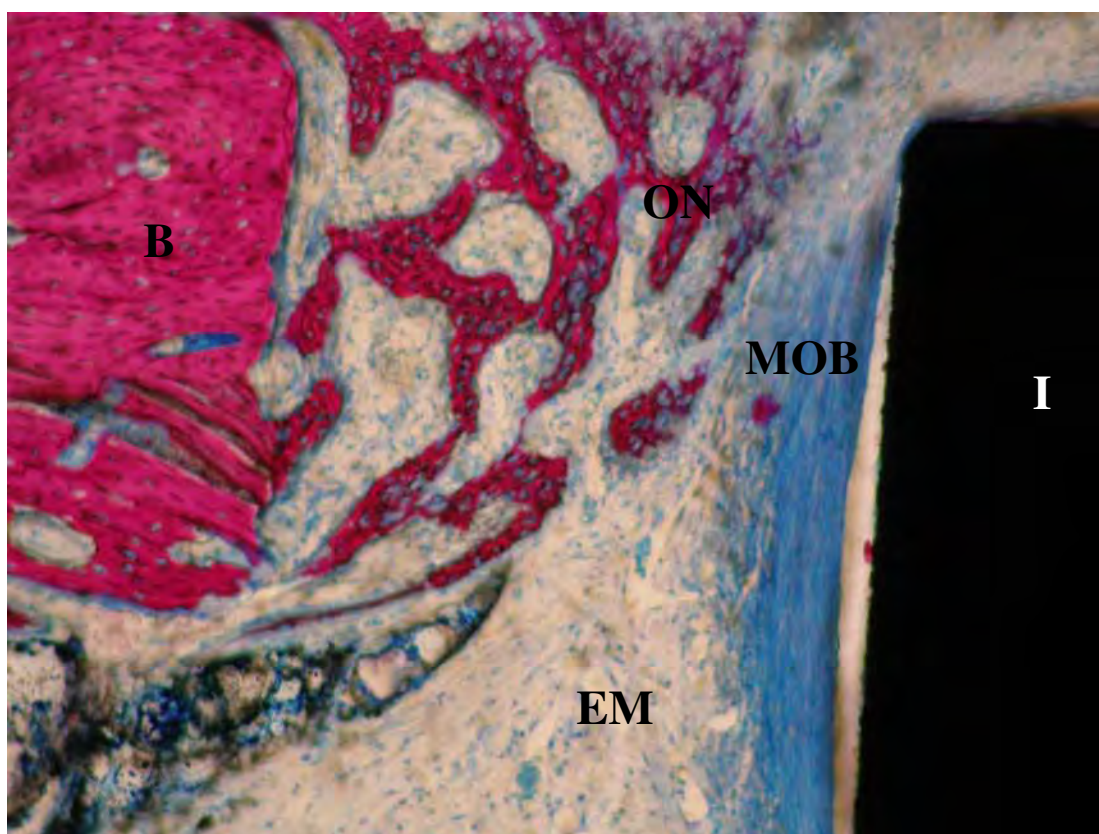


Figura 10: Área cervical do implante. Aos 30 dias pós-operatórios. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada e osso neoformado preenchendo área do defeito ósseo experimental e em contato com a área cervical do implante. Aumento de 100x.

I= implante; ON= osso neoformado; MOB= matriz óssea bovina; EM= espaço medular; B= borda do defeito periimplantar.

AOS 60 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

Todos os implantes apresentavam-se osseointegrados. A integridade da cortical superior da tíbia dos coelhos foi parcialmente restaurada nas áreas de defeito ósseo confeccionados. Observa-se a presença de osso cortical com poucos espaços medulares ao redor do defeito ósseo. Observam-se amplos espaços medulares nas áreas abaixo da cortical superior da tíbia.

Observa-se em todas as lâminas a presença da matriz óssea bovina desmineralizada. (FIGURA 11), circundada por trabéculas ósseas mostrando ainda processo de substituição da mesma por novo osso (FIGURA 12). Observou-se menor área de neoformação óssea na região do defeito ósseo periimplantar a nos vales das roscas cervicais dos implantes quando comparado ao grupo de enxerto com osso autógeno. Mesmo assim é possível notar a interface de osseointegração na área onde o tecido ósseo neoformado entrou em contato com a superfície do implante (FIGURA 12).

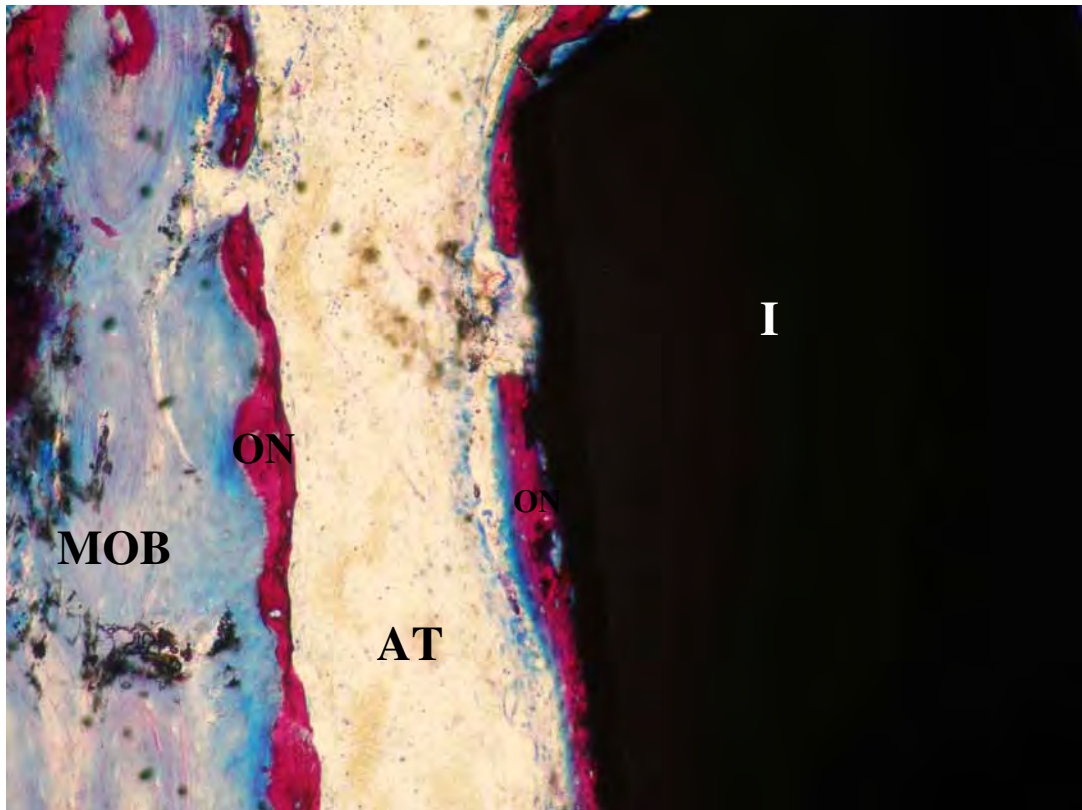


Figura 11: Área cervical do implante. Aos 60 dias pós operatórios. Observar a matriz óssea bovina desmineralizada e osso neoformado preenchendo área do defeito ósseo experimental e em contato com a área cervical do implante. Aumento de 100x.

I= implante; ON= osso neoformado; MOB= matriz óssea bovina; AT= artefato de técnica

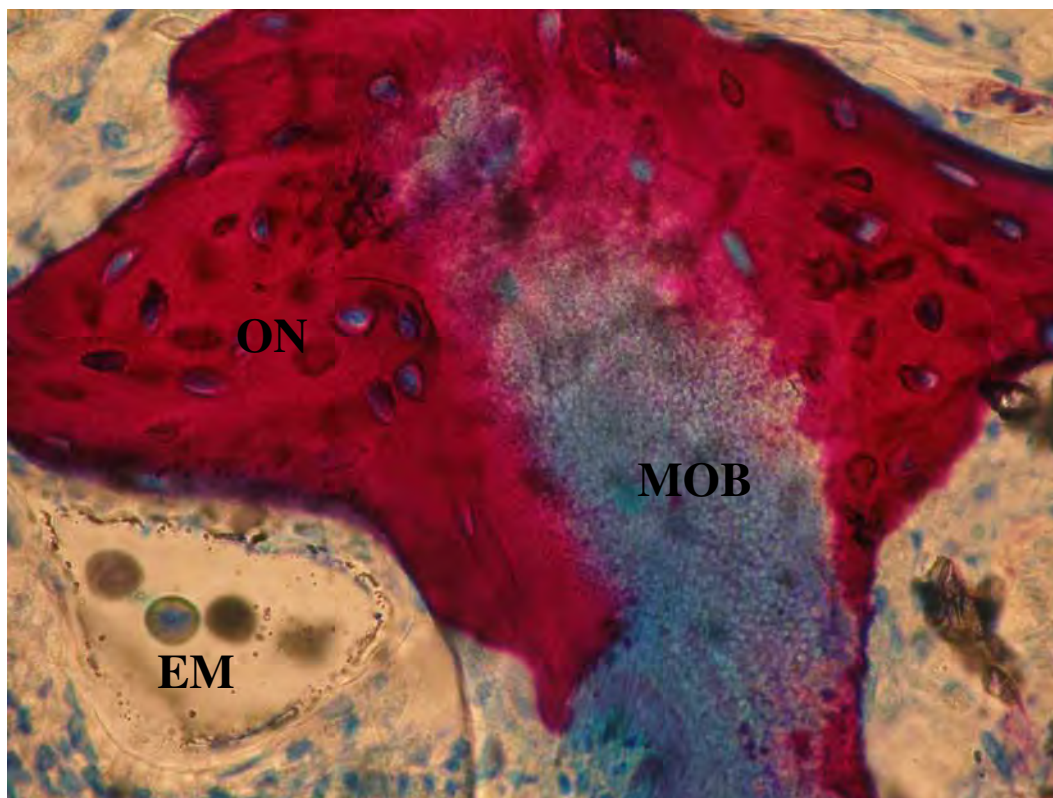


Figura 12: Aos 60 dias pós-operatórios. Presença de trabéculas ósseas circundando as áreas de matriz óssea bovina desmineralizada, mostrando ainda processo de substituição da mesma por novo osso. Aumento de 160x.

