

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**ERICA HOHLENWERGER FRAGUAS**

**ESTUDO COMPARATIVO DA ESTABILIDADE  
DE IMPLANTES IMEDIATOS E TARDIOS INSTALADOS EM  
ENXERTOS ALÓGENOS REALIZADOS EM TÍBIAS DE COELHOS**

**SÃO PAULO  
2009**

**ERICA HOHLENWERGER FRAGUAS**

**ESTUDO COMPARATIVO DA ESTABILIDADE  
DE IMPLANTES IMEDIATOS E TARDIOS INSTALADOS EM  
ENXERTOS ALÓGENOS REALIZADOS EM TÍBIAS DE COELHOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Implantodontia, do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Santo Amaro, sob a orientação do Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk.

**SÃO PAULO  
2009**

A **Maria e José**, meus amados pais,  
exemplos de força e dedicação a ser sempre seguido.

Pra vocês em especial dedico este trabalho,  
fruto do meu esforço e demonstração de minha capacidade.

Aos meus queridos irmãos **Maurício e Marcelo**,  
ícones de amizade e companheirismo.

A amiga irmã **Marna**,  
faltam palavras para expressar o quanto você é especial.

Esta obra, sem dúvidas, também é sua.

Meu eterno agradecimento!

Com amor, a vocês dedico esse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A **Deus e a vida** por tudo que eles me proporcionam.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk**, pessoa que admiro. Obrigada pelo incentivo e oportunidades concedidas durante o curso, pela valiosa contribuição na minha formação.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Schmitz Jahn**, amigo que se portou como um verdadeiro mestre desde o início. Seu olhar profissional, sincero e único ajudou a conduzir este trabalho.

A todos os **colegas do mestrado, em especial Nelson e Guilherme**, pelos momentos de enriquecimento intelectual e pessoal. Vocês são verdadeiras pérolas.

Ao **corpo docente do curso**, em especial **Sérgio Quaresma, Fábio Gastaldo, Paulo Cosimato, Waldyr Romão, Rogério Kairalla e Carlos Eduardo Xavier dos Santos Ribeiro da Silva**, mais do que professores se tornaram inesquecíveis.

Aos professores **Dr. Ilan Weinfeld e Dr. João Ferreira dos Santos Júnior** pela contribuição neste trabalho e por serem profissionais que tenho como exemplo e pessoas que admiro muito.

Ao **Ms. Augusto Ubirajara Santos** e a todos do **Banco de Tecidos Musculoesquelético do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo** que contribuíram na coleta e processamento dos enxertos alógenos.

Ao **Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo** pela pessoa do **Prof. Dr. Flair Carrilho** que gentilmente criopreservou os aloenxertos.

Ao **Laboratório de Análises Clínicas Biesp do Hospital Oswaldo Cruz** pela realização das análises microbiológicas.

Aos **Profs. Dr. Luís Ronaldo Picosse e Dr. Renato Paulo Chopard** do Laboratório de Tecidos Mineralizados do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

A **Conexão Sistema de Próteses** pelo fornecimento do material primário utilizado nesta pesquisa.

A **Lauro Leite Soares**, pelo cuidado especial dado aos coelhos e a nós.

A **Alberto Blay**, pela simpatia, gentileza e contribuição com os aparelhos de medição utilizados nesta obra.

A **Samy Tunchel**, pessoa que tenho um enorme carinho, pelos momentos de crescimento intelectual, pessoal e profissional.

A **Débora Pallos**, amiga, orientadora, que deu uma nova cara a este trabalho. Pelo apoio com os dados estatísticos e com os resultados.

Aos queridos **Edmar Aguiar, Antônio Flávio Ricco, Cristiane Polo, Isabella Bezerril e Meire do Carmo** pelo apoio indispensável nas “coelhadas”.

Aos bons amigos que fiz nesta terra como **Valéria Rambaldi, Maria Augusta Marques, Doralice Costa Ribeiro, Família Monteiro Lobato** e a prima **Roseli** que aqui revi.

A Prof<sup>a</sup>. **Andréia Barbosa** e a todos **os funcionários do biotério** da UNISA.

Aos **meus amigos da Bahia** que souberam dosar a saudade e sempre incentivaram meu crescimento profissional e pessoal.

E a **todos** aqueles que colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho e que, involuntariamente não foram citados, meus sinceros agradecimentos.

**“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,  
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”**

**Francisco Cândido Xavier**

## RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar e comparar a estabilidade de implantes instalados nos momentos cirúrgicos imediato e tardio em enxertos alógenos frescos e congelados tipo *onlay*, em tíbias de coelhos. Para isso, utilizou-se a análise da frequência de ressonância e o torque de remoção. A calota craniana de cinco coelhos foi a área doadora dos aloenxertos. Dez coelhos, fêmeas, da raça Nova Zelândia receberam quatro aloenxertos nas mesmas dimensões, dois em cada tíbia. Os animais foram selecionados aleatoriamente e as tíbias alternadas de forma que as que receberam implantes de superfície tratada após 84 dias (12 semanas) de reparação dos aloenxertos foram denominadas de grupo 1 e as que receberam os implantes imediatamente com os enxertos foram designadas de grupo 2. Ambos os grupos foram acompanhados por 126 dias (18 semanas). Nos implantes proximais de cada grupo, avaliou-se a frequência de ressonância nos Dias 0 e 126 e nos distais, o torque de remoção no Dia 126. Nos grupos 1 e 2 foi observado um aumento dos valores da frequência de ressonância do Dia 0 ao Dia 126, sendo estatisticamente significativo tanto para o grupo 1 ( $p= 0,0368$ ) quanto para o grupo 2 ( $p= 0,0106$ ). Quando se comparou a frequência de ressonância primária, a secundária e o ganho de estabilidade entre estes dias, não houve diferença estatística entre os grupos. A análise do torque de remoção revelou diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 ( $p= 0,0341$ ). Concluiu-se que houve um aumento da estabilidade nos grupos estudados de acordo com a análise da frequência de ressonância. Os implantes instalados tardiamente em enxertos alógenos frescos e congelados apresentaram uma maior força de cisalhamento, segundo o torque de remoção.

**Descritores:** Implantes Dentários; Transplante Homólogo; Osseointegração; Bancos de Ossos.

## ABSTRACT

The aim of the study is to evaluate and compare the stability of implants installed immediately and as a delayed manner in fresh frozen onlay allografts, in the tibia of rabbits. For this purpose, analyses of the resonance frequency (ISQ) and removal torque were performed. The Calvarium of five rabbits was the donor site. Ten New Zealand female rabbits received four allografts in the same dimensions, two in each tibia. The animals were randomly selected and tibiae alternated so that the tibia that received implants after 84 days (12 weeks) of the allografts installation were called group 1 and those who received the implants immediately with the grafts were designated group 2. Both groups were followed for 126 days (18 weeks). Proximal implants in each group were evaluated by resonance frequency (ISQ) on Days 0 and 126, and the distal with removal torque in 126 Days. In groups 1 and 2 was observed an increase in the values of the resonance frequency of 0 Days to 126 Days, with statistically significant for both group 1 ( $p = 0.0368$ ) and for group 2 ( $p = 0.0106$ ). When comparing the resonance frequency of primary, secondary, and gain stability between these days, there was no statistical difference between the groups. The analysis of the removal torque showed a statistically significant difference between groups 1 and 2 ( $p = 0.0341$ ). It was concluded that there was an increase in stability in groups according for the analysis of resonance frequency. Implants installed in a delayed manner in the fresh frozen allografts showed higher shear force, according to the removal torque analysis.

**Key-words:** Dental Implants; Transplantation, Homologous; Osseointegration; Bone Banks.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1- Captação do osso alógeno .....	30
Ilustração 2- Processamento do enxerto alógeno .....	30
Ilustração 3- Blocos processados e acondicionados em invólucro.....	30
Ilustração 4- Incisão do plano cutâneo.....	33
Ilustração 5- Exposição da área receptora.....	33
Ilustração 6- Perfurações e descorticalização das tíbias do grupo 1.....	34
Ilustração 7- Perfuração do enxerto .....	34
Ilustração 8- Enxertos com parafusos de osteossíntese .....	34
Ilustração 9- Enxertos fixados na tíbia .....	34
Ilustração 10- Aspecto final da sutura .....	34
Ilustração 11- Aspecto clínico dos enxertos do grupo 1, no Dia 0.....	35
Ilustração 12- Vista lateral dos enxertos do grupo 1, no Dia 0 .....	35
Ilustração 13- Instalação do implante imediatamente com o enxerto nas tíbias do grupo 2 .....	36
Ilustração 14- Assentamento dos enxertos na cortical externa nas tíbias do grupo 2.....	36
Ilustração 15- Pino de alumínio em posição.....	36
Ilustração 16- Parafusos de cobertura instalados .....	36
Ilustração 17- Análise da frequência de ressonância sendo registrada .....	37
Ilustração 18- Bloco ósseo estabilizado na morsa .....	37
Ilustração 19- Medição do torque de remoção .....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Estatística descritiva dos valores da frequência de ressonância, em ISQ.....	40
Tabela 2-	Estatística descritiva do ganho de estabilidade intergrupo, em ISQ.....	41
Tabela 3-	Estatística descritiva dos valores do torque de remoção, expressos em N.cm.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

AFR .....	Análise de frequência de ressonância
AIDS.....	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
CEP .....	Comitê de Ética em Pesquisa
FMUSP.....	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HIV .....	Vírus da Imunodeficiência Humana
IM .....	Intramuscular
IOT .....	Instituto de Ortopedia e Traumatologia
ISQ.....	Coeficiente de Estabilidade do Implante
kg .....	Kilograma
Kgf.cm .....	Kilograma força vezes centímetro
mg .....	Miligramas
ml .....	Mililitros
mm .....	Milímetros
N.cm.....	Newton vezes centímetro
RPM .....	Rotações por minuto
SNT .....	Sistema Nacional de Transplantes
UI.....	Unidades Internacionais
UNISA .....	Universidade de Santo Amaro

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	
2.1 Implantes osseointegrados .....	14
2.2 Métodos de avaliação da osseointegração .....	15
2.2.1 Análise da frequência de ressonância.....	16
2.2.2 Torque de remoção .....	19
2.3. Enxertos ósseos alógenos	
2.3.1 Histórico .....	20
2.3.2 Biologia do enxerto alógeno fresco e congelado.....	22
2.3.3 Enxerto alógeno fresco e congelado e implantes osseointegrados .....	25
<b>3. PROPOSIÇÃO</b> .....	27
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
<b>5. RESULTADOS</b> .....	40
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	42
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	47
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	48
<b>ANEXO</b> .....	54
<b>APÊNDICE</b> .....	55

## 1. INTRODUÇÃO

Os implantes osseointegrados descritos pela primeira vez por Brånemark e colaboradores em 1969 se tornaram uma modalidade de tratamento segura e previsível na reabilitação da perda de elementos dentais. Dados clínicos das altas taxas de sucesso em longo prazo vêm tornando essa terapêutica uma boa indicação nos casos de edentulismo total, parcial e reposição unitária (ADELL *et al.*, 1990).

No intuito de se alcançar a excelência funcional, estética e fonética na reabilitação protética com implantes osseointegrados, um determinado volume ósseo faz-se necessário. Como a perda do tecido ósseo decorre de processos patológicos, traumatismos ou reabsorção fisiológica pela ausência dental, intervenções cirúrgicas regenerativas podem ser utilizadas para reconstruir a arquitetura óssea adequadamente.

Diferentes materiais de enxertia estão disponíveis para os procedimentos de reconstrução óssea. O enxerto autógeno é considerado a melhor opção terapêutica por suas características de osteogênese, osteoindução e osteocondução, aprimorando a formação óssea. Por ser proveniente do próprio paciente, uma área doadora é requerida resultando no aumento da morbidade, do tempo operatório, da dosagem anestésica e de custos do tratamento (BURCHARDT, 1983; BETZ, 2002).

Os enxertos ósseos homogêneos ou alógenos surgiram como uma alternativa para os enxertos autógenos. Por definição, compreendem o tecido ósseo removido de um indivíduo e transplantado em outro da mesma espécie. O primeiro transplante de osso alógeno relatado na literatura foi realizado por MacEwen em 1880 (DE BOER, 1988). Desde então, trabalhos na Ortopedia foram realizados demonstrando os benefícios para os pacientes como baixa taxa de infecção, menor tempo operatório, menor perda de sangue e dor pós-operatória reduzida (BETZ, 2002).

