

COM APLICACAO TOPICA DE HORMONIO  
O INSTALADOS EM TIBIAS DE COELHOS



B0123986

17.69 K79a 2007 ex.1

ANTONIO GONCALVES AMARO

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

FRANCISCO KOBAYASHI

INFLUENCIA DA REPARACAO OSSEA AO REDOR DOS  
FURACÕES COM APLICACAO TOPICA DE HORMÔNIO DO  
TIPO 1,25-DHCC EM TIBIAS DE COELHOS

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**WANDER CÉLIO KOBAYASHI**

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA AO REDOR DOS  
IMPLANTES COM APLICAÇÃO TÓPICA DE HORMÔNIO DO  
CRESCIMENTO INSTALADOS EM TÍBIAS DE COELHOS**

**SÃO PAULO  
2007**

**WANDER CÉLIO KOBAYASHI**

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA AO REDOR DOS  
IMPLANTES COM APLICAÇÃO TÓPICA DE HORMÔNIO DO  
CRESCIMENTO INSTALADOS EM TÍBIAS DE COELHOS**

Dissertação apresentada à Universidade de Santo Amaro, para obtenção do título de mestre, pelo programa de Pós-graduação em Odontologia. Área de Concentração em Implantodontia, sob orientação do Prof. Dr. Sérgio Luis de Miranda.

**SÃO PAULO  
2007**

B. 3012 5186  
Class. 374.4  
Cutier 1978  
Patri nº  
Tipo entrada  
Ncta Fiscal  
Data rec. / /  
Preço  
Origem

Ficha Catalográfica elaborada pela  
Biblioteca Dr. Milton Saldani Afonso – Campus I

K79a Kobayashi, Wander Célio  
Análise histomorfológica da reparação óssea ao redor dos implantes com aplicação tópica do hormônio do crescimento instalador em tíbias de coelhos / Wander Célio Kobayashi. Orientação do Prof. Dr. Sérgio Luis de Miranda. – São Paulo : 2007.  
80p.  
Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em Implantodontia. Faculdade de Odontologia. Universidade de Santo Amaro.  
1. Implante 2. Hormônio do crescimento 3. Histomorfológico I. Título II. Orientador

Autorizo a impressão parcial ou total do meu trabalho acadêmico para fins de divulgação científica.

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_.

Wanda C Kobayashi  
Nome e Assinatura

WANDER CÉLIO KOBAYASHI

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DA REPARAÇÃO ÓSSEA AO REDOR DOS IMPLANTES  
COM APLICAÇÃO TÓPICA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO INSTALADOS EM  
TÍBIAS DE COELHOS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação, nível mestrado, da Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de concentração: Implantodontia.

Aprovado: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Sergio Luis de Miranda

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Manuel Simões

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Sigmar Mello Rode

CONCEITO FINAL: \_\_\_\_\_

OBSERVAÇÃO: \_\_\_\_\_

## **Dedicatória**

Aos meus pais Akiko e Ciro pela dedicação e incentivo, para que eu pudesse realizar este objetivo.

Aos meus irmãos Eduardo e Cícero.

À minha filha Larissa que soube superar a minha ausência.

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Sérgio Luis de Miranda, pela sua dedicação e orientação para que este trabalho pudesse ser realizado.

Ao professor Dr. Wilson Roberto Sendyk por te proporcionado a oportunidade para que eu pudesse fazer o curso.

Ao Prof. Dr. Alfredo Gromaztk pela colaboração na realização da dissertação.

Aos professores do curso pela dedicação e paciência.

Aos amigos Odair Borghi, Karla Furtado e Ricardo Padilha Fortes, pela colaboração e apoio em meu trabalho.

Aos meus amigos de turma pela convivência e troca de informações, que muito contribuíram para o aprendizado.

Ao Departamento de Histologia da UNISA, em especial ao Prof. Dr. Nelson Villa e ao Prof. Márcio Faria pela colaboração na histologia.

À Professora de Medicina Veterinária, Dr<sup>a</sup>. Andréa Barbosa, pelo auxílio na sedação dos animais.

Aos alunos de Medicina Veterinária e funcionários pelos cuidados com os animais.

Aos funcionários da UNISA pela ajuda e colaboração durante todo o curso.

Aos amigos do curso de aperfeiçoamento em implantodontia do Centro de Qualificação 3i e da APCD – Saúde.

Ao amigo Paulo Yataro Kawakami pelo incentivo e pela confiança.

Ao Sr. Joaquim Caetano, presidente da BIOMET 3i do Brasil, pela doação dos materiais.

Ao Sr. Alexandre Cândido, gerente comercial da BIOMET 3i do Brasil.