ON= osso neoformado; MOB= matriz óssea bovina; EM= espaço medular

MATRIZ ÓSSEA BOVINA DESMINERALIZADA IMPLANTADA NO SUBCUTÂNEO

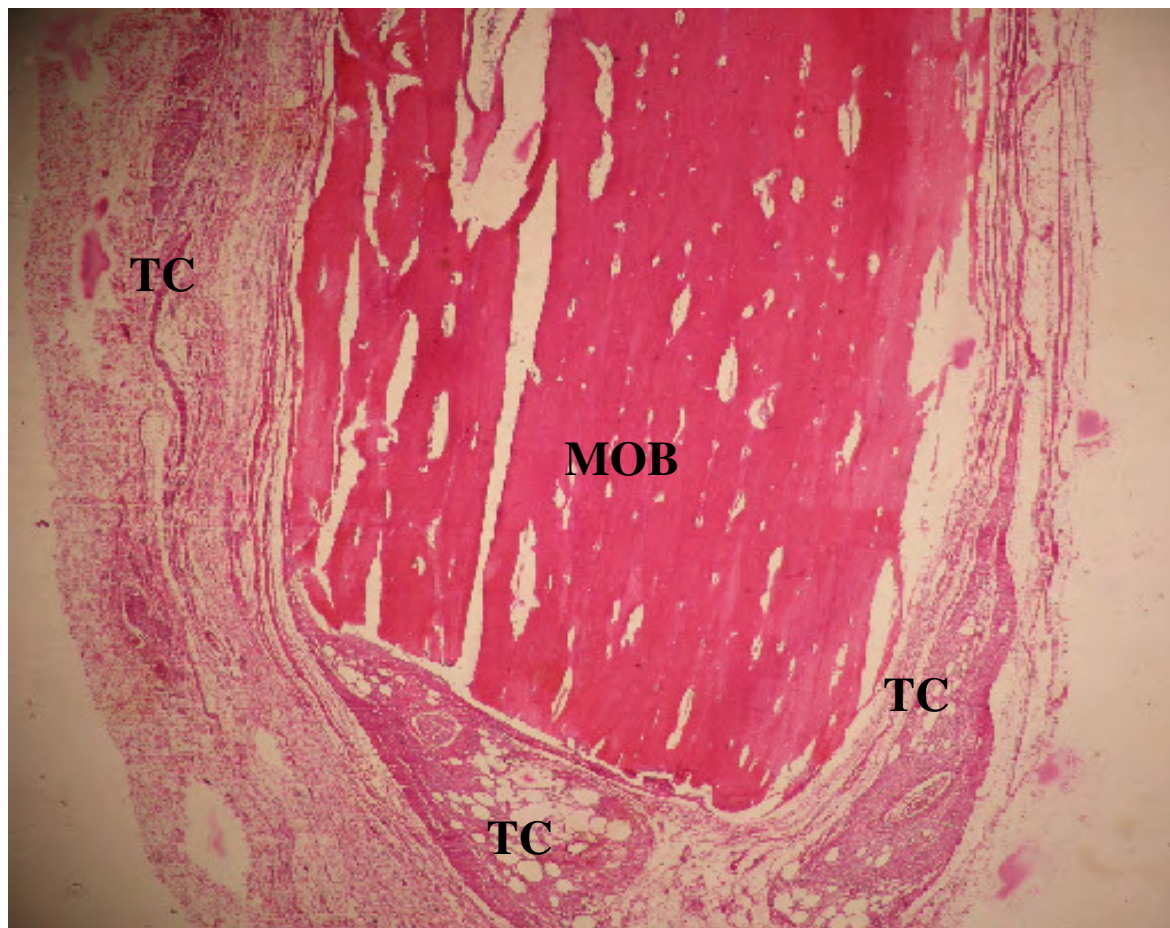


Figura 13: Visão panorâmica da matriz óssea desmineralizada implantada no subcutâneo. Aumento de 40x.

MOB= matriz óssea bovina TC= tecido conjuntivo subcutâneo

O implante de matriz óssea permanece no local de implantação sem apresentar áreas de absorção ou degeneração (FIGURA 13). Junto à periferia da matriz desmineralizada nota-se a presença de tecido conjuntivo vascularizado e

intensa proliferação fibroblástica. Pode-se notar a organização na disposição de fibras colágenas longitudinalmente em relação a matriz óssea.

AOS 15 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

A íntima relação entre a matriz óssea desmineralizada e a proliferação celular em sua superfície mostrando fina área de encapsulamento sem processo inflamatório significativo (FIGURA 14). É possível notar a inserção de fibras colágenas e a união com a matriz óssea bovina desmineralizada como se fosse uma continuação do próprio tecido conjuntivo (FIGURA 15).

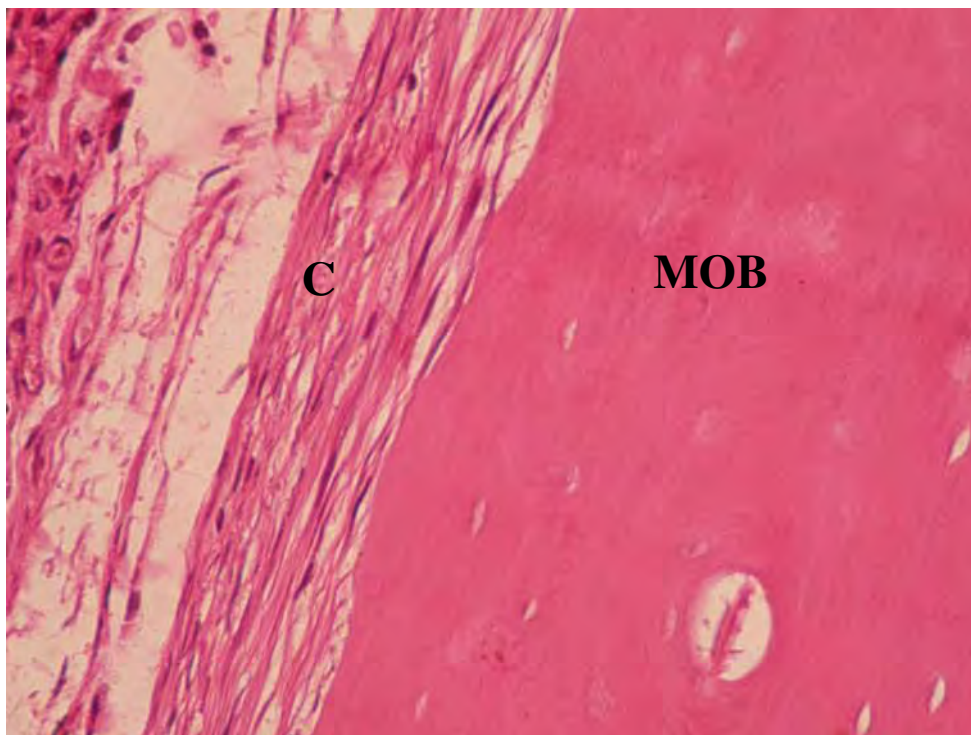


Figura 14. Aos 15 dias pós-operatórios. Matriz óssea desmineralizada implantada no subcutâneo. Aumento de 100x. MOB= matriz óssea bovina; C= fibras colágenas

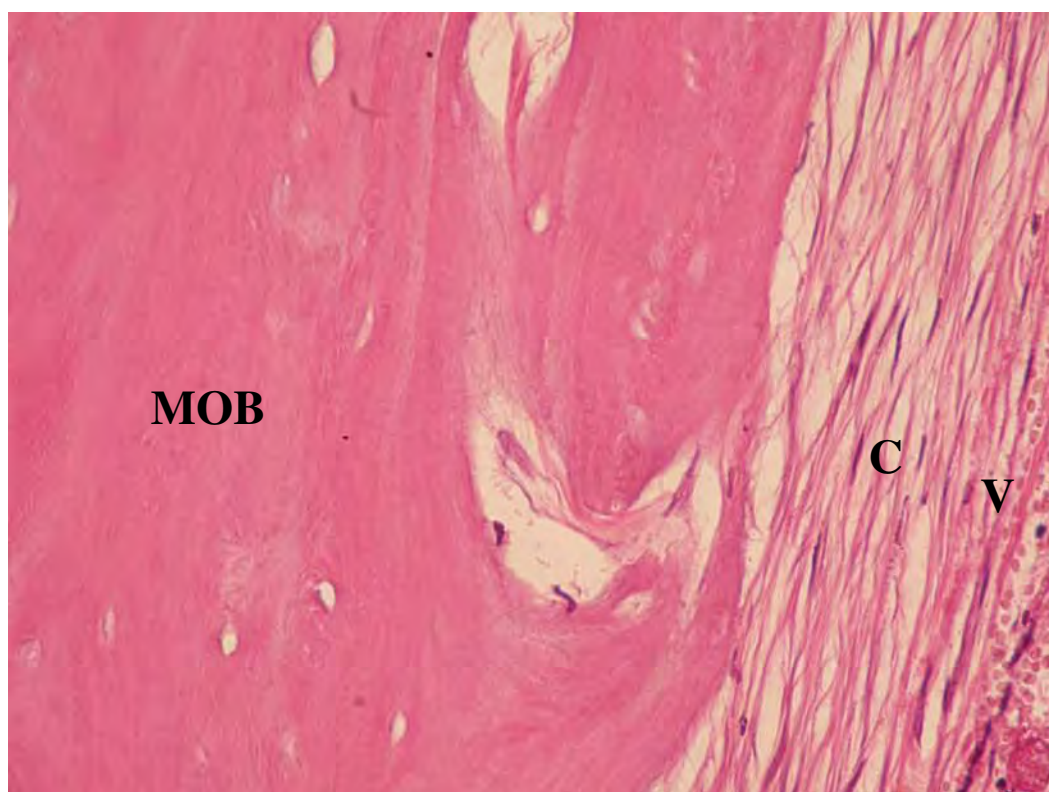


Figura 15. Aos 15 dias pós-operatórios. Matriz óssea desmineralizada implantada no subcutâneo. Aumento de 100x.
MOB= matriz óssea bovina; C= fibras colágenas; V=vaso sanguíneo

AOS 30 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO:

Da mesma forma que no período anterior, são raras as áreas de absorção da matriz óssea desmineralizada, preservando-se praticamente todo o seu volume. O tecido apresenta células fibroblásticas longitudinalmente dispostas a periferia da matriz óssea formando estreita faixa de tecido conjuntivo denso, acompanhada de zona de proliferação celular na periferia da matriz, Não nota-se a presença de infiltrado inflamatório junto a superfície da matriz e sim uma interação de inerticidade do implante (FIGURA 16).