Com o estabelecimento dos bancos de tecidos na década de 1950, o uso do osso alógeno se tornou rotineiro na área médica. Os resultados e a divulgação da utilização da técnica chamaram a atenção dos Cirurgiões Bucomaxilofaciais, Periodontistas e Implantodontistas que visionaram a utilização dos aloenxertos na reconstrução de defeitos faciais e daqueles originados pela perda do elemento dental. Atualmente, cresce o número de cirurgiões-dentistas que se credenciam e

optam pelo uso desse tipo de enxerto, sendo este fato percebido nas estatísticas da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (RBT, 2008; RTB, 2009).

Cabe ao Banco de Tecidos Músculo-esquelético a coleta, o processamento, o armazenamento e a distribuição desse material. O osso alógeno fresco congelado é processado, criopreservado e disponibilizado para uso clínico em blocos, corticais, medulares ou cortico-medulares, permitindo a sua utilização na região anterior de maxila com pouca espessura óssea e/ou para aumento do rebordo em altura na região posterior de mandíbula. Esta técnica de reconstrução é denominada *onlay*.

Segundo revisões sistemáticas, a técnica *onlay* tem um índice de sucesso de 90 a 100%. Sabe-se também que implantes instalados em áreas previamente enxertadas por esta técnica apresentam um índice de 60 a 100% de sucesso (AGHALOO e MOY, 2007; TOLMAN, 1995).

Quanto ao momento cirúrgico de instalação, os implantes podem ser instalados após a etapa inicial de reparação do enxerto (técnica tardia) ou simultaneamente ao procedimento de enxertia (técnica imediata). A técnica imediata requer apenas uma etapa cirúrgica reduzindo o tempo total de tratamento. Já a tardia pode permitir a instalação dos implantes em uma posição protética mais favorável, melhorando assim o prognóstico do caso (RASMUSSEN *et al.*, 1999a).

A literatura disponibiliza trabalhos que avaliam a instalação de implantes osseointegrados em enxertos autógenos em bloco tipo *onlay* nestes dois momentos cirúrgicos (LUNDGREN *et al.*, 1999; RASMUSSEN *et al.*, 1999a; SHIROTA *et al.*, 1991). Porém, como se comportam os implantes osseointegrados instalados em enxertos alógenos frescos e congelados nestas duas técnicas citadas? Inspirado neste questionamento, o presente trabalho se propõe a estudar qual momento cirúrgico de instalação leva a uma melhor estabilidade dos implantes instalados nos enxertos alógenos frescos e congelados, tipo *onlay*, em tíbias de coelhos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Com o intuito de facilitar a leitura, a revisão de literatura foi dividida nos seguintes tópicos:

### 2.1 Implantes osseointegrados

### 2.2 Métodos de avaliação da osseointegração

#### 2.2.1 Análise da frequência de ressonância

#### 2.2.2 Torque de remoção

### 2.3. Enxertos ósseos alógenos

#### 2.3.1 Histórico

#### 2.3.2 Biologia do enxerto alógeno fresco e congelado

#### 2.3.3 Enxerto alógeno fresco e congelado e implantes osseointegrados

### 2.1 Implantes osseointegrados

Durante os anos de 1940 a 1970, vários pesquisadores desenvolveram e utilizaram implantes na tentativa de substituir elementos dentais perdidos. Implantes subperiósteos e endósseos estavam associados a complicações nos tecidos moles e perda acentuada de tecido ósseo, levando ao fracasso terapêutico a curto e longo prazos. Em 1965, o Professor Per-Ingvar Brånemark, à frente de um grupo de pesquisadores da Universidade de Gotemburgo na Suécia, iniciou os estudos que agregaram um novo conceito na reabilitação dental, os implantes osseointegrados.

Com eficácia clínica comprovada através de casos suportando próteses em função por longos períodos, os implantes osseointegrados se estabeleceram. A osseointegração foi definida primeiramente como sendo o íntimo contato estrutural e funcional entre o osso vivo e organizado e a superfície do titânio, sem interposição de tecido mole (ALBREKTSSON e ZARB, 1993).

Um dos pré-requisitos para se conseguir a osseointegração é que o implante se mantenha imóvel quando findada a sua instalação, fato este conhecido como estabilidade primária. Esta depende do contato mecânico e friccional entre o osso e

o implante e, por isso, varia segundo a técnica cirúrgica utilizada, a geometria do implante, qualidade, volume, densidade e a ancoragem óssea (MEREDITH, 1998; MEREDITH *et al.*, 1997a).

Após a instalação do implante, uma série de eventos reparacionais ocorre incluindo necrose e reabsorção óssea que culminam com a formação de novo osso. Desta forma, o contato entre o osso e o implante que era inicialmente mecânico passa a ser um fenômeno biológico (ABRAHAMSSON *et al.*, 2004). A estabilidade secundária é alcançada após reparação óssea e é consequência da estabilidade primária acrescida da formação e remodelação da interface entre o osso e o implante, também conhecida como osseointegração (ABRAHAMSSON, LINDER e LANG, 2009).

## **2.2 Métodos de avaliação da osseointegração**

Com o surgimento dos implantes osseointegrados, métodos de avaliação da osseointegração foram requeridos. Estes podem ser classificados como invasivos quando danificam a interface entre o osso e o implante e não invasivos quando a preservam.

Muitos métodos não invasivos são aplicados corriqueiramente pelos Implantodontistas. Um método bastante empregado consiste em fazer percussão do implante com o cabo de espelho bucal e avaliar o som obtido. Essa técnica, além de empírica, só retrata um resultado macroscópico tardio da falha da osseointegração (ATSUMI, PARK e WANG, 2007).

O exame radiográfico é utilizado para avaliar a perda óssea e a radiolucência periimplantar e é uma técnica também considerada não invasiva. O método é criticado por ser bidimensional e difícil de standardizar. Outros métodos não invasivos como ausência de sintomas clínicos e imobilidade do implante são subjetivos e por isso, desacreditados (ALBREKTSSON e ZARB, 1993; MEREDITH, 1998; SENNERBY e MEREDITH, 2008).

A análise da frequência de ressonância é um método não invasivo que está sendo muito utilizado em pesquisas clínicas e experimentais nos últimos dez anos (SENNERBY e MEREDITH, 2008).

A histologia e o torque de remoção são os métodos invasivos mais utilizados. Eles são capazes de mensurar a osseointegração fornecendo informações a respeito do contato entre o osso e o implante. Por romperem esta interface, estes métodos têm limitações para uso clínico sendo atualmente muito utilizados em pesquisas experimentais com animais (ATSUMI, PARK e WANG, 2007).

### 2.2.1 Análise da Frequência de Ressonância

Kaneko (1986, 1991 apud MEREDITH, ALLEYNE, CAWLEY, 1996) e Kaneko *et al.* (1987 apud MEREDITH, ALLEYNE, CAWLEY, 1996) avaliaram a integridade da interface entre o osso e o implante através da vibração mecânica de alta frequência e observaram que quando uma carga era aplicada ao implante esta era transmitida ao osso. Meredith *et al.* (1994 apud MEREDITH, ALLEYNE, CAWLEY, 1996) descreveram um método não invasivo para avaliar a formação óssea ao redor dos implantes através da mensuração da estabilidade do implante, método este conhecido como análise da frequência de ressonância (AFR).

Meredith, Alleyne e Cawley (1996) utilizaram a AFR para fazer medições quantitativas da estabilidade da interface entre o osso e o implante *in vitro*. Implantes de diferentes comprimentos e com diâmetro de 3,75 mm foram incluídos em um bloco de alumínio deixando as roscas expostas em diferentes alturas. A AFR foi maior nos implantes que tinham uma menor altura das roscas expostas, para implantes de mesmo comprimento. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre a frequência de ressonância e os diferentes comprimentos dos implantes.

Meredith *et al.* (1997a) realizaram um estudo em humanos sobre a AFR e concluíram que este método pode monitorar mudanças na rigidez e na estabilidade da interface entre o osso e o implante e pode também orientar clinicamente o sucesso ou falha dos implantes. No mesmo ano, Meredith *et al.* (1997b) avaliaram em tíbias de coelhos a AFR de implantes e observaram que houve um aumento expressivo dos valores em 14, 28 e 42 dias após a instalação. Nas avaliações subsequentes, os valores sofreram pequenas mudanças.

Rasmusson *et al.* (1998) avaliaram em coelhos a frequência de ressonância de implantes instalados nas tíbias com e sem enxertia óssea autógena. Os autores observaram que nas tíbias enxertadas os valores da frequência foram maiores em todos os períodos de tempo analisados (quatro, oito, 16 e 24 semanas).

Rasmusson *et al.* (1999a) estudaram a influência de dois momentos cirúrgicos na instalação de implantes em enxertos autógenos, tipo *onlay*, em tíbias de coelhos. Os autores avaliaram a AFR no momento da instalação dos implantes e depois de quatro, oito, 16 e 24 semanas. Observaram que na técnica imediata, a frequência de ressonância aumentou até a quarta semana e depois se manteve inalterada, enquanto que na técnica tardia, a frequência de ressonância aumentou até a oitava semana e depois se estabilizou. Durante todos os períodos analisados, a frequência da técnica tardia foi maior do que a da técnica simultânea.

Um estudo mensurou a estabilidade de implantes instalados após três a quatro meses em osso enxertado na maxila de humanos e que foram acompanhados durante cinco anos. Os autores concluíram que havia um aumento dos valores da AFR com o tempo e que isto poderia ser reflexo da formação, remodelação e maturação da interface entre o osso e o implante (RASMUSSON *et al.*, 1999b).

Friberg *et al.* (1999a) demonstraram que a estabilidade dos implantes instalados em osso pouco denso aumentava em função do tempo, conforme valores obtidos pela frequência de ressonância. No mesmo ano, um estudo clínico demonstrou que a perda de um implante pôde ser notada por uma diminuição no valor da frequência de ressonância após seis semanas da instalação. A AFR indicou a falha do implante semanas antes da mobilidade clínica (FRIBERG *et al.*, 1999b).

As mudanças biomecânicas da interface entre o osso e o implante durante a osseointegração foram investigadas *in vitro*, por meio da AFR. Este método forneceu informações quantitativas da estabilidade implantar e da densidade óssea (PAN e YING, 2004).

Glauser *et al.* (2004) analisaram a estabilidade de 81 implantes instalados em 23 pacientes através da AFR, durante um ano. As aferições foram realizadas após uma e duas semanas, bem como após um, dois, três, seis e 12 meses. Os implantes que falharam mostraram perda gradual da estabilidade com o passar do tempo. Foi observado que nos implantes que tinham um coeficiente menor ou igual a 39 no primeiro ou segundo mês após a implantação a taxa de insucesso foi de 100%.

Miyamoto *et al.* (2005) avaliaram quantitativamente o osso na tomografia computadorizada pré-operatória e a estabilidade primária do implante através AFR. Observou-se uma correlação direta entre a espessura do osso e a frequência de ressonância. O comprimento do implante teve uma fraca correlação com a estabilidade. Estes resultados sugeriram que a estabilidade primária está mais influenciada pela espessura cortical do osso do que pelo comprimento do implante.

O objetivo do estudo de Sjöstrom *et al.* (2005) foi comparar implantes instalados com e sem enxertia óssea em maxila, por meio da AFR. Vinte e nove pacientes com atrofia severa foram tratados com enxerto autógeno e depois de seis meses, implantes osseointegrados foram instalados. Dez pacientes não enxertados formavam o grupo controle. A AFR foi medida no momento da colocação do implante, na instalação do pilar e seis meses após o carregamento. Os autores concluíram que os implantes instalados nos pacientes enxertados apresentaram uma estabilidade similar aos implantes colocados em áreas não enxertadas, nos três períodos de tempo analisados.