Aos funcionários da BIOMET 3i do Brasil em especial aos amigos Gledson Lima Franca,  
Cassiano Fabrizio Duarte e Izabel Cristina Gonçalves.

À Solange Yumi Murakami pelas noites sem dormir.

Ao pessoal do consultório, Luciana, Fernando, Denis e Laurinete pela paciência.

## **Epígrafe**

“O tempo todo, vemos pessoas e organizações desempenhando apenas uma pequena parte de seu potencial de sucesso, ou falhando totalmente, só porque negligenciam o elemento humano nos negócios e na vida”.

*John C. Maxwell*

## RESUMO

A extensão da interface osso-implante está diretamente relacionada com o aumento da rugosidade da superfície do implante. Métodos para alterar a topografia local e/ou o estado químico da superfície do implante podem propiciar um importante caminho para as pesquisas e assim melhorar as propriedades de osseointegração dos materiais.

Estudos recentes demonstraram que o Hormônio do Crescimento (GH) estimula o crescimento da cartilagem, do tecido ósseo e de outros tecidos pelo aumento preferencialmente do número de células.

Tendo em vista a propriedade de ação local do GH sobre o tecido ósseo, o objetivo desse estudo foi avaliar através de análise histomorfológica, se o uso tópico de GH melhora a reparação óssea ao redor dos implantes osseointegrados instalados em tíbias de coelhos.

Foram instalados 32 implantes Biomet 3i® com dimensões de 3,25 mm de diâmetro por 8,5 mm de comprimento. Os implantes foram instalados com auxílio de um torquímetro, aplicando-se força de torque de 20 Ncm.

Foram utilizados oito coelhos divididos em quatro grupos: A - (grupo teste): oito implantes com aplicação tópica de Hormônio do Crescimento recombinante humano (rhGH) e reabertura para avaliação histomorfológica aos 28 dias; A<sub>1</sub> - (grupo controle): oito implantes sem aplicação tópica de rhGH e reabertura para avaliação histomorfológica aos 28 dias; B - (grupo teste): oito implantes com rhGH e foram submetidos à reabertura para avaliação histomorfológica aos 56 dias; B<sub>1</sub> - (grupo

controle): oito implantes que não receberam rhGH e foram submetidos à reabertura para avaliação histomorfológica aos 56 dias.

Após 28 e 56 dias os coelhos foram sacrificados e imediatamente suas tíbias foram seccionadas. As peças foram desmineralizadas e os implantes removidos. As lâminas foram confeccionadas e avaliadas histomorfologicamente. Os resultados histológicos mostraram que a reparação óssea ao redor dos implantes no grupo A (teste de 28 dias) foi superior ao grupo B<sub>1</sub> (grupo controle); o mesmo ocorreu com o grupo B (teste de 56 dias) quando comparados com o grupo B<sub>1</sub> (controle de 56 dias). Pudemos observar ainda, que a reparação óssea no grupo A (teste de 28 dias) foi semelhante ao grupo B (teste de 56 dias) e superior ao grupo B<sub>1</sub> (controle de 56 dias).

Palavras-chave: Hormônio de Crescimento (GH), Histomorfológico, Implantes Dentários, Hormônio do Crescimento recombinante humano (rhGH).

## **ABSTRACT**

The extension of the bone-implant interface is directly associated with the roughness of the implant surface. Methods to alter the local topography and/or the implant surface's chemical state may provide an important path for research, and, thus, improve the materials' osseointegration features.

Recent studies have shown that Growth Hormone (GH) stimulates the growth of cartilage, bone tissue and other tissues by means of preferentially increasing the number of cells.

Looking forward that rhGH acts locally on bone tissue, the purpose of this study was to evaluate, through histomorphological analysis, whether the local use of GH improves bone repair around osseointegrated implants in rabbits' tibiae.

Thirty-two Biomet 3i® implants were placed, measuring 3.25mm in diameter x 8.5mm in length. The implants were placed with the aid of a torque gauge, by applying a torque force of 20 Ncm.

Eight rabbits were used, which were divided into four groups: A (test group): eight implants with local rhGH application and reopening for histomorphological assessment at 28 days; A<sub>1</sub> – (control group): eight implants without local rhGH application and reopening for histomorphological assessment at 28 days; B (test group): eight implants with rhGH, reopened for histomorphological assessment at 56 days; B<sub>1</sub> – (control group):

eight implants that did not receive rhGH and were reopened for histomorphological assessment at 56 days.

After 28 and 56 days, the rabbits were sacrificed and their tibiae were immediately sectioned. The sections were demineralized, and the implants were removed. The sheets were prepared and evaluated histomorphologically. The histological results showed that the bone repair around the implants of group A (28-day test) was higher than the one in group B<sub>1</sub> (control group); the same happened with group B (56-day test) when compared to group B<sub>1</sub> (56-day control). We were also able to observe that the bone repair in group A (28-day test) was similar to that in group B (56-day test) and higher than the one in group B<sub>1</sub> (56-day control).