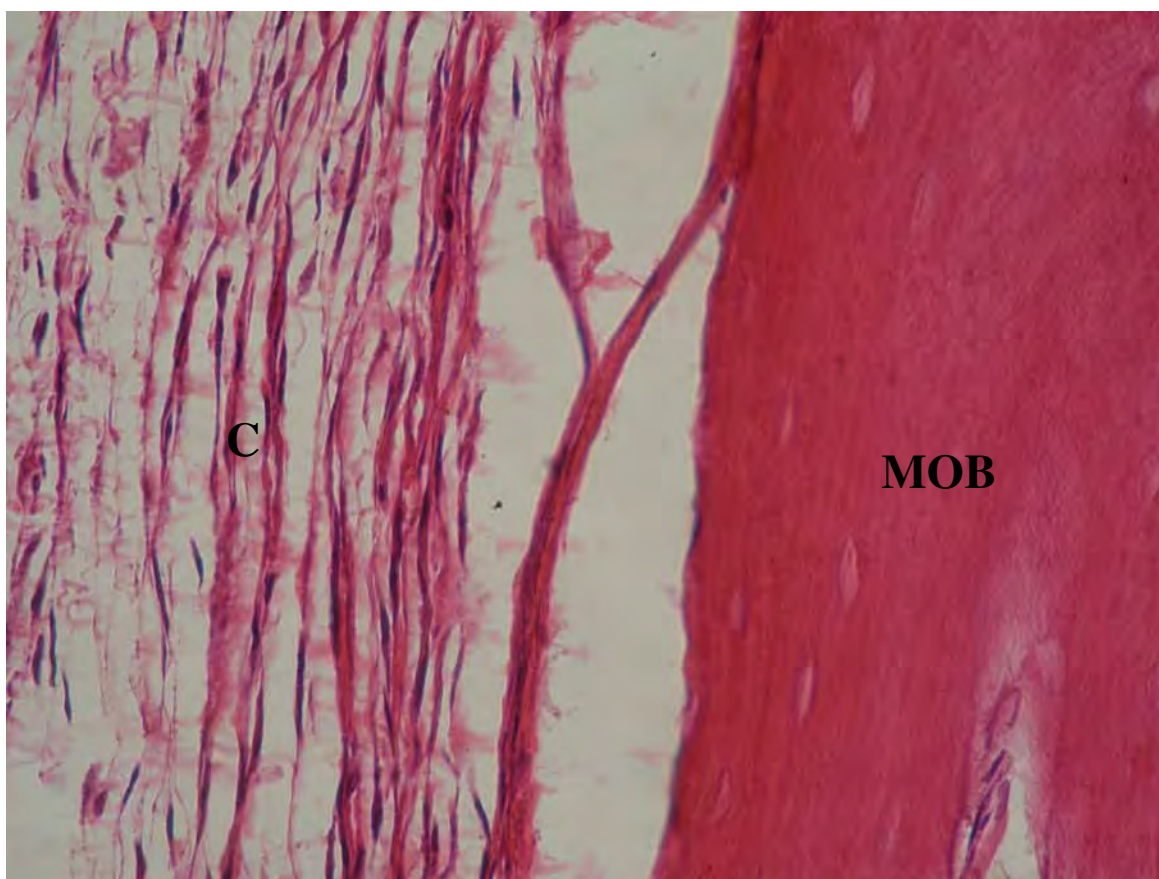


Figura 16. Aos 30 dias pós-operatórios. Matriz óssea implantada no subcutâneo. Aumento de 100x.

MOB= matriz óssea bovina; C= fibras colágenas

AOS 60 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIOS:

Observa-se alteração da superfície e interior da matriz óssea mostrando áreas de substituição por tecido conjuntivo com intensa neovascularização povoando o interior da matriz óssea e seus espaços medulares preenchidos por inúmeras células gigantes multinucleadas com atividade de absorção e remodelação (FIGURA 17).

Observa-se encapsulamento da matriz por fina camada de tecido conjuntivo denso, mostrando características bioinertes da mesma. Muito embora isso não seja uma constante, pois em muitos locais os espaços medulares pré-existentes são povoados por tecido conjuntivo que se assemelha a tecido medular. (FIGURA 18).

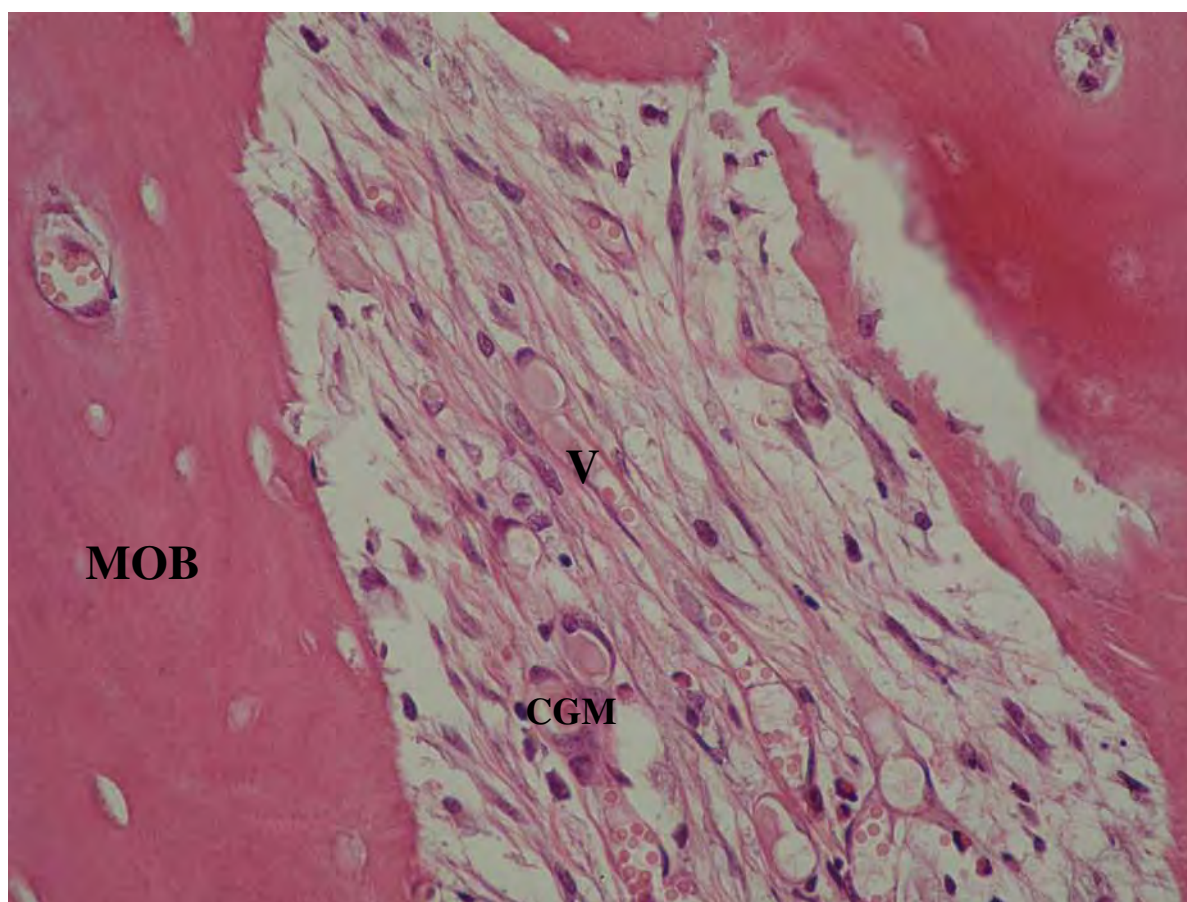


Figura 17. Aos 60 dias pós-operatórios. Matriz óssea implantada no subcutâneo. Observar área de absorção periférica. Aumento de 100x.

MOB= matriz óssea bovina; V= intensa área de vascularização; CGM= célula gigante multinucleada

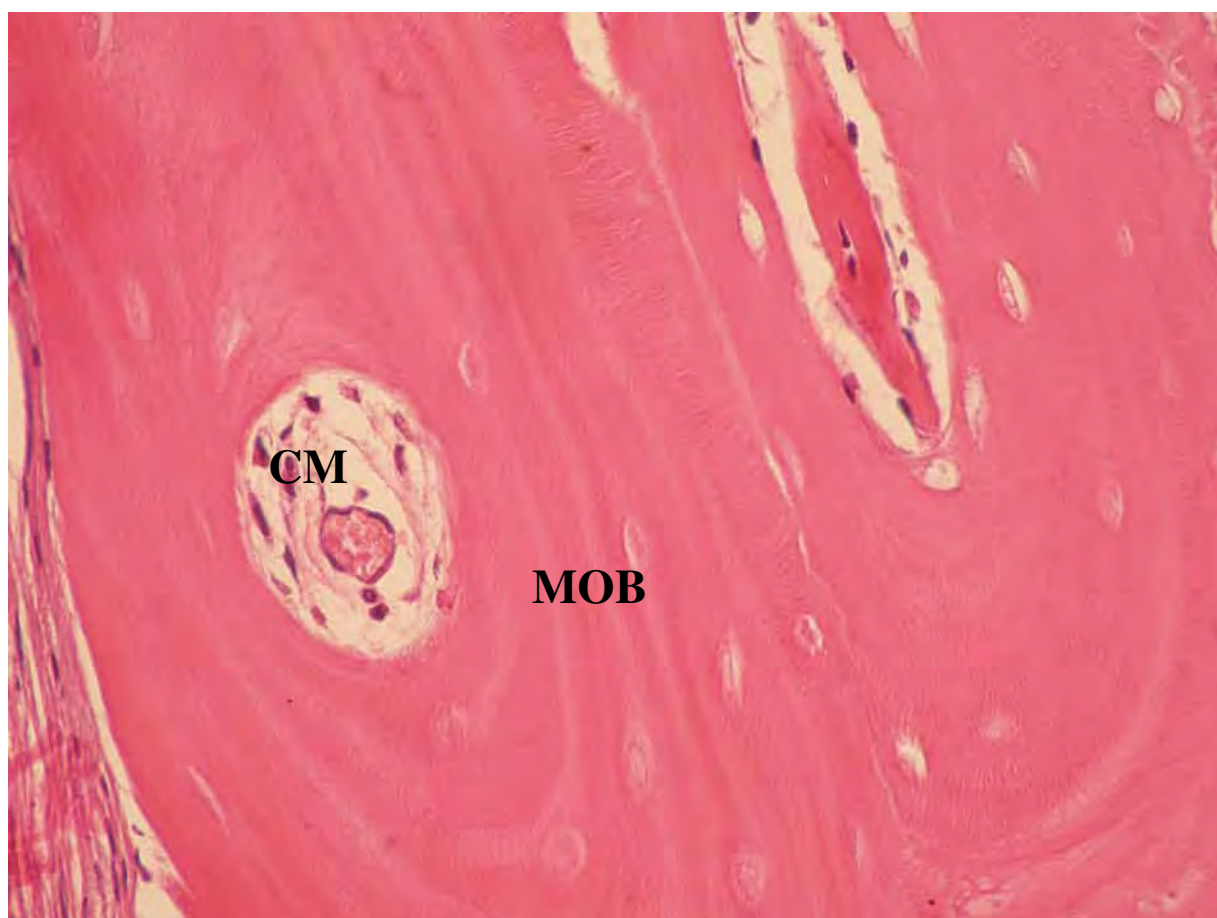


Figura 18. Aos 60 dias pós-operatórios. Matriz óssea implantada no subcutâneo. Aumento de 100x.