Pattijn *et al.* (2006) analisaram a influência de diferentes parâmetros como o tipo de ancoragem do implante (trabecular, cortical, unicortical ou bicortical); o diâmetro e o comprimento do implante e a rigidez do tecido ósseo na AFR, por meio de elementos finitos. Concluíram que um aumento no diâmetro ou no comprimento do implante em contato com o osso resulta em frequências de ressonância mais elevadas. As ancoragens unicortical e trabecular são mais sensíveis as mudanças da rigidez óssea do que o bicorticalismo e a ancoragem cortical.

Outro estudo também comparou a estabilidade, através da AFR, de implantes em área enxertada e não enxertada na região posterior da mandíbula. Quinze pacientes participaram da pesquisa e 35 implantes foram instalados. Os enxertos utilizados foram autógenos do tipo *onlay*, para aumento de espessura. Após doze meses de acompanhamento, nenhuma diferença significativa foi encontrada entre os dois grupos (OZKAN *et al.*, 2007)

Turkyilmaz *et al.* (2009) estudaram a correlação entre a densidade óssea e a estabilidade implantar por meio da AFR, em cadáveres. Instalaram 24 implantes em três mandíbulas e determinaram a densidade óssea por meio de tomografia computadorizada. Observaram que houve correlação direta estatisticamente significativa entre os dois parâmetros estudados.

Segundo Brouwers *et al.* (2009) a estabilidade primária dos implantes pode ser mensurada com confiança pela AFR.

Recentemente, alguns estudos tentaram correlacionar a frequência de ressonância e o contato entre o osso e o implante. Porém, não foi estabelecida uma relação estatisticamente significativa entre esses dois parâmetros (ABRAHAMSSON, LINDER e LANG, 2009; AL-NAWAS *et al.*, 2008; ITO *et al.*, 2008). Da mesma maneira, não se conseguiu estabelecer uma correlação entre AFR e o torque de remoção (BROUWERS *et al.*, 2009).

### **2.2.2 Torque de Remoção**

O torque de remoção é um teste invasivo que avalia a força de cisalhamento da interface entre o osso e o implante. Por ser destrutivo, atualmente só é utilizado em estudos experimentais embora, outrora, tenha sido aplicado em estudos clínicos em humanos (IVANOFF *et al.*, 1997).

Foi inicialmente proposto por Roberts *et al.* em 1984. Consiste na força máxima necessária para rompimento da interface entre o osso e o implante em um determinado momento fornecendo informações a respeito da rigidez do implante no leito ósseo (ATSUMI, PARK e WANG, 2007). Está na dependência da geometria, superfície, composição, espessura e tamanho do implante bem como da densidade óssea (SULLIVAN *et al.*, 1996).

Johansson e Albrektsson (1987) estudaram o torque de remoção e a histomorfometria de implantes instalados em tíbias de coelhos nos seguintes períodos pós-cirurgia: três semanas, um, três, seis e 12 meses. Os autores observaram que à medida que o contato entre o osso e o implante aumentava, também cresciam os valores do torque de remoção havendo uma forte correlação entre esses dois aspectos.

Estudos em coelhos demonstraram que implantes de superfície tratada apresentam maior torque de remoção quando comparados aos que não receberam tratamento de superfície, em diferentes tempos de análise (dois, quatro, seis, oito, nove e 12 semanas, um, dois e três meses) (CARLSSON *et al.*, 1988; CHO e PARK,

2003; FERNANDES *et al.*, 2007; KLOKKEVOLD *et al.*, 1997; KLOKKEVOLD *et al.*, 2001; YANG *et al.*, 2008).

Ueda *et al.* (1991) demonstraram em um estudo com cadáveres que o torque de remoção para implantes instalados em osso bicortical foi maior do que naqueles instalados em osso monocortical.

Ivanoff *et al.* (1997) estudaram a influência do diâmetro do implante na osseointegração em tíbias de coelhos, através do torque de remoção. Concluíram que havia um aumento dos valores do torque à medida que se aumentava o diâmetro dos implantes e que este fato podia ser explicado pela maior força gerada no suporte cortical, quando um diâmetro maior era utilizado.

Rasmusson *et al.* (1998) avaliaram, em tíbias de coelhos, o torque de remoção de implantes instalados sem e com enxertia óssea autógena imediata, após 24 semanas. Os autores observaram maiores valores de contra torque nas tíbias enxertadas.

Rasmusson *et al.* (1999) não encontraram diferença estatística no torque de remoção das técnicas de instalação imediata e tardia dos implantes em enxertos autógenos, em tíbias de coelhos.

De Riu *et al.* (2007) avaliaram o torque de remoção de 12 implantes sendo seis deles instalados imediatamente com enxertos autógenos e seis sem enxerto, em tíbias de ovelhas. Os autores demonstraram que a força de cisalhamento foi maior nos implantes colocados juntamente com enxertos.

Brouwers *et al.* (2009) instalaram 32 implantes em oito mandíbulas de cadáveres e observaram que os implantes cilíndricos tiveram um maior valor de contra-torque do que os cônicos.

## **2.3 Enxerto ósseo alógeno**

### **2.3.1 Histórico**

De Boer (1988) fez um breve histórico dos enxertos ósseos relatando que, em 1668, Job van Meekeren descreveu o primeiro procedimento de enxertia óssea e em

1674, Antoni van Leeuwenhoek descreveu a estrutura óssea. Philips Von Walter, em 1820, faz o primeiro enxerto autógeno. Em 1867, Ollier publica um livro com observações de seus estudos experimentais em coelhos e cães onde reconheceu que fragmentos de osso autógeno sem o perióstio podiam viver e crescer em um ambiente adequado.

O primeiro enxerto ósseo alógeno documentado foi realizado em 1880 por William MacEwen, cirurgião escocês, que reconstruiu com sucesso um úmero infectado de um paciente de quatro anos de idade utilizando uma tíbia de uma criança com raquitismo. Nos Estados Unidos em 1915, Albee publica um livro sobre cirurgia de transplante de osso divulgando este tema (DE BOER, 1988).

Ainda no início do século XX, uma série de casos de transplantes ósseos alógenos demonstrando a viabilidade da utilização na ortopedia foi relatada por Lexer. Nesta época, porém, o osso alógeno era utilizado fresco o que ocasionava um maior risco de infecção e rejeição (CHASE e HERNDON, 1955; DE BOER, 1988).

Diversos métodos químicos e físicos foram empregados com objetivo de diminuir a resposta imune e a contaminação. Estimulado pelo sucesso de Inclán (1942) em manter osso autógeno e alógeno em temperatura de 2 a 5°C, Wilson (1947) preservou fragmentos de ossos a - 28 °C.

Mesmo sendo promissora, a utilização do osso alógeno teve impulso apenas a partir dos anos 50 devido ao estabelecimento dos bancos de tecidos e ao desenvolvimento de metodologias para o processamento tecidual. Surge, então, o primeiro banco de tecidos ósseos, localizado no Centro Médico Naval em Bethesda, Maryland, que pertencia a Marinha Norte Americana. Apesar de criado para tratar os feridos de guerra durante o conflito da Coreia, este banco publicou seus resultados com os aloenxertos. Vários países europeus como Inglaterra e Polônia também estabeleceram seus bancos de tecidos na mesma década (GALEA e KEARNEY, 2005).

Nos anos de 1980, o surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) trouxe uma preocupação com a transmissão desta doença levando a uma normatização dos procedimentos, inclusive com regulação governamental. Inicialmente, focou-se na seleção dos doadores, mas durante a década seguinte sistemas de qualidade foram introduzidos. A *American Association of Tissue Bank* divulgou o primeiro protocolo de estruturação para Bancos de Tecidos Músculos-

esqueléticos com normas de funcionamento, captação, processamento, armazenamento e distribuição dos tecidos para transplantes. Este protocolo foi aceito pela *European Association of Tissue Bank* e atualmente norteia os bancos de tecidos do mundo inteiro (GALEA e KEARNEY, 2005).

No Brasil, a Lei nº 9.434 de 4 de fevereiro de 1997 e a Lei nº 10.211 de 23 de março de 2001 regem a organização e funcionamento da remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplantes e tratamento. O decreto nº 2.268 de 30 de junho de 1997 criou o Sistema Nacional de Transplantes (SNT). Mais tarde, legislações especificamente voltadas para as atividades do banco de tecidos são publicadas e passam a servir de diretrizes na estruturação de novos bancos e a reestruturação daqueles existentes. Atualmente, existem seis Bancos de Tecidos Músculos-esqueléticos cadastrados no SNT do Ministério da Saúde (BRASIL, 2009).

### **2.3.2 Biologia do enxerto alógeno fresco e congelado**

Em 1893, Barth observou que os elementos do osso transplantado morriam e eram substituídos por novo osso vindo do leito receptor (DE BOER, 1988). O trabalho de Wilson em 1951 sugeriu que a cicatrização do osso de banco se dá por um processo de invasão, absorção e reposição similar ao osso autógeno só que com incorporação mais lenta. Wilson constatou que meses após a implantação não se podia distinguir o enxerto alógeno nem o autógeno no leito receptor (apud CAMPBELL *et al.*, 1953).

Turner *et al.* (1955) em estudo experimental em cães observaram que o osso alógeno congelado a  $-78^{\circ}\text{C}$  se fixava bem ao leito receptor após 90 dias de implantação embora o processo de reparação fosse bastante retardado.

Heiple, Chase e Herndon (1963) comparando o processo de cicatrização do osso autógeno com diferentes formas de processamento do osso alógeno, em cães, demonstraram que os enxertos alógenos frescos e os congelados seguiam a mesma sequência de eventos histológicos do enxerto autógeno fresco diferindo deste no tempo de reparação. Após um ano de acompanhamento, o enxerto alógeno

congelado se assemelhava ao autógeno enquanto que no alógeno fresco as diferenças eram mais evidentes.

Estudando a reparação de aloenxertos congelados a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  em coelhos, Kingma e Hampe (1964) observaram que em 10 semanas vasos sanguíneos haviam penetrado no enxerto e este estava incorporado ao leito receptor. Após um ano, o enxerto estava completamente substituído por osso maduro. Os autores concluíram que o reparo dos enxertos alógenos ocorre da mesma maneira do que os autógenos sendo que todas as fases são mais retardadas nos aloenxertos.

Goldberg *et al.* (1984) estudaram, em cães, o efeito da terapia de imunossupressão na incorporação dos aloenxertos congelados a  $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Avaliações histológicas e radiográficas foram realizadas após 13 e 26 semanas da enxertia. Os autores concluíram que os enxertos estavam mais bem incorporados no grupo que recebeu os imunossupressores.

Dois fatores parecem influenciar na incorporação dos aloenxertos. O primeiro deles refere à histocompatibilidade, sugerindo que quanto maior é a diferença genética entre o doador e o receptor maior o retardo na incorporação dos enxertos. O outro diz respeito às diferentes formas de processamento e preservação dos aloenxertos, com alterações significativas nas propriedades biomecânicas (Friedlaender, 1987).

Dasso, Fernandez e Arias (1998) estudaram a reparação de aloenxertos submetidos a diferentes métodos de processamento e observaram que após 8 semanas, o osso fresco e congelado exibia 50% de reparação com formação de novo osso, em defeitos criados em tíbias de coelhos.

Um estudo comparou aloenxertos criopreservados a  $-80^{\circ}\text{C}$  com congelados a  $4^{\circ}\text{C}$  quanto à viabilidade celular, presença de vascularização, necrose, manutenção da matriz óssea, processo inflamatório, remodelação óssea e fibrose. Os autores concluíram que apenas o item viabilidade celular foi menor e estatisticamente significativa quando os enxertos eram criopreservados (Baptista *et al.*, 2003).

Weytz *et al.* (2003) avaliaram o osso alógeno fresco e congelado a  $-80^{\circ}\text{C}$  quanto as características histológicas. Concluíram que, embora esse tipo de enxerto mantenha alguma viabilidade celular após a criopreservação, três e dezoito meses após o transplante não foi possível detectar nenhuma célula viável do doador.

Laitinen, Kivikari e Hirn (2006) avaliaram o efeito de diferentes temperaturas na oxidação lipídica dos aloenxertos frescos e congelados. Os autores

recomendaram o armazenamento em temperaturas abaixo de  $-70^{\circ}\text{C}$  por no mínimo três anos para evitar que este evento ocorra.