Key-words: Growth Hormone (GH), Histomorphological, Dental Implant

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Jogo de fresas BIOMET 3i®.....	43
Figura 2 - Motor usado no experimento (BIOMET 3i®).....	44
Figura 3 – Tricotomia da região a ser operada.....	44
Figura 4 – Degermação com iodo-povidina 1%.....	45
Figura 5 – Incisão na pele.....	45
Figura 6 – Exposição do plano muscular.....	46
Figura 7 – Exposição da superfície óssea.....	46
Figura 8 – Fresa esférica (início das perfurações).....	47
Figura 9 – Marcação dos pontos de perfuração.....	47
Figura 10 – Fresa super-cortante.....	48
Figura 11 – Fresa piloto 2/3.....	48
Figura 12 – Macho de rosca.....	49
Figura 13 – Inserção do implante sem rhGH.....	49
Figura 14 – Implantes sem rhGH posicionados.....	50
Figura 15 – Dispersador com rhGH.....	50
Figura 16 – Implante sendo embebido com rhGH.....	51
Figura 17 – Implante com rhGH posicionado.....	51
Figura 18 – Sutura do plano muscular.....	52
Figura 19 – Sutura da pele.....	52
Figura 20 – Exposição dos implantes.....	53
Figura 21 – Secção da tíbia.....	53

Figura 22 – Peças sem o implante e seccionadas.....	54
Figura 23 – Grupo A (teste 28 dias) 40x HE.....	55
Figura 24 – Grupo A (teste 28 dias) 100x HE.....	56
Figura 25 – Grupo A (teste 28 dias) 400x HE.....	57
Figura 26 – Grupo A (teste 28 dias) 400x HE.....	58
Figura 27 – Grupo A (teste 28 dias) 40x HE.....	58
Figura 28 – Grupo A (teste 28 dias) 40x HE.....	59
Figura 29 – Grupo A (teste 28 dias) 100x HE.....	59
Figura 30 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 40x HE.....	60
Figura 31 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE.....	61
Figura 32 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 400x HE.....	62
Figura 33 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE.....	62
Figura 34 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 400x HE.....	63
Figura 35 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE.....	63
Figura 36 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 400x HE.....	64
Figura 37 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 40x HE.....	65
Figura 38 – Grupo A <sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE.....	65
Figura 39 – Grupo B (teste 56 dias) 40x HE.....	66
Figura 40 – Grupo B (teste 56 dias) 40x HE – Região cervical.....	67
Figura 41 – Grupo B (teste 56 dias) 100x HE – Região média.....	67
Figura 42 – Grupo B (teste 56 dias) 40x HE – Fundo do alvéolo.....	68
Figura 43 – Grupo B <sub>1</sub> (controle 56 dias) 40x tricrômico de Masson.....	69
Figura 44 – Grupo B <sub>1</sub> (controle 56 dias) 100x tricrômico de Masson.....	69
Figura 45 – Grupo B <sub>1</sub> (controle 56 dias) 100x tricrômico de Masson.....	70

Figura 46 – Grupo B<sub>1</sub> (controle 56 dias) 400x HE.....70

## LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 – Ciclo de remodelação óssea cortical.....	13
Tabela 2 – Curso de tempo do desenvolvimento da interface de um implante endosseio no osso cortical.....	13
Quadro 1 – Divisão dos grupos experimentais.....	41
Quadro 2 – Comparação dos resultados.....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ALP: Fosfatase alcalina

bhGH: Hormônio do crescimento bovino

DMO: Densidade mineral óssea

COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

COI: Contato osso-implante

DNA: Ácido desoxirribonucleico

ARD: Absorimetria radiológica de dupla energia (dual-energy x-ray absorptiometry)