MOB= matriz óssea bovina; CM= canal medular

5. 3 ANÁLISE QUANTITATIVA

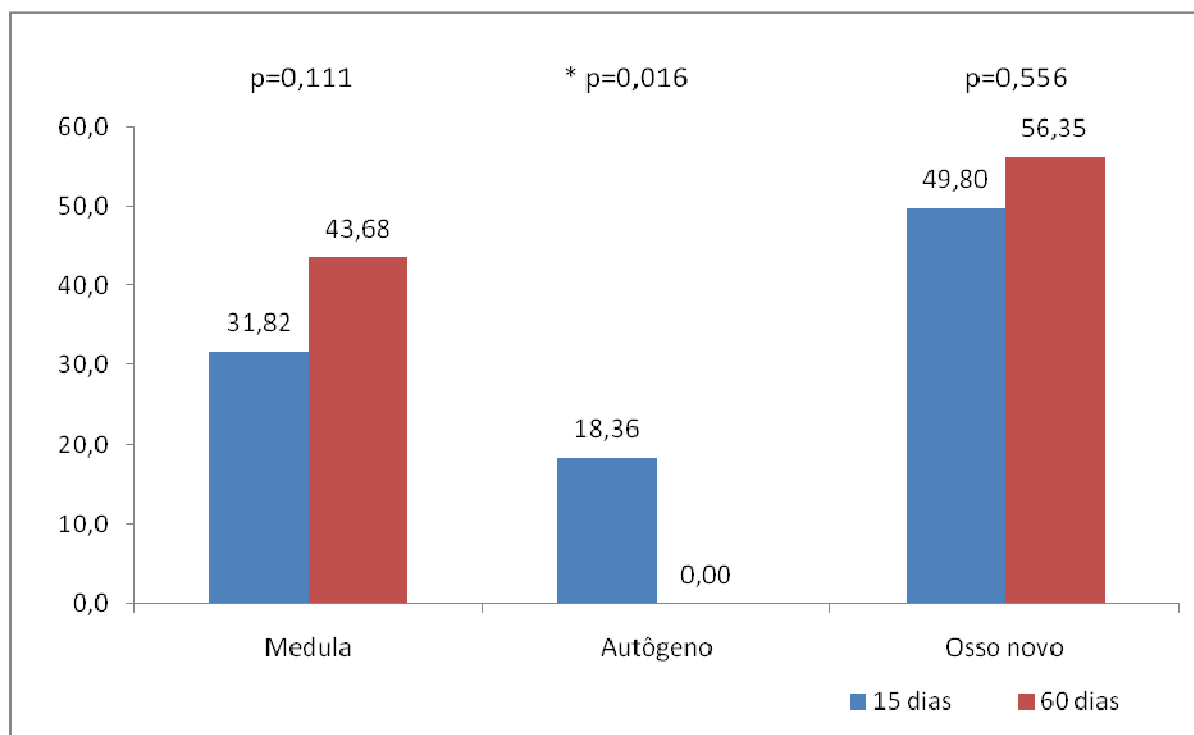


Gráfico 1. Comparação percentual da média dos tecidos ao longo do tempo. Grupo 01 enxerto autógeno.

Foi observado no grupo do enxerto autógeno nos tempos de 15 e 60 dias que a porcentagem de área ocupada por medula e a formação de novo osso aumentou, porém essas diferenças não foram estatisticamente significativas. O resultado em relação ao formação de novo osso pode ser explicado devida a grande capacidade osteogênica do enxerto de osso autógeno que mostra já no período de 15 dias intensa formação de novo osso (49,8%).

Foi observada diferença significativa entre a quantidade de enxerto de osso autógeno entre os períodos de 15 e 60 dias dentro do grupo de osso autógeno. Isto demonstra a rápida absorção do enxerto pelo organismo e substituição por novo osso.

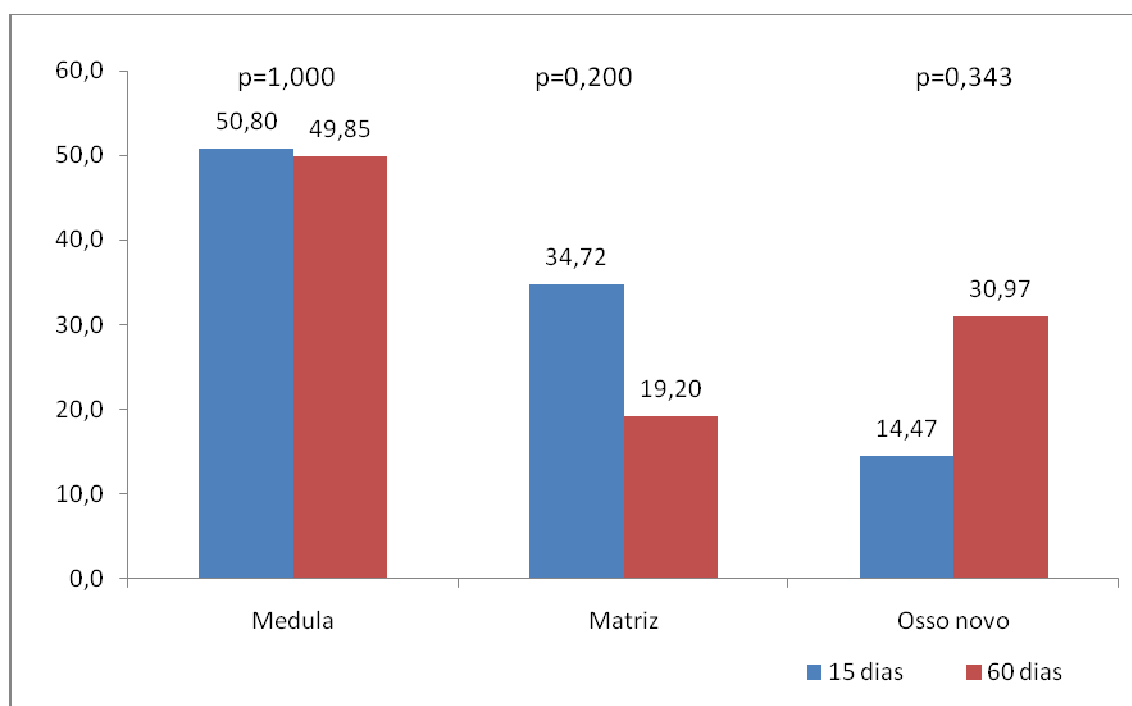


Gráfico 2. Comparação percentual da média dos tecidos ao longo do tempo. Grupo 02 matriz óssea bovina.

Foi observado no grupo da matriz óssea bovina desmineralizada nos tempos de 15 e 60 dias que a porcentagem de área ocupada por medula manteve-se estável; a porcentagem da área de matriz óssea desmineralizada diminuiu aos 60

dias e a formação de novo osso aumentou, porém essas diferenças não foram estatisticamente significativas.

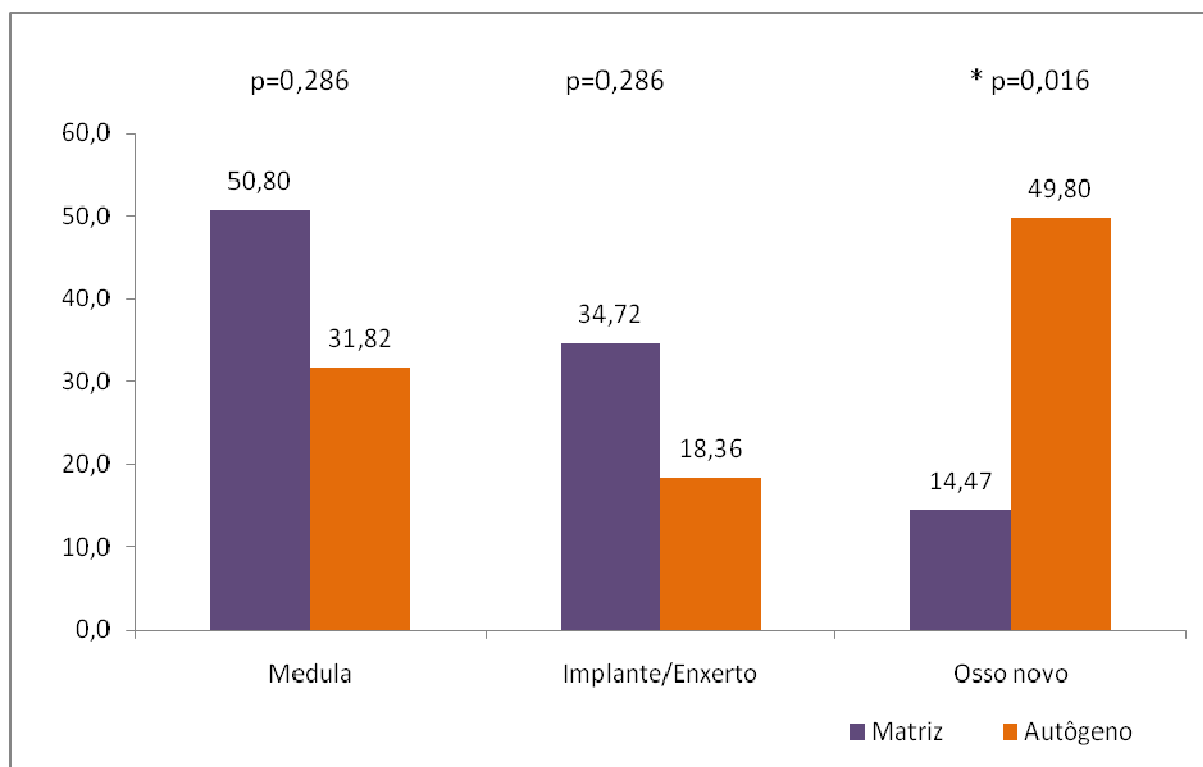


Gráfico 3. Comparação percentual da média dos tecidos entre os grupos matriz óssea bovina e enxerto autógeno aos 15 dias.

Foi observada diferença significativa entre a formação de novo osso no período de 15 dias quando comparado o grupo matriz e osso autógeno, demonstrando maior formação óssea neste último.