Macedo (2006) utilizou blocos cortico-medulares de enxertos alógenos frescos e congelados na reconstrução óssea em altura de rebordos alveolares. Foram realizados 16 procedimentos, sendo dez na maxila e seis na mandíbula. Após sete meses, avaliou o ganho ósseo através de tomografias computadorizadas. Houve a exposição de três blocos ao meio bucal. Os aloenxertos apresentaram baixa taxa de reabsorção e houve ganho em altura possibilitando a instalação de implantes osseointegrados.

Pelegrine (2006) comparou histomorfometricamente a utilização de osso autógeno e de osso alógeno fresco e congelado, associados ou não à medula óssea autóloga, em coelhos, durante um período de oito a 12 semanas. Não houve diferença significativa entre os grupos com relação à quantidade de osso neoformado. Entretanto, ocorreu uma quantidade maior de partículas ósseas residuais no grupo do aloenxerto.

A formação óssea de enxertos autógenos e alógenos tipo *onlay* foi avaliada por Querido (2007), em 18 mandíbulas de coelhos. Os animais foram divididos em três grupos que foram sacrificados nos seguintes períodos: quatro, oito e 12 semanas. Os resultados macroscópicos evidenciaram uma menor reabsorção dos enxertos alógenos quando comparada aos autógenos. Segundo o autor, a atividade celular nos enxertos autógenos é mais intensa que nos alógenos, permitindo uma formação óssea mais precoce nos tempos analisados.

Pimentel (2007) demonstrou, em estudo realizado em humanos, que o enxerto alógeno fresco e congelado pode promover um ganho em altura de 5 mm nas reconstruções do processo alveolar atrófico, na região posterior de mandíbula.

Simpson *et al.* (2007) mostraram que células relacionadas com os osteoblastos podem crescer *in vitro* em aloenxertos frescos e congelados depois de período de quarentena de seis meses a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### 2.3.3 Enxerto alógeno fresco e congelado e implantes osseointegrados

Na década de 80, os procedimentos de reconstrução óssea para a instalação de implantes osseointegrados foram descritos com a utilização de enxertos autógenos. O primeiro relato na literatura de uso do enxerto alógeno fresco e congelado simultaneamente com implantes osseointegrados foi em 1992 quando Perrott, Smith e Kaban reabilitaram oito pacientes utilizando este tipo de enxerto sozinho ou em combinação com osso autógeno proveniente da crista ilíaca. Os pacientes foram acompanhados de três a oito meses após a instalação da prótese com uma taxa de sucesso de 96,5%.

Kondell, Mattsson e Astrand (1996) reabilitaram quatro pacientes com reabsorção severa de maxila com aloenxertos frescos e congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$ , tipo *onlay*, e implantes osseointegrados no mesmo momento cirúrgico ou após período inicial de cicatrização. Os autores investigaram as respostas imunológicas destes pacientes aos aloenxertos e não observaram nenhuma reação aguda. Depois de 19 meses, 22 dos 23 implantes estavam osseointegrados levando os autores a concluir que enxertos alógenos frescos e congelados em combinação com implantes osseointegrados podem ser utilizados com sucesso na reabilitação de maxilas atroficas.

Leonetti e Koup (2003) apresentaram quatro casos de pacientes que tiveram áreas da maxila ou da mandíbula aumentadas com aloenxerto fresco e congelado para posterior instalação de implantes osseointegrados. Todos os casos receberam um único implante que foi instalado com sucesso. Biópsias da área enxertada não demonstraram vestígios do aloenxerto após seis meses de reparação.

Barone *et al.* (2009) utilizaram 24 blocos *onlay* de aloenxerto fresco e congelado na reabilitação de maxilas atroficas de 13 pacientes. Foi observada exposição do enxerto em dois pacientes logo nas primeiras semanas da instalação. Dos 38 implantes instalados nas áreas enxertadas, dois foram perdidos seis meses depois e repostos sem necessidade de novo procedimento de enxertia.

Em estudo retrospectivo, Viscioni *et al.* (2009) analisaram 133 implantes inseridos em aloenxertos frescos e congelados em 41 pacientes. A instalação dos

implantes foi realizada seis meses após a cirurgia de enxertia. Os autores obtiveram uma taxa de sucesso de 99,2% após um ano de acompanhamento.

Em estudo similar, Carinci *et al.* (2009) instalaram 63 implantes em 28 enxertos alógenos frescos e congelados do tipo *onlay* após seis meses de incorporação. A taxa de sucesso foi de 96,8% após vinte meses de acompanhamento e a perda de dois implantes ocorreu por infecção tardia do bloco ósseo.

Contar *et al.* (2009) relataram um sucesso de 100% em casos acompanhados por 24 a 35 meses de pacientes que receberam enxertos alógenos frescos congelados para reconstrução de maxila atrófica com posterior instalação de implantes.

### 3. PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste trabalho são:

- Avaliar e comparar a estabilidade primária e secundária de implantes de superfície tratada instalados no momento cirúrgico tardio e imediato em enxertos ósseos alógenos frescos e congelados, tipo *onlay*, em tíbias de coelhos, por meio da análise da frequência de ressonância.
- Comparar o torque de remoção de implantes de superfície tratada instalados no momento cirúrgico tardio e imediato em enxertos ósseos alógenos frescos e congelados, tipo *onlay*, em tíbias de coelhos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Aspecto Ético da Pesquisa

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Santo Amaro (UNISA) sob o nº 057/2008 no CEP UNISA nº 095/08, que segue as diretrizes estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Anexo A).

### 4.2 Obtenção do Enxerto Alógeno Fresco e Congelado

Diante da inexistência de enxertos alógenos frescos e congelados provenientes de coelhos para estudos experimentais, o primeiro procedimento realizado neste estudo foi a obtenção desses enxertos juntamente com o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT-FMUSP).

Um total de cinco coelhos, fêmeas, da raça Nova Zelândia, com idade acima de quatro meses, pesando entre 3,5 a 4,0 kg, provenientes do CRIEX Cunicultura Ltda. foram as doadoras do osso alógeno. O sacrifício ocorreu no biotério da UNISA seguindo os critérios estabelecidos pela Associação Americana de Medicina Veterinária<sup>1</sup>. Os animais receberam uma sobredosagem de Quetamina<sup>2</sup> e Xilazina<sup>3</sup> e, uma vez anestesiados, foi administrado Cloreto de Potássio<sup>4</sup> (2 mg/kg, intravenoso).

A área eleita como doadora foi a calota craniana. Após a tricotomia, os animais sacrificados foram transportados para o IOT-FMUSP onde foram empregados os protocolos de captação, processamento e criopreservação do Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do IOT-FMUSP. Estes seguem as diretrizes

---

<sup>1</sup> AVMA Guidelines on Euthanasia, June 2007

<sup>2</sup> Ketamin S, Crisfarma, Sergipe, Brasil

<sup>3</sup> Virbaxyl 2%, Virbac, São Paulo, Brasil

<sup>4</sup> Ariston, São Paulo, Brasil

estabelecidas pela legislação brasileira<sup>5</sup>, pelo *European Association of Tissue Banks*<sup>6</sup> e pela *American Association of Tissue Banks*<sup>7</sup>.

Para captação do osso, o tecido que reveste a calota craniana foi descontaminado com clorexidina a 2%<sup>8</sup>. Campos fenestrados estéreis foram dispostos sobre o animal. Foi realizada uma incisão retilínea sob a sutura sagital com lâmina de bisturi n.º. 11<sup>9</sup>, os tecidos divulsionados e afastados expondo toda a área doadora. Sob irrigação constante de soro fisiológico a 0,9% e com auxílio de uma trefina<sup>10</sup> de 8 mm de diâmetro conectada a um contra-ângulo redutor<sup>11</sup> 16:1 acoplado a um motor elétrico<sup>12</sup> à 1500 rotações por minuto (RPM), os blocos ósseos foram captados (Ilustração 01) e acondicionados em pacotes estéreis, seguindo para o processamento.

De cada animal doador foram obtidas amostras de medula e espécimes que foram preservadas em frascos, um deles contendo meio de cultura *Brain Heart Infusion* para a pesquisa de bactérias aeróbias e anaeróbias e um segundo contendo o meio *Agar Sabouraud* para a pesquisa de fungos. As análises microbiológicas foram realizadas pelo Laboratório de Análises Clínicas Biesp do Hospital Oswaldo Cruz.

Os ossos de cada animal foram processados separadamente e passaram por lavagem com solução fisiológica estéril a 0,9% (Ilustração 02). Amostras deste líquido foram adicionadas aos meios de cultura. Como resultado destes processos, obteve-se blocos corticais de 8 mm de diâmetro por aproximadamente 2 mm de espessura que foram armazenados, de dois em dois, em invólucros triplos estéreis resistentes a baixas temperaturas e identificados (Ilustração 03). Logo após, foram encaminhados a sala de criopreservação da Medicina Tropical do Hospital das Clínicas da FMUSP, onde permaneceram por um período mínimo 40 dias em *ultrafreezer* a - 80°C. Após os testes microbiológicos, descartamos os enxertos cujas amostras vieram contaminadas.

---

<sup>5</sup> Portaria n.º. 1686 de 20 de setembro de 2002

<sup>6</sup> European Association of Tissue Banks. Common Standards for Tissues and Cells Banking: Berlin, 2004.

<sup>7</sup> American Association of Tissue Banks. Standards for Tissue Banking, 10th ed., McLean, 2005.

<sup>8</sup> Riohex®, Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

<sup>9</sup> Medgoldman, São José, SC, Brasil

<sup>10</sup> Neodent, Curitiba, PR, Brasil

<sup>11</sup> W&H, 975 AE, Burmoos, Austria.

<sup>12</sup> Driller BLM 600 Plus, São Paulo, Brasil



**Ilustração 1: Captação do osso alógeno**



**Ilustração 2: Processamento do enxerto alógeno**



**Ilustração 3: Blocos processados e acondicionados em invólucro**

### **4.3 Amostra**

Foram utilizados dez coelhos da raça Nova Zelândia, fêmeas, com idade acima de quatro meses, pesando no início do experimento entre 3,5 a 4,0 kg, provenientes do CRIEX Cunicultura Ltda. e identificadas por números tatuados na orelha esquerda.

Todos os animais foram alojados no biotério da UNISA sendo assistidos e medicados por médicos veterinários. Os coelhos foram inicialmente mantidos em observação por um período de sete dias após a chegada para que fossem descartadas quaisquer anomalias no estado geral de saúde. Durante todo o experimento foram alimentados igualmente com ração balanceada<sup>13</sup> e água a vontade.

---

<sup>13</sup> Nutriara, Araçongas, PR, Brasil

## 4.4 Delineamento do Estudo

### 4.4.1 Constituição dos grupos

Cada tíbia dos coelhos recebeu dois enxertos alógenos frescos e congelados com implantes osseointegrados que foram classificados como proximais e distais, conforme localização na diáfise. As tíbias dos animais foram aleatoriamente divididas em dois grupos:

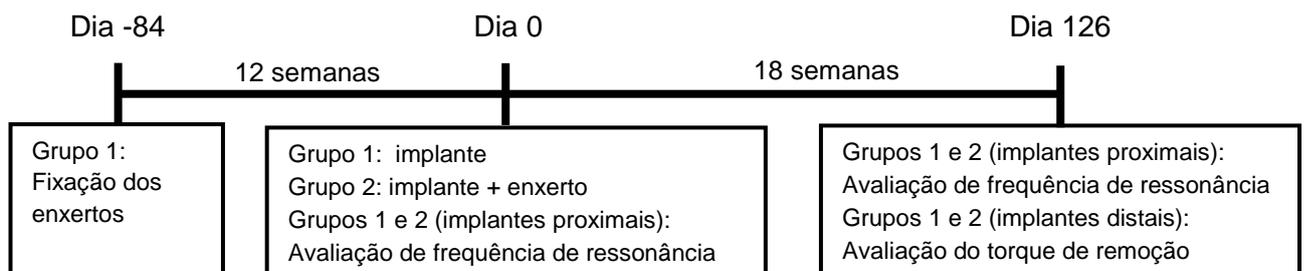
#### Grupo 1: Tíbias Tardias

Consiste nas tíbias que receberam os enxertos alógenos frescos e congelados e, que, somente após período inicial de reparação de 84 dias (12 semanas) receberam os implantes osseointegrados.