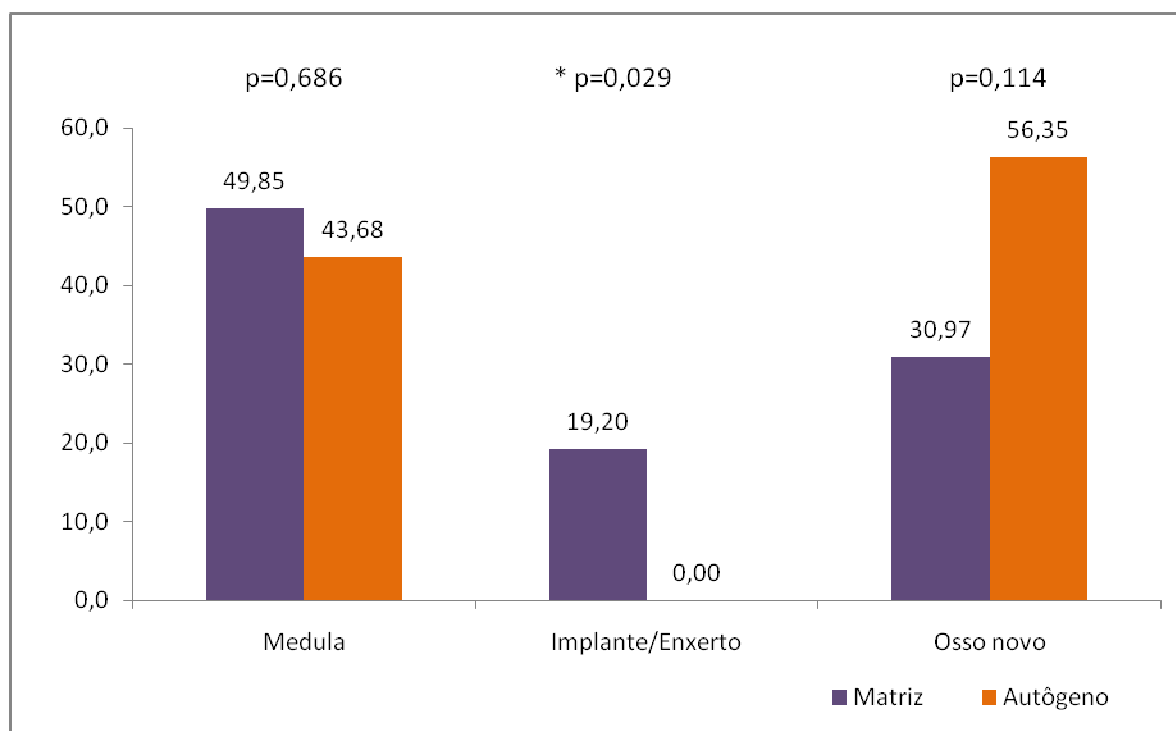


Gráfico 4. Comparação percentual da média dos tecidos entre os grupos matriz óssea bovina e enxerto autólogo aos 60 dias.

Foi observada diferença significativa entre a permanência do tecido implantado (matriz óssea bovina) e enxerto autólogo, demonstrado pela permanência do primeiro no período de 60 dias. Este fato deve-se a lenta reabsorção da matriz óssea bovina, como observado na análise qualitativa.

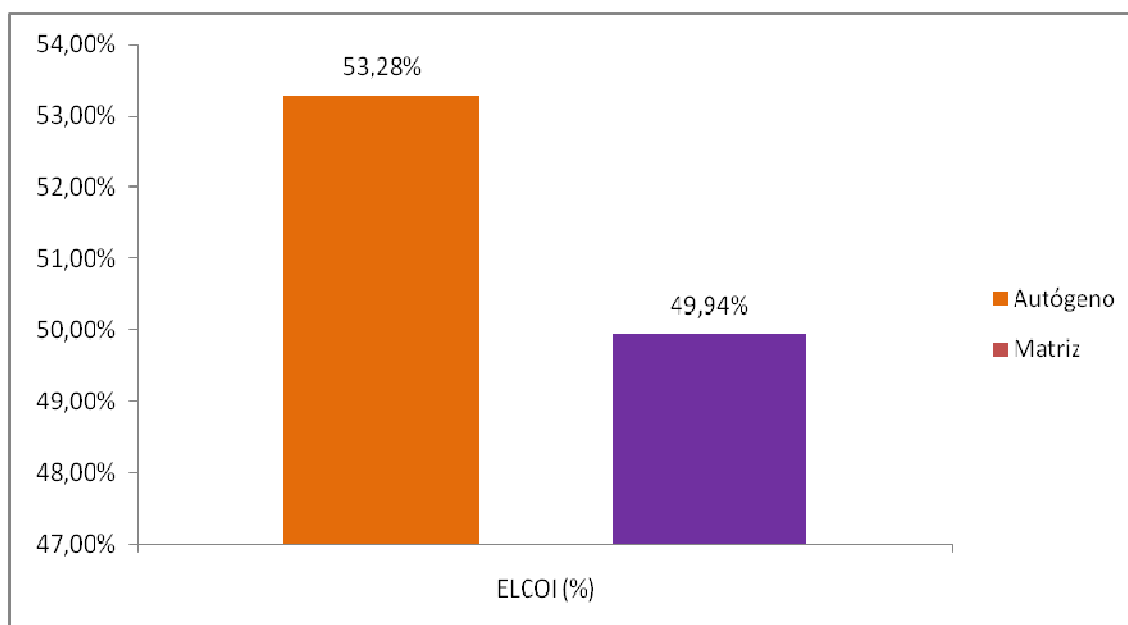


Gráfico 5: Comparação percentual da média da extensão linear osso implante (ELCOI) entre os grupos matriz e autógeno aos 60 dias.

Não foi observada diferença significativa entre a área de extensão linear osso implante, (representa a área de contato entre osso e implante) nos grupos tratados por matriz óssea bovina desmineralizada e enxerto ósseo autógeno.

6 DISCUSSÃO

A instalação de implantes no interior de defeitos ósseos muitas vezes resulta em defeitos entre o implante e as paredes do osso. Na tentativa de aperfeiçoar a osteointegração, substitutos ósseos sintéticos, membranas, enxerto ósseos, e várias combinações destes biomateriais, tem sido utilizada para aumentar a formação óssea destes defeitos. (KNOX, 1991). A necessidade de reconstrução levou ao desenvolvimento de diferentes técnicas de obtenção e a diversos tipos de substitutos ósseos, dentre eles os enxertos autógenos, alógenos, xenógenos e aloplásticos (OLSEN et al. 2005). No início de 1990 MELLONING et al, propuseram o uso de enxerto alógeno desmineralizado para a regeneração óssea ao redor de implantes dentais.

A matriz óssea desmineralizada é caracterizada por apresentar potencial osteocondutivo e osteoindutivo, como demonstrado pela formação óssea quando implantado no espaço intramuscular ou subcutâneo de animais (URIST, 1965; ZANG et al 1997; GARCIA JÚNIOR, I R, 1997; KIM et al 2009). Entretanto, há controvérsias sobre as propriedades de osteoindução da matriz óssea desmineralizada, uma vez que outros estudos mostram resultados muito variados (FONTANA et al, 2008).

GARCIA JÚNIOR (1997) analisou histologicamente a utilização de implantes homogêneos de matriz óssea desmineralizada no espaço subcutâneo dorsal e alvéolo dental em ratos e concluiu que sua presença não atrasou o processo de reparo alveolar e no espaço subcutâneo estimulou osteoindução assim como proliferação conjuntiva. Em nosso estudo a matriz óssea bovina desmineralizada

implantada no tecido subcutâneo dorsal dos coelhos apresentou características de biocompatibilidade e não induziu reação inflamatória intensa, entretanto, não estimulou a neoformação óssea local. O resultado obtido no presente estudo pode sugerir que a variação da quantidade e qualidade dos fatores osseoindutores, através das proteínas morfogenéticas, dos enxertos de matriz óssea bovina processado assim como a sua fonte heteróloga, podem alterar a capacidade de osseointegração local.

A utilização da tíbia de coelhos para avaliar o reparo ao redor de implantes de diferentes tipos tem sido recorrente na literatura, com variações quanto à área receptora. O implante pode ser instalado na articulação do joelho e metáfise tibial (SENNERBY et al.1992), na porção medial-proximal da tíbia (CORDIOLLI et al, 2000), dentre outros sítios descritos em vários trabalhos que avaliaram a osseointegração de diferentes tipos de implantes. Neste estudo, foi definida a utilização da região medial direita da tíbia do coelho como área receptora, considerando o fato desta área estar distante do centro de crescimento localizada na metáfise tibial. Observou-se que em algumas amostras o material, seja ele o implante de matriz óssea bovina ou o enxerto autógeno, quando inserido no defeito ósseo periimplantar parte se deslocou apicalmente. Este fato pode ser explicado pela morfologia e pela falta de sustentabilidade da região medular da tíbia dos coelhos, que são formados por quase 95% de gordura. Observou-se, ainda que o restabelecimento da cortical superior difere na formação de osso maduro na região medular de ambos os grupos estudados em nossa pesquisa, mesmo aos 60 dias

pós-operatórios. Como este fato era esperado, a proposta deste estudo foi avaliar apenas a área cortical do defeito periimplantar experimental.

Em relação ao processo de neoformação óssea periimplantar observa-se diferença quando comparado o grupo de osso autógeno com matriz bovina desmineralizada no período de 15 e 60 dias, e no período de 15 dias houve diferença estatisticamente significativa entre a formação de novo osso quando comparado o grupo de osso autógeno ao grupo matriz, porém esta diferença não progrediu no fim do período de 60 dias. Este fato provavelmente ocorre devido a propriedade osteogênica do osso autógeno. Este dado é compatível com o relato da literatura que mostra o osso autógeno como padrão ouro para neoformação óssea (ALBREKTSSON T et al, 1986; BUSER D, WEBER HP, BRAGGER U, BALSIGER C, 1991; DEPORTER DA et al, 1996). Em relação a absorção do material enxertado, houve diferença significativa entre os grupos no período de 60 dias, ocorrendo absorção e/ou substituição total do osso autógeno colocado ao redor dos implantes, enquanto no grupo matriz, a permanência foi em média de 19,20%. Nossos resultados estão de acordo com outros estudos (PIATELLI et al, 1998) que avaliaram áreas enxertadas com matriz óssea bovina desmineralizada em defeitos de rebordo alveolar em humanos, identificando índice de 30% de osso neoformado; 30% de matriz óssea residual e 40% de espaços medulares após 06 meses de enxertia. Em dois estudos distintos de YILDIRIM et al (2000 e 2001), comparando-se os resultados histomorfométricos após 6-7 meses de enxertia com matriz óssea bovina desmineralizada, os autores identificaram 14,7% e 18,9% de novo osso formado; enquanto 29,7% e 29,6% de enxerto residual e 55,6% e 51,5% de medula.

NORTON et al, em 2003, identificaram em um estudo em humanos uma taxa de 80% de enxerto residual, pobre formação de osso novo (10%) que, segundo os autores, pode esta relacionado ao processo inflamatório periimplantar desenvolvido. Estes resultados indicam que, devido às propriedades não absorptivas da matriz óssea bovina desmineralizada, este substituto ósseo parece se comportar como um implante permanente, sendo que o volume de uma mesma área enxertada por osso autógeno diminuiu ao longo dos períodos de observação.

PRIPATNATMONT et al (2009) relataram que a utilização de matriz óssea bovina tem sido amplamente utilizada como preenchimento de defeitos, porém mostram baixa taxa de absorção, sendo a completa formação óssea retardada. A presença de implantes com essa natureza pode apresentar benefícios comportando-se como um “carreador” de tecido ósseo em defeitos críticos e com a qualidade de absorção e substituição presentes, fato que observado em nosso estudo.

Devido à morfologia do alvéolo dental pós-extração, freqüentemente verifica-se dimensões maiores que o diâmetro de um implante, formando um espaço entre a região cervical do implante e o tecido ósseo. Neste estudo, confeccionou-se defeitos cujo diâmetro cervical era no mínimo de 1,9 mm maior que o diâmetro do implante, simulando a situação encontrada na clínica. Vários tipos de substitutos ósseos têm sido utilizados para o tratamento desses defeitos periimplantares. O material ideal deveria apresentar propriedades de osteoindução, osteocondução e osteogênese, além de produzir um suporte para condições ideais de crescimento de vasos, células com potencial osteogênicos e não induzir rejeição imunológica. Estas características são preenchidas pelos enxertos autógenos.

ABUSHAHBA et al (2008) demonstraram um estudo no qual osso autógeno e osso bovino desmineralizado, utilizados para preencher defeitos em defeitos de 1,35 de largura e 5 mm de profundidade desempenharam um papel importante de preenchimento do defeito ósseo e na osteointegração local, mostrando melhor resultado que nos casos onde os implantes foram colocados convencionalmente, sem defeito ósseo de diâmetro maior que a plataforma, ou nos sítios onde havia perda óssea e enxertos não foram utilizados. Este resultado estão de acordo com AKIMOTO et al, 1999.

CARLSSON et al (1998) em estudo de defeitos experimentais de tíbias de coelhos, com 0,35 mm de largura, com uso de matriz óssea bovina desmineralizada como material de enxerto ósseo, produziu resultado clínico similar ao osso autógeno. Este resultado esta de acordo com McMILLIAN et al(2000), porém em desacordo com KOLONIDIS (2003). Em nosso estudo, observamos que ao fim de 60 dias, ambos os grupos estudados se apresentavam clinicamente osseointegrados, porém houve diferença significativa na quantidade de osso neoformado entre os grupos. Se considerarmos que o enxerto de matriz óssea bovina desmineralizado foi realizado em leito receptor com osteogênese ativa, não podemos concluir neste estudo que a matriz tenha estimulado a neoformação óssea local, até mesmo por que o seu comportamento no subcutâneo não demonstrou atividade osteogênica. Quando realizamos implantes de biomateriais ou tecidos preparados, espera-se que ocorra aceitação e incorporação fisiológica destes implantes, no intuito de restabelecer a forma e a função destas áreas. Observamos no presente estudo que houve uma boa aceitação pelo leito receptor sem processos inflamatórios intensos, assim como os

resultados obtidos por OKAMOTO et al em 2001, porém a matriz óssea bovina desmineralizada atuou como uma barreira para a neoformação óssea local, apresentando processo de substituição lenta porém desempenhou o papel de proteção e preenchimento periimplantar.

Recentemente, BOTTICELLI et al (2005) e CADAROPOLI (2005), observaram que tanto a utilização de matriz óssea desmineralizada como de osso autógeno proporcionou melhor contato osso implante em defeitos de 1,35 mm adjacentes aos implantes, sendo que diferença significativa foi observada quando utilizado material para enxertia e comparado aos defeitos sem enxerto local. Em nosso estudo, observamos que o percentual da média de extensão linear de contato osso/implante não demonstrou diferença significativa entre os grupos estudados. Clinicamente, aos 60 dias, houve a osseointegração clínica dos implantes em ambos os grupos, comprovada pela avaliação da estabilidade, mesmo com taxas diferentes de neoformação óssea na região cervical.

7 CONCLUSÕES

Avaliando os dados obtidos nesta pesquisa concluimos que:

O processo de reparo periimplantar se deu com maior neoformação óssea no grupo representado pelo enxerto de osso autógeno.

A matriz óssea bovina desmineralizada se comportou como um condutor ósseo de lenta absorção e sem produzir reação inflamatória aguda ou crônica.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abushahba, F., Renvert, S., Polyzois, I., Claffey, N. (2008) Effect Of Grafting Materials On Osseointegration Of Dental Implants Surrounded By Circumferential Bone Defects: An Experimental Study In The Dog. *Clin Oral Implan Res* **19**: 329-334.

Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B., Branemark, P.I. (1981) A 15-Year Study Of Osseointegrated Implants In The Treatment Of The Edentulous Jaw. *International Journal Oral Surgery* **10**:387-416.

Aghaloo, T. L., Moy, P. K. (2007) Which Hard Tissue Augmentation Techniques Are The Most Successful In Furnishing Bony Support For Implant Placement? *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **22**(Suppl): 49-70.

Akimoto, K., Becker, W., Persson, R., Baker, D.A., Rohrer, M.D. & O'Neal, R.B. (1999) Evaluation Of Titanium Implants Placed Into Simulated Extraction Sockets: A Study In Dogs. *Int J Oral Maxillofacial Implants* **14**: 351-360.

Albrektsson, T., Branemark, P.I., Hansson, A., Liströ, J. (1981) Osteointegrated Titanium Implants. Requirements For Ensuring A Long-Lasting Direct Bone Anchorage In Man. *Acta Orthop Scand* **52**: 155-170.

Albrektsson, T., Zarb, G., Worthington, P., Eriksson, A.R. (1986) The Long-Term Efficacy Of Currently Used Dental Implants: A Review And Proposed Criteria Of Success. *Int J Oral Maxillofac Implants* **1**:11-25.

Albrektsson, T., Zarb, G. (1993) A Current Interpretations Of The Osseointegrated Response: Clinical Significance. *Int J Prosthodont* **6**:95-105,

Albrektsson, T., Lekholm, U. (1989) Osseointegration: Current State Of The Art. *Dental Clinics North America Review* **33**:537-54.

Becker, W., Becker, B.E. & Caffesse, R. (1994) A Comparison Of Demineralized Freeze- Dried Bone And Autologous Bone To Induce Bone Formation In Human Extraction Sockets. *Journal Of Periodontology* **65**: 1128-1133.

Botticelli, D., Berglundh, T., Persson, L. G., Lindle, J. (2005) Bone Regeneration At Implants With Turned Or Roug Surfaces In Self-Contained Defects. An Experimental Study In The Dog. *J Clinical Periodontology* **32**:448-455.

Braile, D.M (1982) Bioprótese cardíaca de pericárdio bovino. *Arq. Bras. Cardiol* **39**: 247-257.

Branemark, P.I., Adell, R., Breine, U., Hansson, B.O., Lindstrom, J., Ohlsson, A. (1969) Intra-Osseous Anchorage Of Dental Prostheses. I. Experimental Studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* **3**:81-100.

Branemark, P.I., Hansson, B. O., Adell, R., Breine, U., Lindstrom, J., Hallen, O., Ohman A. (1977) Osseointegrated Implants In The Treatment Of The Edentulous Jaw. Experience From A 10-Year Period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* **16**:1-132.

Branemark, P.I. Introduction To Osseointegration. In: Branemark, P. I., Zarb, G. A., Albrektsson, T. (1985) Tissue- Integrated Prostheses: Osseointegration In Clinical Dentistry. Chicago: Quintessence **9** 41-2, 47-9.

Buser, D., Weber, H.P., Bragger, U., Balsiger, C. (1991) Tissue Integration Of One-Stage Iti Implants: 3-Year Results Of A Longitudinal Study With Hollowc Ylinder And Hollow-Sc Rew Implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* **6**:405-12

Cardaropoli, G., Araujo, M., Hayacibara, R., Sukekava, F., Lindle, J. (2005) Healing Of Extraction Sockets And Surgically Produced-Augmented And Non-Augmented Defects In The Alveolar Ridge. An Experimental Study In The Dog. *J Clinical Periodontology* **32**: 435-440.

Carlsson, L., Rostlund, T., Albrektsson, B. & Albrektesson, T. (1988) Implante fixation improved by close fit. Cylindrical implant-bone interface studied in rabbits. *Clinical Oral Implants Research* **9**:303-312.

Cochran, D.I., Senk, R.K., Lussi, A., Higginbottom, F.L., Buser, D. (1998) Bone Response To Unloaded And Loaded Titanium Implants With A Sandblasted And Acid-Etched Surface: A Histometric Study In The Canine Mandible. *J Biomed Mater Res* **40**:1-11.

Coradazzi, L. F., Garcia Junior, I. R., Manfrin, T. M. (2007) Evaluation Of Autogenous Bone Graft, Particulate Or Collected During Osteotomy With Implant Burs: Histologic And Histomorphometric Analysis In Rabbits. *International Journal Oral And Max Fac Implants* **22**:201-07.

Cordioli, G., Majzoub, Z., Piatelli, A. & Scarano, A. (2000) Removal Torque And Histomorphometric Investigation Of 4 Different Titanium Surfaces: An Experimental Study In The Rabbit Tibia. *The International Journal Of Oral And Maxillofacial Implants* **15**: 668-674.

Deporter, D.A., Watson, P.A., Pilliar, R.M., Pharoah, M., Smith, D.C., Chipman, M., Locker, D., Rydall, A. (1996) A Prospective Clinical Study In Humans Of An Endosseous Dental Implant Partially Covered With A Powder-Sintered Porous Coating: 3- To 4-Year Results. *Int J Oral Maxillofac Implants* **11**:87-95.

Feighan, J.E., Davy, D., Prewett, A.B., Stevenson, S. (1996) Induction Of Bone By A Desmineralized Bone Matrix Gel: Study In A Rat Femoral Defect Model. *J Orthop. Res* **13**:881-91.

Fontana, F., Santoro, F., Maionara, C., Lezzi, G., Piattelli, A., Simion, M. (2008) Clinical And Histological Evaluation Of Allogeneic Bone Matrix Versus Autogenous Bone Chips Associated With Titanium-Reinforce E-PTFE Membrane For Vertical Ridge Augmentation: A Prospective Study *Int J Oral Maxillofac Implants* **23**:1003-12.

Garcia Júnior, I R. (1997) Implante Homógeno De Matriz Óssea Desmineralizada No Espaço Subcutâneo Dorsal E Alvéolo Dental. Estudo Histológico Em Ratos. Araçatuba, 101p. *Dissertação De Mestrado – Faculdade De Odontologia Universidade Estadual Paulista*.

Garg, A.K. (1998) The Use Of A Bone Harvest System For Autogenous Bone Grafts During Implant Procedures. *Dent Implantol Update* **9**:81-3.

Gotfredsen, K., Warrer, K., Hjorting-Hansen & Karring, T. (1991) Effect Of Membranes And Hydroxyapatite On Healing In Bone Defects Around Titanium Implants: An Experimental Study In Monkeys. *Clinical Oral Implants Research* **2**: 172-178.

Habal, M. B., Reddi, A. H. (1987) Na Update On Bone Grafting And Bone Substitutes In Reconstructive Surgery. *Adv Plast Reconst Surg* **3**: 210-19.

Hall, E. E., Meffert, R. M., Hermann, J. S., Melloning, J. T. (1999) Comparition of bioactive glass to desmineralized freeze-dried bone allograft in the treatment of intrabony defects around implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology* **70**:526-535.

Hopp, S. G., Dahner, L. E., Gilbert, J. A. (1989) A Study Of The Mechanical Strength Of Long Defects Treated Verius Bone Autograft Substitute:An Experimental Investigation In The Rabbit. *J Orthop Res* **7**:579-584.

Joyce, ME. (1990) Transforming Growth Factor B And The Initiation Of Condrogenesis And Osteogenesis In The Rat Femur. *J Cell Biol* **10**:2195-207.