#### Grupo 2: Tíbias Imediatas

Consiste nas tíbias que receberam os enxertos alógenos frescos e congelados juntamente com os implantes osseointegrados, no mesmo momento cirúrgico.

### 4.4.2 Desenho do estudo



#### 4.5 Procedimentos Cirúrgicos Experimentais

Os dez coelhos foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos experimentais que se seguiu respeitando o período da criopreservação dos enxertos. Os animais foram transportados da UNISA para a sala cirúrgica do Laboratório de Biomecânica (LIM-41) do IOT-FMUSP, onde as cirurgias foram realizadas.

Os animais foram anestesiados, de acordo com peso corpóreo, por via intramuscular (IM) na parte posterior da coxa seguindo o protocolo da medicina veterinária da UNISA: Quetamina<sup>14</sup> 10% (40mg/Kg/IM) e Xilazina<sup>15</sup> 2% (8mg/Kg/IM). Para verificação da anestesia, foram avaliados o relaxamento muscular, os reflexos podal e auricular e a avaliação clínica da diminuição da frequência cardíaca e respiratória. Os animais receberam anestesia local infiltrativa de Cloridrato de Prilocaína a 3% com Felipressina 0,03 UI<sup>16</sup>, aplicadas com auxílio de seringa carpule e agulha gengival curta.

Realizou-se a tricotomia e anti-sepsia com gaze embebida em clorexidina a 2% nas regiões proximais das tíbias. Campos fenestrados estéreis foram colocados sobre as coelhas expondo apenas a área cirúrgica. A frequência respiratória e cardíaca foi monitorada clinicamente pelo veterinário responsável durante todos os procedimentos cirúrgicos.

Os animais receberam drogas pós-operatórias na seguinte dosagem e duração: Enrofloxacino 2,5%<sup>17</sup> injetável (0,4ml/Kg/Sub-Cutâneo/dia por 7 dias) e Meloxicam 2,0%<sup>18</sup> injetável (0,01ml/Kg/IM/dia por 7 dias).

Os dados da pesquisa foram devidamente registrados em fichas criadas especialmente para este fim (Apêndice A). Foram realizados três procedimentos cirúrgicos experimentais.

---

<sup>14</sup> Ketamin S, Crisfarma, Sergipe, Brasil

<sup>15</sup> Virbaxyl 2%, Virbac, São Paulo, Brasil

<sup>16</sup> Citanest® 3% com Octapressim, Astra Química e Farmacêutica Ltda., São Paulo, Brasil

<sup>17</sup> Flotril®, Schering Plough, Cotia, São Paulo, Brasil

<sup>18</sup> Maxicam®, Ouro Fino, Cravinhos, São Paulo, Brasil

#### 4.5.1 Dia -84

O primeiro procedimento cirúrgico experimental foi realizado 12 semanas antes da instalação dos implantes osseointegrados e consistiu na instalação dos enxertos alógenos frescos e congelados nas tíbias do grupo 1.

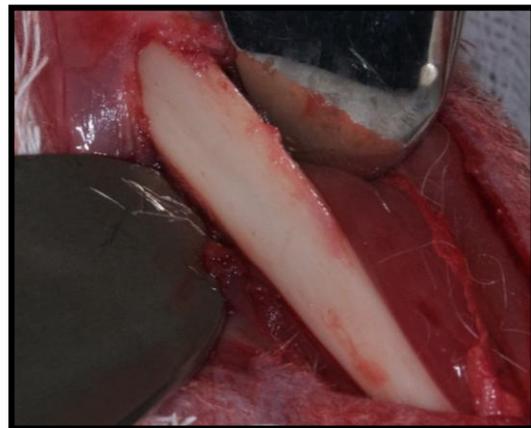
A pele dos animais foi incisada com lâmina de bisturi nº 11 expondo aproximadamente 4 cm do tecido muscular (Ilustração 04). Com auxílio de tesoura, o tecido foi divulsionado até o periósteo. Este foi incisado até que o tecido ósseo fosse visualizado. Divulsionadores de periósteo expuseram a área receptora através de retalho de espessura total (Ilustração 05) que foram mantidos com auxílio de afastadores de tecido.

Dois pontos das perfurações foram marcados e distavam aproximadamente 15 mm entre si. Iniciou-se com fresa de 1,0 mm, seguida da fresa de 1,6 mm<sup>19</sup> a 1500 RPM, com abundante irrigação. A descorticalização óssea foi realizada com a intenção de aumentar a nutrição sanguínea para o enxerto (Ilustração 06).

Os enxertos alógenos frescos e congelados foram mantidos em soro fisiológico duas horas antes do início das cirurgias e então, foram perfurados com broca diamantada esférica nº. 03 (Ilustração 07). Os parafusos de osteossíntese<sup>20</sup> de 2 mm de diâmetro por 6 mm de comprimento foram inseridos nos blocos e estes fixados na tíbia com auxílio de instrumental próprio<sup>21</sup> (Ilustrações 08 e 09). A sutura<sup>22</sup> foi realizada por planos: muscular e pele (Ilustração 10).



**Ilustração 04: Incisão do plano cutâneo**



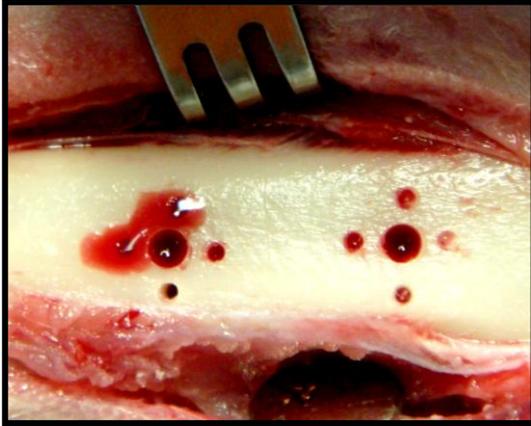
**Ilustração 05: Exposição da área receptora**

<sup>19</sup> Fresa tipo N longa, Kit Osteossíntese, Conexão Sistema de Prótese, São Paulo, Brasil

<sup>20</sup> Conexão Sistema de Prótese, São Paulo, Brasil

<sup>21</sup> Chave Phillips longa, Kit Osteossíntese, Conexão Sistema de Prótese, São Paulo, Brasil

<sup>22</sup> Vicryl 2-0, Ethicon Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil



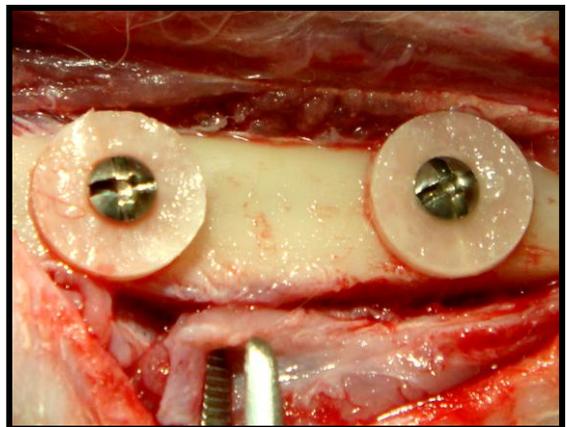
**Ilustração 06: Perfurações e descorticalização das tíbias do grupo 1**



**Ilustração 07: Perfuração do enxerto**



**Ilustração 08: Enxertos com parafusos de osteossíntese**



**Ilustração 09: Enxertos fixados na tíbia**

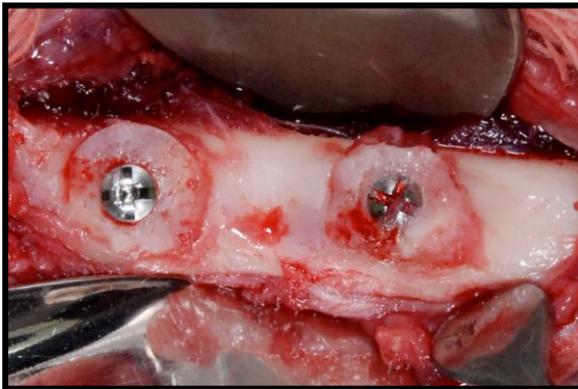


**Ilustração 10: Aspecto final da sutura**

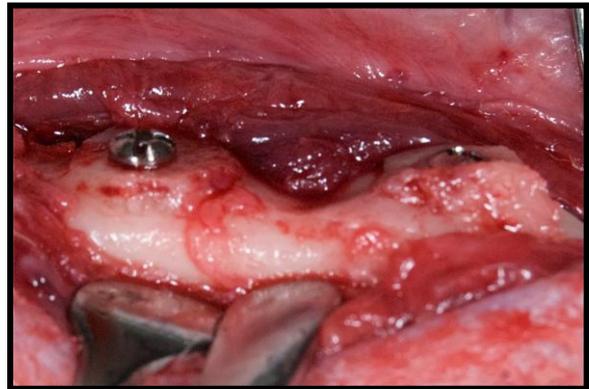
#### 4.5.2 Dia 0

O segundo procedimento cirúrgico (Dia 0) foi realizado seguindo o mesmo protocolo do primeiro (Dia -84). Neste dia, as tíbias pertencentes ao grupo 1 receberam implantes osseointegrados enquanto que as tíbias do grupo 2 receberam os enxertos fixados imediatamente com os implantes. Todos os implantes utilizados nesta pesquisa foram de hexágono externo com superfície tratada por ácido<sup>23</sup> de 3,3 mm de diâmetro por 10 mm de comprimento.

As tíbias do grupo 1 foram reabertas. Uma vez exposta a área enxertada, os parafusos de osteossíntese foram removidos, permanecendo todos os enxertos reparados nas tíbias (Ilustração 11 e 12). Seguiu-se com a sequência para instalação dos implantes: broca lança 2,0 mm, seguida das fresas helicoidais de 2,0 mm; 2,8 mm; 3,0 mm e 3,15 mm. As três primeiras fresas helicoidais alcançaram a cortical oposta visando o bicorticalismo. Os implantes foram inseridos com auxílio de catraca e seus montadores foram removidos.



**Ilustração 11: Aspecto clínico dos enxertos do grupo 1, no Dia 0**



**Ilustração 12: Vista lateral dos enxertos do grupo 1, no Dia 0**

Partiu-se para a instalação dos implantes juntamente com os enxertos nas tíbias do grupo 2. Os enxertos foram previamente perfurados utilizando-se broca esférica diamantada nº. 03, seguida de fresa cônica de 3,25 mm. Os implantes foram inseridos nos blocos. A mesma sequência de fresas para colocação dos implantes foi utilizada no leito receptor, que também foi descorticalizado, conforme descrito no

<sup>23</sup> Master Porous Nano®, Conexão Sistema de Prótese, São Paulo, Brasil.

Dia 0. Os implantes foram fixados com auxílio de catraca até assentarem na cortical óssea externa (Ilustrações 13 e 14). Os montadores dos implantes foram removidos.

Neste momento, avaliou-se a estabilidade primária dos implantes proximais nos grupos 1 e 2 através do aparelho para a análise de frequência de ressonância<sup>24</sup>, fixando o pino de alumínio deste (*Smartpeg*<sup>TM25</sup>) no implante (Ilustração 15), com auxílio do montador próprio. As frequências de ressonância expressas em ISQ (Implant Stability Quotient) foram registradas. Os parafusos de cobertura dos implantes foram instalados (Ilustração 16) e os tecidos suturados.



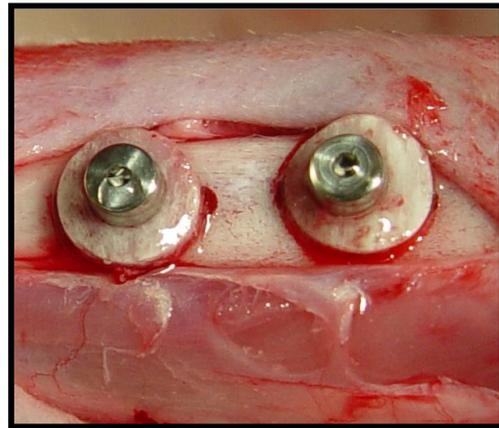
**Ilustração 13: Instalação do implante imediatamente com o enxerto nas tíbias do grupo 2.**



**Ilustração 14: Assentamento dos enxertos na cortical externa nas tíbias do grupo 2.**



**Ilustração 15: Pino de alumínio em posição**



**Ilustração 16: Parafusos de cobertura instalados**

<sup>24</sup> Osstell Mentor<sup>TM</sup>, Osstell AB, Gamlestadsvägen, Sweden

<sup>25</sup> Type 2, Ref: 100355, Osstell AB, Gamlestadsvägen, Sweden

#### 4.5.4 Dia 126

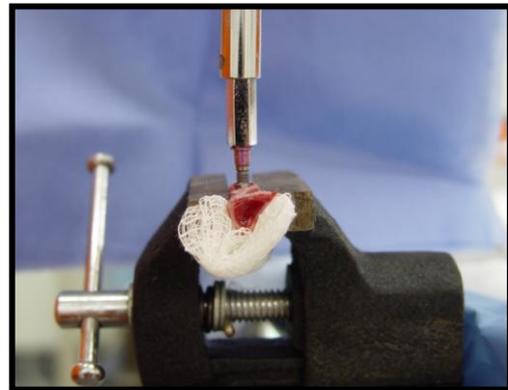
O terceiro procedimento cirúrgico aconteceu 18 semanas (Dia 126) após o segundo. Neste intervalo de tempo, dois animais fraturam a pata e foram sacrificados, consistindo a amostra final de oito coelhos. Não houve sinais de infecção até esta data. Nenhum implante ou enxerto foi perdido.

Após os procedimentos de anestesia, anti-sepsia e tricotomia, as tíbias dos grupos 1 e 2 foram reabertas. Conforme descrito no Dia 0, a estabilidade secundária dos implantes proximais de ambos os grupos foi avaliada, por meio da AFR (Ilustração 17).

Os animais foram sacrificados com Cloreto de Potássio (2mg/kg, intravenoso). As tíbias foram removidas com auxílio de um disco diamantado<sup>26</sup> conectado à peça reta<sup>27</sup> sob abundante irrigação. O bloco ósseo foi estabilizado em uma morsa (Ilustração 18). Nos implantes distais dos dois grupos, o torque de remoção foi medido com torquímetro<sup>28</sup> (Ilustração 19) e o valor máximo para rompimento da interface entre o osso e o implante foi devidamente registrado nas fichas.



**Ilustração 17: Análise da frequência de ressonância sendo registrada**



**Ilustração 18: Bloco ósseo estabilizado na morsa**



**Ilustração 19: Medição do torque de remoção**

<sup>26</sup> Komet, 946, Santo André, SP, Brasil

<sup>27</sup> Kavo, 10ABN, Joinville, SC, Brasil

<sup>28</sup> 20 STC, Tohnichi America Corp., USA

## 4.6 Forma de análise dos resultados

### 4.6.1 Análise da frequência de ressonância

A AFR é medida através de um aparelho<sup>29</sup> que avalia a estabilidade do implante no leito. A versão usada neste trabalho utiliza-se de uma conexão magnética e sem fio entre o analisador da frequência e o pino de alumínio pré-calibrado (*SmartPeg™*), que é rosqueado manualmente ao implante. Cada sistema e modelo de implante possuem um tipo correspondente do pino de alumínio.

No funcionamento do aparelho, um computador de mão é aproximado do pino gerando pulsos magnéticos que o faz vibrar em duas direções, perpendiculares entre si. Os valores originados (um mais alto e um mais baixo) são expressos em um coeficiente de estabilidade do implante (ISQ) que varia de 1 a 100. Quanto maior for o ISQ, maior a estabilidade do implante (SENNERBY E MEREDITH, 2008).

Para cada implante avaliado foram realizadas quatro medições nas posições: superior, em direção a cabeça do animal; inferior, em direção ao pé do animal; externa, em direção a operadora e interna, em direção tibia oposta. Uma média dos valores obtidos foi realizada para cada implante.

### 4.6.2 Análise do torque de remoção

Registrou-se o torque de remoção por intermédio de um torquímetro manual digital<sup>30</sup>. O aparelho é de alta precisão (acurácia de  $\pm 1\%$ ) e possibilita a avaliação da força de cisalhamento da interface entre o osso e o implante. O modelo que foi utilizado é graduado com escala de 1 a 20 Kgf.cm, correspondente a 9,8 a 196 N.cm. O pico máximo de torque de remoção necessário para o rompimento desta interface foi registrado.

---

<sup>29</sup> Osstell Mentor™, Data Manager-Integration Diagnostics, Gothenburg, Suécia

<sup>30</sup> 20 STC, Tohnichi America Corp., USA

### 4.6.3 Análise estatística

As análises dos dados obtidos foram realizadas utilizando o programa SPSS<sup>31</sup>. O teste de *Shapiro-Wilk* testou a normalidade dos dados. Para variáveis com distribuição normal foi aplicado o Teste *T Student*. Para verificar a correlação entre a análise da frequência de ressonância e o torque de remoção utilizou-se o teste de *Pearson*. O nível de significância estabelecido foi de 5% e o *p* utilizado foi o bicaudal.

---

<sup>31</sup> SPSS, versão 13.0, Inc., Chicago, IL, USA

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Avaliação da Frequência de Ressonância

Os valores médios das frequências de ressonância obtidos, expressos em ISQ, estão listados no Apêndice B.

A Tabela 1 representa as médias, desvios padrão, mínimos, medianas e máximos de ISQ nos grupos 1 e 2, nos Dias 0 e 126.

**Tabela 1- Estatística descritiva dos valores da frequência de ressonância, em ISQ.**

Grupo	Dia	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	<i>p</i>
1	0	8	47,3*	5,0	40	47	56	0,0368
	126	8	56,4**	6,4	47	56,5	66	
2	0	8	45,0*	5,6	34	46	53	0,0106
	126	8	55,1**	6,0	45	56	64	

(\**p*= 0,49 e \*\**p*= 0,37)

Pode-se observar que houve um aumento nos valores das médias de ISQ dezoito semanas após a instalação dos implantes tanto no grupo 1 quanto no grupo 2. O teste *T Student* demonstrou que os dois grupos tiveram diferença estatisticamente significativa (grupo 1 *p*= 0,0368; grupo 2 *p*= 0,0106).

Na análise da estabilidade primária (Dia 0) entre os grupos o teste *T Student* não demonstrou diferença estatística (*p*\*=0,49). Da mesma maneira, a análise da estabilidade secundária (Dia 126) entre os grupos também não demonstrou diferença estatisticamente significativa (*p*\*\*=0,37), segundo o teste *T Student* (Tabela 1).

Realizou-se uma média das diferenças entre os valores brutos do ISQ (Dia 126 – Dia 0) de cada grupo demonstrando o ganho de estabilidade nos grupos. Os dados obtidos podem ser visualizados na Tabela 2. O teste *T Student* não demonstrou diferença estatisticamente significativa (*p*= 0,79).

**Tabela 2- Estatística descritiva do ganho de estabilidade intergrupo, em ISQ.**

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	8	9,13	10,03	-4	8,5	20	0,79
<b>2</b>	8	10,13	8,29	-3	8,5	23	

### **5.2 Avaliação do Torque de Remoção**

Os valores do torque de remoção obtidos em Kgf.cm foram convertidos em N.cm (1 Kgf.cm= 9,80 N.cm) e estão listados no Apêndice C. A Tabela 3 representa as médias, desvios padrão, mínimos, medianas e máximos dos torques obtidos nos grupos 1 e 2, no Dia 126.

**Tabela 3: Estatística descritiva dos valores do torque de remoção, expressos em N.cm**

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	8	102,68	15,74	75,32	104,45	118,46	0,0341
<b>2</b>	8	90,19	15,16	71,59	89,47	116,90	

O teste *T Student* demonstrou que há diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ( $p= 0,0341$ ).

### **5.3 Correlação entre os métodos de avaliação**

Não foi encontrada correlação estatisticamente significativa entre a frequência de ressonância (estabilidade secundária) e o torque de remoção tendo o Coeficiente de *Pearson* para o grupo 1  $r= -0,3392$  e  $p= 0,4110$  e para o grupo 2  $r= -0,4082$  e  $p= 0,3153$ .

## 6. DISCUSSÃO

O uso clínico de enxertos ósseos alógenos vem aumentando nos últimos anos. Segundo estatísticas da Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos, no ano de 2008 foram utilizados 1.827 tecidos ósseos por dentistas credenciados e de janeiro a junho do presente ano, este número já chega a 5.703 (RBT, 2008; RBT, 2009). Com o estabelecimento dos bancos de tecidos e de normas para o seu funcionamento, as desvantagens que envolvem o uso dos aloenxertos, como o risco da transmissão de doenças e o potencial de antigenicidade, têm sido amenizadas.

O risco infeccioso pode ser diminuído por meio de testes sorológicos dos doadores, descarte de material que produza cultura bacteriológica positiva, manipulação do enxerto sob condições assépticas e esterilização. A obtenção do enxerto de doadores vivos permite testes que anulam os falso-negativos da janela imunológica de doenças e patógenos atualmente conhecidos. Quando a captação é em cadáveres e os protocolos da AATB são seguidos, o risco de contaminação pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), por exemplo, para os transplantes ósseos é de 1: 1.600.000. Para fins de comparação, a transfusão sanguínea apresenta risco de transmissão do HIV em torno de 1: 450.000 (BETZ, 2002). Entretanto, há relato de transmissão do HIV com o uso de aloenxertos frescos e congelados (SIMONDS *et al.*, 1992).

O processamento reduz, mas não elimina a antigenicidade dos enxertos alógenos. O processo de congelamento a  $-80^{\circ}\text{C}$  diminui de forma considerável as respostas imunes do hospedeiro, preservando as propriedades biomecânicas e osteoindutivas do enxerto. As respostas imunológicas, por sua vez, retardam o desenvolvimento da vascularização do enxerto causando um prolongamento no tempo de incorporação destes (BETZ, 2002; FRIEDLAENDER, 1987).

Apesar de todas as questões explicitadas acima, o osso alógeno fresco e congelado se mostrou neste estudo uma alternativa viável para as reconstruções *onlay* em áreas que serão reabilitadas com implantes osseointegrados. Neste experimento, não ocorreu perda de nenhum dos enxertos avaliados corroborando com o trabalho de Contar *et al.* (2009). Além disso, não se teve nenhuma das complicações relatadas por outros autores como perda do enxerto, infecção, deiscência de sutura, falha na osseointegração dos implantes, exposição precoce do

bloco (BARONE *et al.*, 2009; CARINCI *et al.*, 2009; KONDELL, MATTSSON e ASTRAND, 1996; LEONETTI e KOUP, 2003). Aparentemente, tais intercorrências estão relacionadas a traumas e dificuldades de fechamento da ferida cirúrgica e não à natureza alógena do enxerto. A espessura dos blocos utilizados em humanos é maior do que os usados nesta pesquisa podendo levar a complicações no pós-operatório. As suturas realizadas em dois planos (muscular e pele) nas tíbias dos coelhos contrastam com a fina mucosa que reveste o tecido bucal, fato este que pode ter colaborado para o alto índice de êxito dos enxertos.

Durante muito tempo se pesquisou o enxerto alógeno fresco e congelado na Ortopedia. Na Odontologia, entretanto, poucos artigos relatam o uso dos aloenxertos nas reconstruções do processo alveolar, sendo que a maioria destes são relatos de casos evidenciando o sucesso clínico das reabilitações com implantes osseointegrados. Embora com períodos de acompanhamentos curtos, a taxa de sucesso dos implantes relatada nestes artigos é igual a de implantes instalados em área não enxertadas e com boa densidade óssea (BARONE *et al.*, 2009; CARINCI *et al.*, 2009; CONTAR *et al.*, 2009; KONDELL, MATTSSON e ASTRAND, 1996; LEONETTI e KOUP, 2003; VISCIONI *et al.*, 2009).