Kim, D. M., Nevins, M. L., Camelo, M., Camelo, J. M. B., Schupbach, P., Harantty, J. J., Uzel, N. G., Nevins, M. (2009) The Efficacy Of Desmineralized Bone Matrix And Cancellous Bone Chip For Sinus Augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*. **29**:415-423.

Kolonidis, S.G., Renvert, S., Harmerle, C. H., Lang, N. P., Harris, D., Claffey, N. (2003) Osteointegration on implant surface previously contaminated with plaque. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **14**:373-380.

Knox, R., Caudill, R. & Meffert, R. (1991) Histologic Evaluation Of Dental Endosseous Implants Placed In Surgically Created Extraction Defects. *International J Periodontics And Restaurative Dentistry* **2**: 364-375.

Lekholm U, Wannfors K, Isaksson S, Adielsson B. (1999) Oral Implants In Combination With Bone Grafts. A 3-Year Retrospective Multicenter Study Using The Branemark Implant System. *International Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery* **28**: 181-187.

Mcmillan, P. J., Riggs, M. L., Bogle, G. C. & Crigger M. (2000) Variables That Influence The Relationship Betwing Osseointegration And Bone Adjacent To An Implant. *International Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery* **15**: 654-661.

Mellonig, J. T., & Bowers, G. (1990) Regeneration Bone In Clinical Periodontics. *Journal Of The American Dental Association* **121**:497-502.

Meredith N. (1998) Assessment Of Implant Stability As A Prognostic Determinant. *Int J Prosthodont* **11**:491-501

Moore, T.M., Artal, R., Arenas, M., Gendler, E. (1990) Influence Of Postmortem Time And Temperature On Osteoinductive Activity Of Desmineralized Microperforated Ethylene Oxide-Sterized Syngeneic Bone Implant In The Rat. *Clin Orthop* **259**:239-44.

Norton, M. R., Odell, E. D., Thompson, I. D., Cook, R. J. (2003) Efficacy Of Bovine Mineral For Alveolar Augmentation: A Human Histologic Study. *Clin Oral Impl Res* **14**:775-783.

Okamoto, T., Gabrielli, M. A. C., Oliveira, J. (1990) Autogenous Tranplantation Of Rib Cartilage Preserved In Glicerol After Removel Of The Pericondrium To The Malar Processo Of Rats. *J Nihon Univ Sch Dent* **32**:116-126.

Okamoto, T. (1994) Implante Homógeno De Mariz Óssea Conservada Em Glicerina A 98% Associada Ou Não A Hidroxiapatita. Estudo Histomorfológicos Em Ratos. *Rev. Odontol. Unesp* **22**, **23**:213-19.

Okamoto, T. (1996) Implante De Osso Anorgânico Em Cavidades Ósseas: Estudo Histológico Em Ratos. *Rev. Odontol. Lins* **9**:12-18.

Okamoto, T., Garcia Júnior, I. R., Hirata, E., Carvalho, J. C., Miziaria, F. V. (2001) Implante De Matriz Óssea Em Tíbia De Ratos. Estudo Comparativo De Materiais Obtidos De Dois Processos De Desmineralização. *Revista Brasileira De Cirurgia E Implantodontia* **31**, 8: 223-27.

Olsen, S., Fergusson, S.J., Sigrist, C., Fritz, W.R., Notte, L.P., Hallermann, W. & Caversaccio, M. (2005) A Novel Computational Method For Real-Time Preoperative Assessment Of Primary Dental Implant Stability. *Clinical Oral Implants Research* **16**: 53-59.

Petrungaro, P.S., Amar, S. (2005) Localized Ridge Augmentation With Allogenic Block Grafts Prior To Implant Placement: Case Reports And Histologic Evaluations. *Implant Dent* **14**:139-48.

Piattelli, A., Scarano, A., Piattelli, M. (1998) Microscopic And Histochemical Evaluation Of Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft In Association With Implant Placement: A Case Report. *Int J Periodontics Restorative Dent* **18**:355-61.

Piattelli, A., Podda, G. & Scarano, A. (1997) Clinical And Histological Results In Alveolar Ridge Enlargement Using Coralline Calcium Carbonate. *Biomaterials* **18**:

Pripatnanont, P., Nuntanaranont, T. B., Vongvatcharanon, S. (2009) Proportion Of Desproteinized Bovine And Autogenous Bone Affects Bone Formation In The Treatment Of Calvarial Defects In Rabbits. *J Oral Max Fac Surg* **38**:356-62.

Quattlebaum, J., Mellonig, J.T. & Hansel, N. (1998) Antigenicity Of Freeze-Dried Cortical Bone Allograft In Human Periodontal Osseous Defects. *Journal Of Periodontology* **59**: 394-397.

Raghoobar, G.M., Timmenga, N.M., Reintsema, H., Stegenga, B. & Vissink, A. (2001) Maxillary Bone Grafting For Insertion Of Endosseous Implants: Results After 12-24 Months. *Clinical Oral Implants Research* **12**: 279-286.

Reddi, A. H., Huggins, C. (1972) Biochemical Sequences In The Transformation Of Normal Fibroblast In Adolescent Rats. *Proc. Natl Sci. Usa* **69**:1601-05.

Rissolo, A. R., Bennett, J. (1998) Bone Grafting And Its Essential Role In Implant Dentistry. *Dent. Clin. North Am* **42**, N.1, P. 91-116.

Rutheford, R.B., Samphat, T.K., Rueger, D.C. & Taylor, T.D. (1992) Use Of Bovine Osteogenic Protein To Promote Rapid Osseointegration Of Endosseous Dental Implants. *The International Journal Of Oral And Maxillofacial Implants* **7**:297-301.

Schnitman PA, Wohrle PS, Rubenstein JE. (1990) Immediate Fixed Interim Prostheses Supported By Two-Stage Threaded Implants Methodology And Results. *J Oral Implantol*. **16**:96-105.

Senn N. (1989) On The Healing Of Aseptic Bone Cavities By Implantation Of Antiseptic Descalcified Bone. *Pam J Med Sci* **98**: 345-67.

Sennerby, L., Thomsen, P. & Ericson, L.E. A. (1992) Morphometric And Biomechanic Comparision Of Titanium Implants Inserted In Rabbit Cortical And 75 Cancellous Bone. *The International Journal Of Oral And Maxillofacial Implants* **7**:62-71.

Sjöström, M., Lundgren, S., Nilson, H. & Sennerby, L. (2005) Monitoring Of Implant Stability In Grafted Bone Using Resonance Frequency Analysis. A Clinical Study From Implant Placement To 6 Months Of Loading. *The International Journal Of Oral Maxillofacial Surgery* **34**: 45-51.

Soares, J.F., Siqueira, A.L. (1999) Introdução À Estatística Médica. 1ª Ed. Belo Horizonte: Departamento De Estatística. UFMG.

Soballe, K., Hansen, E.S., B-Rasmussen, H., Jorgensen, P.H. & Bunger, C. (1992) Tissue Ingrowth Into Titanium And Hydroxyapatite-Coated Implants During Stable And Unstable Mechanical Conditions. *Journal Of Orthopaedic Research* **10**: 285-299.

Taga E M. (1996) Biomateriais Para Uso Em Clínica Médico-Odontológica. *Bcj* **3**(1):59-70.

Trejo, P.M., Weltman, R. & Cafesse, R. (2000) Treatment Of Intraosseous Defects With Bioabsorbable Barriers Alone Or In Combination With Decalcified Freeze-Dried Bone Allograft: A Randomized Clinical Trial. *Journal Of Periodontology* **71**:1852-1861.

Urist, M. R., Mikulski, A., Boyd, S. D. (1975) A Chemosterilized Antin Extrated Autodigested Alloimplant For Bone Banks. *Arch Surg* **110**:416-28.

Urist, M. R., Strates, B. S. (1971) Bone Morphogenetic Protein. *J Dent Res* **50**:1392-406.

Urist, M R. (1965) Bone Formation By Osteoinduction. *Science* **150**:893-9.

Urist, M R. (1967) The Bone Induction Principle. *Clin Orthop Related Res* **53**:243-283.

Van Putie, K., Urist, M. R. (1966) Osteogenensisin The Inteior Of Intramuscular Implants Of Descalcified Bone Matrix. *Clin Orthop* **43**: 257-70.

Yildirim, M., Spiekermann, H., Biesterfeld, S., Edelhoff, D. (2000) Maxillary Sinus Augmentation Using Xenogenic Bone Substitute Material Bio-Oss In Combination With Venous Blood. A Histologic And Histomorphometric Study In Humans. *Clin Oral Implants Research* **2**:217-229.

Yildirim, M., Spiekermann, H., Handt, S., Edelhoff, D. (2001) Maxillary Sinus Augmentation With The Xenogenic Bio-Oss And Autogenous Intraoral Bone For Qualitative Improvement Of The Implant Site: A Histologic And Histomorphometric Clinical Study In Humans. *J Oral And Maxillofac Implan* **16**: 23-33.

Young, C., Sandstedt, P., Skoglund, A. (1999) A Comparative Study Of Anorganic Xenogenic Bone And Autogenous Bone Implants For Bone Regeneration In Rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* **14**:72-6.

Zang, M., Powers, R. M. Jr., Wolfenbarger, L. Jr. (1997) A Quantitative Assessment Of Osteoinductive Oh Human Desmineralized Bone Matrix. *J Periodontol* **68**:1076-84.

TABELAS

Tabela 1. Estatística descritiva de extensão entre tecido ósseo **neoformado**, enxerto de matriz e medula do grupo Matriz nos tempos de 15 e 60 dias.

Estatística	15 dias			60 dias		
	Medula	Matriz	Osso novo	Medula	Matriz	Osso novo
Média	203,5	159,8	44,5	225,5	89,5	145,5
D. Padrão	104,7	139,0	39,4	78,8	60,4	104,7
Mediana	214,5	124,0	41,0	232,5	95,0	142,5
Mínimo	80,0	33,0	0,0	131,0	25,0	48,0
Máximo	305,0	358,0	96,0	306,0	143,0	249,0

Tabela 2. Estatística descritiva de extensão entre tecido ósseo neoformado, medula e enxerto de osso autógeno do grupo Autógeno nos tempos de 15 e 60 dias.

Estatística	15 dias			60 dias		
	Medula	Enxerto	Osso novo	Medula	Enxerto	Osso novo
Média	80,8	50,2	131,0	176,5	0,0	224,5
D. Padrão	12,6	28,4	35,1	51,6	0,0	38,8
Mediana	80,0	50,0	128,0	179,0	0,0	222,0
Mínimo	65,0	14,0	86,0	111,0	0,0	185,0
Máximo	100,0	88,0	181,0	237,0	0,0	269,0

Tabela 3. Estatística descritiva (em percentual) de extensão entre os tempos do grupo Matriz nos tempos de 15 e 60 dias.