Neste sentido, o presente trabalho estudou a estabilidade dos implantes instalados no momento cirúrgico tardio e no imediato em aloenxertos frescos e congelados, através da análise da frequência de ressonância. Obteve-se um aumento dos valores de ISQ, 18 semanas após a instalação dos implantes tanto no grupo 1 como no 2, como pôde ser observado na Tabela 1. Este fato está em concordância com os trabalhos *in vivo* e *in vitro* que utilizaram a AFR como método de avaliação da estabilidade implantar, e é atribuído ao aumento da ancoragem óssea conseguida através da remodelação e maturação da interface entre osso e o implante com o passar do tempo, fato este conhecido como estabilidade secundária (FRIBERG *et al.*, 1999b; MEREDITH, ALLEYNE e CAWLEY, 1996; MEREDITH *et al.*, 1997a; MEREDITH *et al.*, 1997b; RASMUSSEN *et al.*, 1999b; SJÖSTROM *et al.*, 2005).

Um dos fatores que leva ao sucesso na osseointegração é a obtenção da estabilidade no momento da instalação do implante (ALBREKTSSON e ZARB, 1993; SENNERBY e MEREDITH, 2008). Na Implantodontia, a ancoragem bicortical sempre que possível deve ser alcançada clinicamente porque gera uma maior estabilidade primária. Baseado neste princípio travou-se os implantes nas duas

corticais. Segundo o estudo de Pattijn *et al.* (2006), a AFR não é sensível a mudanças da dureza óssea na ancoragem bicortical. Desta forma, justificam-se os valores tão próximos de ISQ nos dois grupos estudados. Rasmusson *et al.* (1999a) utilizaram o unicorticalismo e esta pode ser uma explicação para maiores valores de estabilidade primária alcançados na técnica tardia de instalação dos implantes obtidos por esses autores.

Outro fator que interfere na estabilidade primária é a técnica cirúrgica utilizada (MEREDITH, 1998). Como o leito receptor dos dois grupos foi preparado com o mesmo diâmetro de broca (3,15 mm) e no preparo do enxerto do grupo da instalação imediata utilizamos uma broca de maior diâmetro (3,25 mm), para que este enxerto não trincasse na instalação, pressupõe-se que a tensão gerada na cortical óssea foi a mesma nos dois grupos e por isso valores tão próximos na estabilidade primária foram obtidos.

O presente estudo observou valores próximos de ISQ, nos dois grupos, 18 semanas após a instalação dos implantes. Esses resultados estão em concordância com Friberg *et al.* (1999a) que relataram que, em longo prazo, os implantes atingem valores de estabilidade similar independentemente da densidade óssea presente no momento da instalação. Ao contrário deste trabalho, Rasmusson *et al.* (1999a) encontraram valores mais altos de estabilidade final na técnica tardia, em todos os períodos de tempos analisados.

É importante o leitor notar, que Rasmusson *et al.* (1999a) compararam pontualmente as diferenças entre as estabilidades primária e secundária nos tempos zero, quatro, oito, 16 e 24 semanas. Sabendo que a estabilidade primária era estatisticamente diferente entre os grupos, os autores deveriam ter comparado o ganho da estabilidade secundária em relação à primária, nos diversos tempos. Caso isso tivesse sido realizado, os autores poderiam ter se surpreendido com o resultado antagônico de não significância estatística.

Entretanto, quando se analisou o resultado obtido com o torque de remoção, a discussão tomou um novo rumo. O contra torque mensura a força de cisalhamento para rompimento da interface entre osso e implante. Para a mesma geometria e de topografia dos implantes, o torque de remoção determina o contato entre o osso e o implante, predizendo a osseointegração (IVANOFF *et al.*, 1997; JOHANSSON e ALBREKTSSON, 1987).

No grupo tardio, obteve-se uma média do torque de remoção de  $102,68 \pm 15,74$  N.cm enquanto que no grupo imediato, os valores foram  $90,19 \pm 15,16$  N.cm (Tabela 3), com diferença estatisticamente significativa ( $p= 0,0341$ ). Rasmusson *et al.* (1999a) não encontraram diferença estatística no torque de remoção entre as duas técnicas de instalação dos implantes, embora valores mais altos no grupo tardio fossem encontrados. De acordo com Ueda *et al.* (1991), os valores do torque de remoção são maiores no bicorticalismo do que no monocorticalismo, sendo essa uma explicação para valores médios de 102,68 N.cm encontrado neste estudo contrariamente a 61,8 N.cm observado pelos referidos autores.

Outro fato a ser levado em consideração é o tratamento de superfície, a conformação e o diâmetro dos implantes. Os implantes utilizados nesta pesquisa foram cilíndricos e de superfície tratada. É indiscutível que o tratamento de superfície melhora o potencial biomecânico do implante, aumentando o contato da interface entre o osso e o implante (CARLSSON *et al.*, 1988; CHO e PARK, 2003; FERNANDES *et al.*, 2007; KLOKKEVOLD *et al.*, 1997; KLOKKEVOLD *et al.*, 2001). Da mesma maneira, implantes cilíndricos aumentam a força do contra torque (BROUWERS *et al.*, 2009).

A falta de correlação estatística entre os métodos de análise utilizados foi observada neste estudo e no trabalho de Brouwers *et al.* (2009) demonstrando que estas duas formas de análise não apresentam uma relação linear.

Com base nos resultados obtidos neste trabalho experimental, considerou-se que a instalação de implantes em enxertos alógenos frescos e congelados pode ser realizada nos dois momentos estudados. A estabilidade primária similar e o aumento da estabilidade observadas nos dois grupos é um indício de que tanto a instalação tardia quanto a imediata de implantes nos aloenxertos são técnicas cirúrgicas passíveis de se aplicarem clinicamente.

O valor de torque aumentado no grupo tardio indica alguma forma de reparação do enxerto ao redor dos implantes, contribuindo para o aumento da resistência à força de cisalhamento. Os resultados dirimem algumas dúvidas acerca das nuances do processo reparativo. Duas hipóteses podem ser formuladas. Na primeira, como o grupo tardio tem 84 dias a mais de reparação, o aloenxerto estaria muito mais vascularizado e celularizado ao final do experimento (30 semanas= 210 dias) do que no grupo imediato que tem 126 dias de reparação, causando uma união mais estável no grupo tardio (osseointegração?). Uma segunda hipótese seria que

na instalação do implante no enxerto tardio (84 dias após a reparação) existiria um leito receptor mais propício para a integração da superfície do implante com um maior estímulo e movimentação de células, a saber: osteoclastos, osteoblastos, macrófagos, células endoteliais. As análises histológicas e histomorfométricas podem elucidar esta questão a fim de aclarar qual hipótese seria mais verdadeira ou se a realidade consiste em uma mescla das duas hipóteses.

## 7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A estabilidade secundária foi maior do que a estabilidade primária nos implantes instalados tanto no momento cirúrgico tardio quanto no imediato em enxertos alógenos frescos e congelados em tíbias de coelhos, através da análise da frequência de ressonância.
- A análise da frequência de ressonância não demonstrou diferença entre a instalação tardia e imediata dos implantes em enxertos alógenos frescos e congelados, em tíbias de coelhos.
- Os implantes instalados tardiamente em enxertos alógenos frescos e congelados tiveram um maior valor no torque de remoção do que os instalados simultaneamente sendo esta diferença estatisticamente significativa.

## REFERÊNCIAS\*

ABRAHAMSSON, I. *et al.* Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. **Clin Oral Implants Res**, v.15, n.4, Aug, p.381-92, 2004.

ABRAHAMSSON, I., LINDER, E. e LANG, N.P. Implant stability in relation to osseointegration: an experimental study in the labrador dog. **Clin Oral Implants Res**, v.20, n.3, Mar, p.313-8, 2009.

ADELL, R. *et al.* Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.5, n.4, p.347-59, 1990.

AGHALOO, T.L. e MOY, P.K. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.22 Suppl, p.49-70, 2007.

ALBREKTSSON, T. e ZARB, G.A. Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. **Int J Prosthodont**, v.6, n.2, Mar-Apr, p.95-105, 1993.

AL-NAWAS, B. *et al.* Comparative histomorphometry and resonance frequency analysis of implants with moderately rough surfaces in a loaded animal model. **Clin Oral Implants Res**, v.19, n.1, Jan, p.1-8, 2008.

ATSUMI, M., PARK, S.H. e WANG, H.L. Methods used to assess implant stability: current status. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.22, n.5, Sep-Oct, p.743-54, 2007.

BAPTISTA, A.D. *et al.* Estudo histológico dos enxertos ósseos homólogos humanos (a histological study of human allografts). **Acta Ortop Bras**, v.11, n.4, p. 220-224, 2003.

BARONE, A. *et al.* Deep-frozen allogeneic onlay bone grafts for reconstruction of atrophic maxillary alveolar ridges: a preliminary study. **J Oral Maxillofac Surg**, v.67, n.6, Jun, p.1300-6, 2009.

BETZ, R.R. Limitations of autograft and allograft: new synthetic solutions. **Orthopedics**, v.25, n.5, Suppl May, p.561-70, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id\\_area=1004](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=1004). Acesso em: 15/07/2009

BROUWERS, J. E. *et al.* Reliability and validity of the instrumental assessment of implant stability in dry human mandibles. **J Oral Rehabil**, v.36, n.4, Apr, p.279-83, 2009.

---

\* Referências segundo normas ABNT NBR-6023/02.

BURCHARDT, H. The biology of bone graft repair. **Clin Orthop Relat Res**, n.174, Apr, p.28-42, 1983.

CAMPBELL, C.J. *et al.* Experimental study of the fate of bone grafts. **J Bone Joint Surg Am**, v.35-A, n.2, Apr, p.332-46, 1953.

CARINCI, F. *et al.* Mandibles grafted with fresh-frozen bone: an evaluation of implant outcome. **Implant Dent**, v.18, n.1, Feb, p.86-95, 2009.

CARLSSON, L. *et al.* Removal torques for polished and rough titanium implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.3, n.1, p.21-4, 1988.

CHASE, S.W. e HERNDON, C.H. The fate of autogenous and homogenous bone grafts. **J Bone Joint Surg Am**, v.37-A, n.4, Jul, p.809-41, 1955.

CHO, S.A. e PARK, K.T. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. **Biomaterials**, v.24, n.20, Sep, p.3611-7, 2003.

CONTAR, C.M. *et al.* Maxillary ridge augmentation with fresh-frozen bone allografts. **J Oral Maxillofac Surg**, v.67, n.6, Jun, p.1280-5, 2009.

DASSO, G., FERNANDEZ, M.S. e ARIAS, J.L. Reparación ósea mediante aloimplantes sometidos a diferentes métodos de conservación en conejos. **Arch Med Vet**, v.30, n.2, 1998.

DE BOER, H.H. The history of bone grafts. **Clin Orthop Relat Res**, n.226, Jan, p.292-8, 1988.

DE RIU, G. *et al.* Histology and stability study of cortical bone graft influence on titanium implants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.103, n.4, Apr, p.e1-7, 2007.

FERNANDES, E.L. *et al.* Primary stability of turned and acid-etched screw-type implants: a removal torque and histomorphometric study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.22, n.6, Nov-Dec, p.886-92, 2007.

FRIBERG, B. *et al.* A comparison between cutting torque and resonance frequency measurements of maxillary implants. A 20-month clinical study. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.28, n.4, Aug, p.297-303, 1999a.

FRIBERG, B. *et al.* Stability measurements of one-stage Branemark implants during healing in mandibles. A clinical resonance frequency analysis study. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.28, n.4, Aug, p.266-72, 1999b.

FRIEDLAENDER, G.E. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. **J Bone Joint Surg Am**, v.69, n.5, Jun, p.786-90, 1987.

GALEA, G. e KEARNEY, J.N. Clinical effectiveness of processed and unprocessed bone. **Transfus Med**, v.15, n.3, Jun, p.165-74, 2005.

GLAUSER, R. *et al.* Resonance frequency analysis of implants subjected to immediate or early functional occlusal loading. Successful vs. failing implants. **Clin Oral Implants Res**, v.15, n.4, Aug, p.428-34, 2004.

GOLDBERG, V.M. *et al.* Improved acceptance of frozen bone allografts in genetically mismatched dogs by immunosuppression. **J Bone Joint Surg Am**, v.66, n.6, Jul, p.937-50, 1984.

HEIPLE, K.G., CHASE, S.W. e HERNDON, C.H. A Comparative Study of the Healing Process Following Different Types of Bone Transplantation. **J Bone Joint Surg Am**, v.45, Dec, p.1593-616, 1963.