Estatística	15 dias			60 dias		
	Medula	Matriz	Osso novo	Medula	Matriz	Osso novo
Média	50,80	34,72	14,47	49,85	19,20	30,97
D. Padrão	19,80	18,53	13,34	16,73	13,13	21,64
Mediana	54,35	33,90	13,20	45,90	16,80	26,25
Mínimo	26,20	14,5	0,00	34,70	6,60	12,63
Máximo	68,30	56,60	31,48	72,90	36,60	58,73

Tabela 4. Estatística descritiva (em percentual) de extensão entre os tempos do grupo Autógeno nos tempos de 15 e 60 dias.

Estatística	15 dias			60 dias		
	Medula	Enxerto	Osso novo	Medula	Enxerto	Osso novo
Média	31,82	18,36	49,80	43,68	0,00	56,35
D. Padrão	7,72	8,86	6,55	10,73	0,00	10,72
Mediana	27,10	18,00	47,15	43,60	0,00	56,41
Mínimo	26,10	7,90	45,86	31,30	0,00	43,84
Máximo	43,50	28,0	61,36	56,20	0,00	68,73

ESTADÍSTICA

Test Statistics^b

	meduap	matrizp	ossop
Mann-Whitney U	3,000	,000	7,000
Wilcoxon W	18,000	10,000	22,000
Z	-1,715	-2,558	-,735
Asymp. Sig. (2-tailed)	,086	,011	,462
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,111 ^a	,016 ^a	,556 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: tempo

Test Statistics^b

	meduap	matrizp	ossop
Mann-Whitney U	8,000	3,000	4,000
Wilcoxon W	18,000	13,000	14,000
Z	,000	-1,443	-1,155
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000	,149	,248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a	,200 ^a	,343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: tempo

One Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in Notebook 1

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
------------	---	---------	------	---------	-----

Col 2	15	11	0,533	0,142	0,0708
-------	----	----	-------	-------	--------

Col 3	15	7	0,520	0,0883	0,0312
-------	----	---	-------	--------	--------

Col 4	15	11	0,397	0,147	0,0735
-------	----	----	-------	-------	--------

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
---------------------	----	----	----	---	---

Between Groups	2	0,0486	0,0243	1,760	0,211
----------------	---	--------	--------	-------	-------

Residual	13	0,180	0,0138		
----------	----	-------	--------	--	--

Total	15	0,228			
-------	----	-------	--	--	--

The differences in the mean values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0,211$).

Power of performed test with $\alpha = 0,050$: 0,147

The power of the performed test (0,147) is below the desired power of 0,800.

Less than desired power indicates you are more likely to not detect a difference when one actually exists. Be cautious in over-interpreting the lack of difference found here.

Mann-Whitney Rank Sum Test

Data source: Data 1 in Notebook 1

t-test segunda-feira, novembro 09, 2009, 16:12:08

Data source: Data 1 in Notebook 1

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 2	15	11	0,533	0,142	0,0708
Col 3	15	7	0,520	0,0883	0,0312
Difference			0,0129		

$t = 0,197$ with 10 degrees of freedom. ($P = 0,848$)

95 percent confidence interval for difference of means: -0,133 to 0,159

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups ($P = 0,848$).

Power of performed test with $\alpha = 0,050$: 0,050

ANEXOS

Anexo A

Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)



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



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE OSTEOINTEGRAÇÃO UTILIZANDO MATRIZ ÓSSEA HETERÓGENA E OSSO AUTÓGENO. ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMÉTRICA EM TÍBIAS DE COELHOS"** sob responsabilidade do **Prof Dr Idelmo Rangel Garcia Junior** e colaboradores **Martha Alayde Alcântara Salim e Profa. Ass. Dra. Roberta Okamoto**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA número de protocolo número 006929-2009.

Araçatuba, 14 de outubro de 2009

Prof.ª Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEA-FOA/UNESP

Anexo B

Normas da Revista *Clinical Oral Implants Research*

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

Clinical Oral Implants Research publishes:

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

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

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

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

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

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

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

IDELINES

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

2.1. Authorship and Acknowledgements

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

version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

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

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

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

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editor reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

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

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material.

Clinical Oral Implants Research encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov,

<http://clinicaltrials-dev.ifpma.org/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest and Source of Funding

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

2.5 Appeal of Decision

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

2.6 Permissions

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

2.7 Copyright Assignment

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

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

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the exclusive licence to publish their paper to Blackwell Publishing. Assignment of the exclusive licence is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless licence has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Exclusive Licence Form must be sent to the address or email address specified on the Exclusive Licence Form, before any manuscript can be published. Authors must send the completed Exclusive Licence Form upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Exclusive Licence form at submission. Faxing or e-mailing the form does not meet requirements.

For questions concerning copyright, please visit [Blackwell Publishing's Copyright FAQ](#)

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

3.1. Getting Started

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

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

3.2. Submitting Your Manuscript

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

- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the "Submit" button when you are

finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

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

3.4. Blinded Review

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

3.5. Suggest a Reviewer

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

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

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

3.8. Manuscript Status

You can access Manuscript Central any time to check your "Corresponding Author Center" for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

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

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

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

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

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

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

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

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

5.1. Page Charge

Articles exceeding 10 pages (including figures, tables and references) are subject to a charge of USD\$160 per additional page. One published page equates to approximately 3 manuscript pages or 650 words (excluding figures and tables).

5.2. Format

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

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

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

5.2. Structure

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5.3. References

References should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988). Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977).

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

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

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

(i) for journal references:

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

(ii) for book references:

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

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

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

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

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

f) The journal title should be written in full, italicised (single underlining on typescript), and followed by volume number in bold type (double underlining on typescript), and page numbers.

Examples:

Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* 4: 177-186.

Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978) Some aspects of the intracellular breakdown of exogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. *Protein turnover and lysosome function*, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: www.endnote.com/support/enstyles.asp . Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

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

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

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

Further information can be obtained at Blackwell Publishing's guidelines for figures:

www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp.

Check your electronic artwork before submitting it: www.blackwellpublishing.com/bauthor/eachecklist.asp

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

6. AFTER ACCEPTANCE

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

6.1 Proof Corrections

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

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

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

6.2 Early Online Publication Prior to Print

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

6.3 Author Services

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

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Blackwell Publishing Author Services](#)

6.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.5 Offprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: [Offprint.Cosprinters](#). If you have queries about offprints please e-mail offprint@cosprinters.com

6.6 Author Services

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Blackwell Publishing Author Services](#)

6.7 Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate

Anexo C

Figuras complementares



FIGURA 01: Coelho



FIGURA 02: Antissepsia



FIGURA 03: Campo cirúrgico preparado

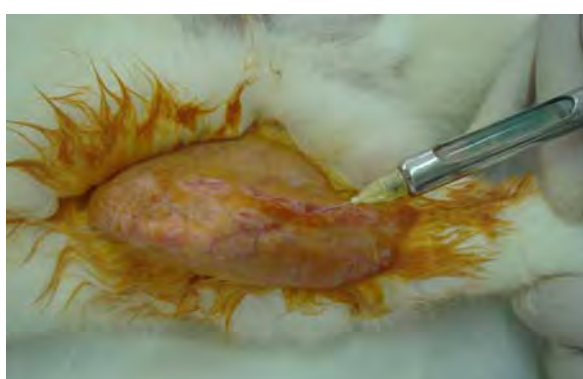


FIGURA 04: Anestesia



FIGURA 04: Incisão



FIGURA 06: Descolamento periosteal



FIGURA 07: Tíbia



FIGURA 08: Seqüência de brocas

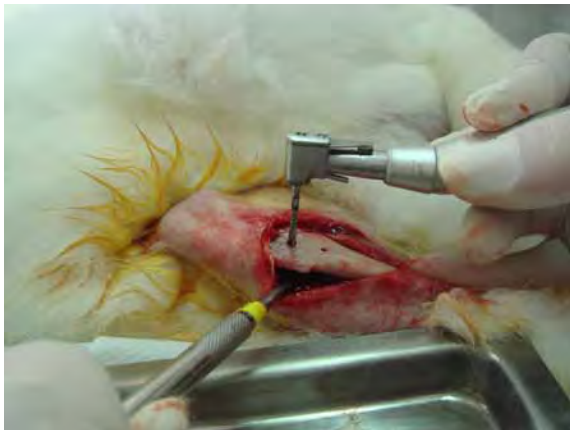


FIGURA 09: Perfuração broca 2,0 mm

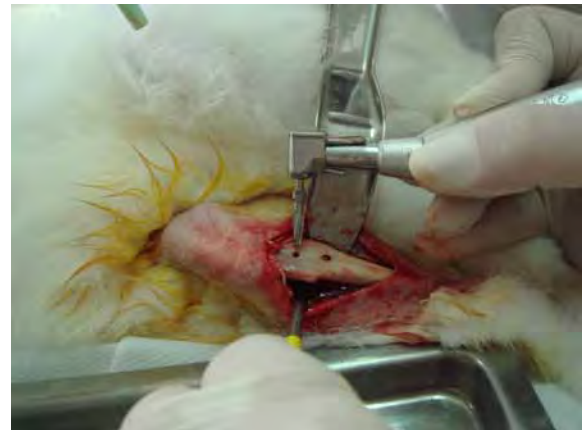


FIGURA 10: Perfuração broca 3,0 mm



FIGURA 11: Perfurações realizadas



FIGURA 12: Instalação do implante



FIGURA 13: Implantes instalados



FIGURA 14: Confecção do defeito ósseo cervical com trefina

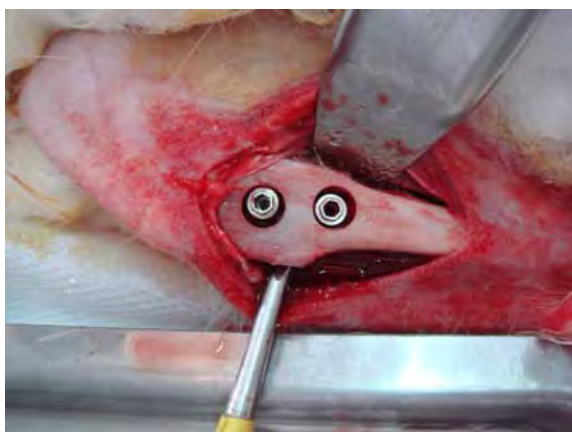


FIGURA 15: defeitos cervicais



FIGURA 16: Coleta do osso autógeno



FIGURA 17: Matriz óssea bovina desmineralizada



FIGURA 18: Matriz óssea bovina desmineralizada



FIGURA 18:Álcoois e corantes para coloração HE.



FIGURA 19: Bloco ósseo (tibia) contendo o implante incluído em resina Metil Metacrilato.



FIGURA 20: Desgaste da peça incluída em resina em aparelho abrasivo Exakt®



FIGUR 21: Adesão do corpo de prova na lâmina no aparelho do Sistema Exakt®.



FIGURA 22: Corte da peça em aparelho do Sistema Exakt®.



FIGURA 23: Microscópio acoplado ao computador onde foram capturadas as imagens de todas as lâminas