INCLÁN, A. The use of preserved bone graft in orthopaedic surgery. **J Bone and Joint Surg**, v.24, p.81-96, 1942.

ITO, Y. *et al.* Relevance of resonance frequency analysis to evaluate dental implant stability: simulation and histomorphometrical animal experiments. **Clin Oral Implants Res**, v.19, n.1, Jan, p.9-14, 2008.

IVANOFF, C.J. *et al.* Influence of implant diameters on the integration of screw implants. An experimental study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.26, n.2, Apr, p.141-8, 1997.

JOHANSSON, C. e ALBREKTSSON, T. Integration of screw implants in the rabbit: a 1-year follow-up of removal torque of titanium implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.2, n.2, Spring, p.69-75. 1987.

KINGMA, M.J. e HAMPE, J.F. The behaviour of blood vessels after experimental transplantation of bone. **J Bone Joint Surg Br**, v.46, Feb, p.141-50, 1964.

KLOKKEVOLD, P.R. *et al.* Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. **Clin Oral Implants Res**, v.8, n.6, Dec, p.442-7, 1997.

KLOKKEVOLD, P.R. *et al.* Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium: a torque removal study in the rabbit. **Clin Oral Implants Res**, v.12, n.4, Aug, p.350-7. 2001.

KONDELL, P.A., MATTSSON, T. e ASTRAND, P. Immunological responses to maxillary on-lay allogeneic bone grafts. **Clin Oral Implants Res**, v.7, n.4, Dec, p.373-7, 1996.

LAITINEN, M., KIVIKARI, R. e HIRN, M. Lipid oxidation may reduce the quality of a fresh-frozen bone allograft. Is the approved storage temperature too high? **Acta Orthop**, v.77, n.3, Jun, p.418-21, 2006.

LEONETTI, J.A. e KOUP, R. Localized maxillary ridge augmentation with a block allograft for dental implant placement: case reports. **Implant Dent**, v.12, n.3, p.217-26, 2003.

LUNDGREN, S. *et al.* Simultaneous or delayed placement of titanium implants in free autogenous iliac bone grafts. Histological analysis of the bone graft-titanium interface in 10 consecutive patients. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.28, n.1, Feb, p.31-7, 1999.

MACEDO, L.G.S. **Avaliação do grau de formação e reabsorção do osso alógeno fresco congelado em procedimento de aumento vertical de rebordo.** (Dissertação). Mestrado em Implantodontia, Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2006. 104 p.

MEREDITH, N. Assessment of Implant Stability as a Prognostic Determinant. **Int J Prosth**, v.11, n.5, p.491-501. 1998.

MEREDITH, N., ALLEYNE, D. e CAWLEY, P. Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. **Clin Oral Implants Res**, v.7, n.3, Sep, p.261-7. 1996.

MEREDITH, N. *et al.* Resonance frequency measurements of implant stability in vivo. A cross-sectional and longitudinal study of resonance frequency measurements on implants in the edentulous and partially dentate maxilla. **Clin Oral Implants Res**, v.8, n.3, Jun, p.226-33. 1997a.

MEREDITH, N. *et al.* The application of resonance frequency measurements to study the stability of titanium implants during healing in the rabbit tibia. **Clin Oral Implants Res**, v.8, n.3, Jun, p.234-43. 1997b.

MIYAMOTO, I. *et al.* Influence of cortical bone thickness and implant length on implant stability at the time of surgery--clinical, prospective, biomechanical, and imaging study. **Bone**, v.37, n.6, Dec, p.776-80, 2005.

OZKAN, Y. *et al.* Resonance frequency analysis assessment of implant stability in labial onlay grafted posterior mandibles: a pilot clinical study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.22, n.2, Mar-Apr, p.235-42, 2007.

PAN, R.L. e YING, S.H. Mechanical properties of bone-implant interface: an in vitro model for the comparison of stability parameters affecting various stages during osseointegration for dental implant. **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc**, v.7, p.5050-2, 2004.

PATTIJN, V.C. *et al.* The resonance frequencies and mode shapes of dental implants: Rigid body behavior versus bending behavior. A numerical approach. **J Biomech**, v.39, n.5, p.939-4, 2006.

PELEGRINE, A.A. **Análise comparativa entre enxerto ósseo autógeno fresco e homogêneo fresco congelado, associados ou não à medula óssea autóloga: estudo clínico e histomorfométrico em coelhos.** (Dissertação). Mestrado em Implantodontia, Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2006. 116 p.

PERROTT, D.H., SMITH, R.A. e KABAN, L.B. The use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.21, n.5, Oct, p.260-5, 1992.

PIMENTEL, A.C. **Utilização de osso humano fresco congelado na reconstrução do processo alveolar atrófico na região posterior de mandíbula em pacientes parcialmente edêntulos.** (Dissertação). Mestrado em Implantodontia, Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2007. 143 p.

QUERIDO, M.R.M. **Avaliação clínica e histológica da formação óssea na área enxertada com bloco de osso autógeno de crista ilíaca e osso alógeno fresco congelado em coelhos.** (Dissertação). Mestrado em Implantodontia, Universidade de Santo Amaro, São Paulo, 2007. 79 p.

RASMUSSEN, L. *et al.* Stability assessments and histology of titanium implants placed simultaneously with autogenous onlay bone in the rabbit tibia. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.27, n.3, Jun, p.229-35, 1998.

RASMUSSEN, L. *et al.* The influence of simultaneous versus delayed placement on the stability of titanium implants in onlay bone grafts. A histologic and biomechanic study in the rabbit. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.28, n.3, Jun, p.224-31, 1999a.

RASMUSSEN, L. *et al.* Implant stability measurements using resonance frequency analysis in the grafted maxilla: a cross-sectional pilot study. **Clin Implant Dent Relat Res**, v.1, n.2, p.70-4, 1999b.

RBT, **Registro Brasileiro de Transplante.** Ano XIV, n.2, Jan/Dez, 2008. Disponível em:[http://www.abto.org.br/abtoV02/portugues/populacao/rbt/anoXIV\\_n2/index.aspx?idCategoria=2](http://www.abto.org.br/abtoV02/portugues/populacao/rbt/anoXIV_n2/index.aspx?idCategoria=2). Acesso em 15/07/2009.

RBT, **Registro Brasileiro de Transplante.** Ano XV, n.2, Jan/Jun, 2009. Disponível em:[http://www.abto.org.br/abtoV02/portugues/populacao/rbt/anoXV\\_n2/index.aspx?idCategoria=2](http://www.abto.org.br/abtoV02/portugues/populacao/rbt/anoXV_n2/index.aspx?idCategoria=2). Acesso em 15/07/2009.

ROBERTS, W.E. *et al.* Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. **Am J Orthod**, v.86, n.2, Aug, p.95-111, 1984.

SENNERBY, L. e MEREDITH, N. Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. **Periodontol 2000**, v.47, p.51-66, 2008.

SHIROTA, T. *et al.* An experimental study of healing around hydroxylapatite implants installed with autogenous iliac bone grafts for jaw reconstruction. **J Oral Maxillofac Surg**, v.49, n.12, Dez, p.1310-5, 1991.

SIMONDS, R.J. *et al.* Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor. **N Engl J Med**, v.326, n.11, Mar 12, p.726-32, 1992.

SIMPSON, D. *et al.* Viable cells survive in fresh frozen human bone allografts. **Acta Orthop**, v.78, n.1, Feb, p.26-30, 2007.

SJOSTROM, M. *et al.* Monitoring of implant stability in grafted bone using resonance frequency analysis. A clinical study from implant placement to 6 months of loading. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.34, n.1, Jan, p.45-51, 2005.

SULLIVAN, D.Y. *et al.* The reverse-torque test: a clinical report. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.11, n.2, Mar-Apr, p.179-85, 1996.

TOLMAN, D.E. Reconstructive procedures with endosseous implants in grafted bone: a review of the literature. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.10, n.3, May-Jun, p.275-94, 1995.

TURKYILMAZ, I. *et al.* Biomechanical aspects of primary implant stability: a human cadaver study. **Clin Implant Dent Relat Res**, v.11, n.2, Jun, p.113-9, 2009.

TURNER, T.C. *et al.* An experimental comparison of freeze-dried and frozen cortical bonegraft healing. **J Bone Joint Surg Am**, v.37-A, n.6, Dec, p.1197-205, 1955.

UEDA, M. *et al.* Relationship between insertion torque and removal torque analyzed in fresh temporal bone. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.6, n.4, p.442-7, 1991.

VISCIONI, A. *et al.* Retrospective study of standard-diameter implants inserted into allografts. **J Oral Maxillofac Surg**, v.67, n.2, Feb, p.387-93, 2009.

WEYTS, F.A. *et al.* Living cells in 1 of 2 frozen femoral heads. **Acta Orthop Scand**, v.74, n.6, Dec, p.661-4, 2003.

WILSON, P.D. Experiences with a bone bank. **Ann Surg**, v.126, n.6, Dec, p.932-46, 1947.

YANG, G.L. *et al.* Bone responses to titanium implants surface-roughened by sandblasted and double etched treatments in a rabbit model. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.106, n.4, Oct, p.516-24, 2008.

## ANEXO A: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP



UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
Comitê de Ética em Pesquisas  
Registro CONEP n.º 306  
Aprovado em 16/05/2006

**PARECER N.º 057/2008**

**REGISTRO CEP UNISA N.º 095/08**

**Projeto de Pesquisa:** "Osseointegração de implantes em enxertos alógenos em tíbias de coelhos."

**Pesquisadores Responsáveis:** Prof. Dr. Wilson R. Sendyk e  
Prof. Ricardo Schmitutz Jahn

Pós-Graduandas: Marna Costa R. Cardoso  
e Érica Hohlenwerger Fraguas

**Faculdade:** Odontologia/Implantodontia

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, cabe a seguinte consideração:

As informações apresentadas atendem aos aspectos fundamentais da Lei 6.638, de 8 de maio de 1979, que estabelece as Normas para Prática Didáticas - Científica da Vivisseção de Animais e os Princípios Internacionais para a pesquisa Biomédica envolvendo Animais.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa (**CEP-UNISA**), de acordo com as atribuições da Resolução 196/96, manifesta-se pela **APROVAÇÃO** do projeto "Osseointegração de implantes em enxertos alógenos em tíbias de coelhos."

São Paulo, 25 de Junho de 2008.

**PROF. DR. CARLOS DE SOUSA LUCCI**  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa  
UNISA - Universidade de Santo Amaro

APÊNDICE A: Ficha de coleta dos dados

Coelho: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_

Data 1 Cirurgia (Dia -84): \_\_\_\_\_

Data 2 Cirurgia (Dia 0): \_\_\_\_\_

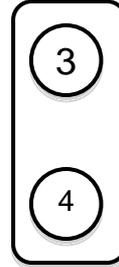
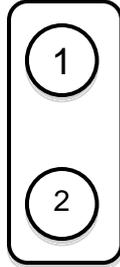
Data do Sacrifício (Dia 126): \_\_\_\_\_

Tibia direita: \_\_\_\_\_

Tibia esquerda: \_\_\_\_\_

I: Imediata

T: Tardio



Frequência de Ressonância

		Externa	Inferior	Interna	Superior	Media
Dia 0	1					
	3					
Dia 126	1					
	3					

Torque de remoção

Dia 126	2	4

OBS: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

APÊNDICE B – Médias dos valores das frequências de ressonância obtidos,  
em ISQ.

<b>Coelhos</b>	<b>Grupo 1/Dia 0</b>	<b>Grupo 1/Dia 126</b>	<b>Grupo 2/Dia 0</b>	<b>Grupo 2/Dia 126</b>
<b>1</b>	49	54	34	57
<b>2</b>	56	53	43	50
<b>3</b>	40	60	46	64
<b>4</b>	47	66	46	61
<b>5</b>	46	50	42	52
<b>6</b>	47	59	48	55
<b>7</b>	42	62	53	57
<b>8</b>	51	47	48	45

## APÊNDICE C - Valores do Torque de Remoção expressos em N.cm

<b>Coelhos</b>	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>
1	117,48	99,83
2	102,19	71,59
3	85,61	83,06
4	99,04	86,16
5	116,70	98,65
6	75,32	72,57
7	118,46	92,77
8	106,70	116,90