g: Grama

GH: Hormônio do crescimento

Grã: Gramatura

Gy: Gray

HA: Hidroxiapatita

ICLAS: International Council of Laboratory Animal Science

IGFBP-3: Proteína tipo 3 ligadora de fator de crescimento semelhante à insulina

IGF-I: Fator de crescimento semelhante à insulina I

IM: Intramuscular

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial

Kg<sub>fcm</sub>: Quilograma - força centímetro

mg/kg/dia: Miligrama por quilograma por dia

mg/kg: Miligrama por quilograma

mg: Miligrama

ml: Mililitro

mm: Milímetro

MPA: Medicação pré-anestésica

Ncm: Newton centímetro

rhGH: Hormônio do crescimento humano recombinante

RNAm: Ácido ribonucleico mensageiro

RPM: Rotações por minuto

SLA: Jateamento de areia e condicionamento ácido

SNC: Sistema Nervoso Central

TPS: Plasma spray de titânio

U/l: Unidade por litro

UI/ml: Unidade Internacional por mililitro

UNISA: Universidade de Santo Amaro

UNITOX: Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	
2.1. Implantes Osseointegrados.....	03
2.2. Remodelação Óssea.....	11
2.3. Histologia do Tecido Ósseo.....	14
2.4. Fatores que Influenciam a Remodelação Óssea.....	16
2.5. Hormônio do Crescimento	
2.5.1. Histórico.....	21
2.5.2. Ação Local.....	28
<b>3. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODO</b>	
4.1. Seleção dos Animais.....	33
4.2. Material	
4.2.1. Material Permanente.....	34
4.2.2. Material de Consumo.....	35
4.3. Método	
4.3.1. Preparo dos Animais.....	36
4.3.2. Técnica Cirúrgica.....	37
4.3.3. Dinâmica do Experimento.....	38
4.3.4. Delineamento do Estudo.....	40
4.3.5. Análise Histológica.....	42

4.3.6. Seqüência de Fotos do Experimento.....	43
4.3.7. Seqüência de Fotos da Abertura.....	53

## **5. RESULTADOS**

5.1. Análise Histomorfológica.....	55
------------------------------------	----

<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>
--------------------------	-----------

<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>76</b>
--------------------------	-----------

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
-------------------------	-----------

<b>ANEXOS.....</b>	<b>82</b>
--------------------	-----------

## 1. INTRODUÇÃO

Embora tenha se atingido um alto grau de sucesso no tratamento com implantes osseointegrados, um pequeno índice de insucesso se faz presente, fazendo com que os pesquisadores passem a se preocupar com mudanças no desenho dos implantes, no tratamento de superfícies e pela busca de adaptações cada vez mais precisas e estáveis das conexões protéticas sobre esses implantes. Além de mudanças na estrutura dos implantes e de suas conexões, os pesquisadores se preocupam em estudar as alterações endógenas e exógenas que possam interferir de maneira significativa no processo de osseointegração dos implantes (LINDQUIST; CALSSON; JEMT, 1996; MERICSKE-STERN et al., 2001).

Alguns trabalhos procuram esclarecer as causas dos fracassos dos implantes osseointegrados, sugerindo muitas vezes que os fatores endógenos como a idade, saúde geral e hábitos do paciente e fatores exógenos relativos ao operador, biomateriais e qualidade óssea estão relacionados (STEENBERGHE et al., 2003).

Outras pesquisas foram realizadas no sentido de se avaliar a utilização de medicamentos e hormônios que pudessem atuar na melhoria da osseointegração (TRESGUERRES et al., 2005; TRESGUERRES et al., 2002; ARRIBA et al., 2001; IAKSSON; JANSSON; GAUSE, 1982).

As pesquisas com o Hormônio do Crescimento (GH) mostram que a administração local pode estimular o crescimento da largura da cartilagem epifiseal e o crescimento longitudinal do osso, mostrando que a administração de GH teve a capacidade de estimular o crescimento ósseo local (ISAKSSON et al., 1987).

O GH, como diz o próprio nome é responsável pelo crescimento da criança durante a fase de crescimento. Trata-se de uma proteína globular, com 191 aminoácidos em sua estrutura, produzida na parte anterior da glândula hipófise (GUYTON; HALL, 2002).

A administração local do hormônio do crescimento recombinante humano (rhGH) pode estimular as primeiras fases do processo de remodelação óssea, onde a resposta cortical e o contato osso-implante foi significativamente maior no grupo rhGH (TRESGUERRES et al., 2005).

Durante a colocação do implante, a administração local de rhGH induz reação periostal, transcortical e mineralização óssea ao redor da superfície do titânio (TRESGUERRES et al., 2002).

Em vista dos resultados encontrados, como a diminuição do tempo para a reparação óssea provocada pelo rhGH, os resultados apresentados na literatura e a possibilidade da aplicação clínica dessa droga em implantodontia, fomos levados a realizar esta pesquisa.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Implantes Osseointegrados

Thomas e Cook (1985) realizaram uma avaliação sistemática da mecânica e da histologia das variáveis do desenho dos implantes, que afetam a aposição óssea nos diferentes materiais biocompatíveis. As variáveis pesquisadas incluem módulo de elasticidade do material, textura e composição da superfície do material. Um total de 12 tipos de implantes foi avaliado, *in vivo*, através da colocação transcortical no fêmur de cachorros, por um período de 32 semanas. Após o sacrifício dos animais, foi aplicado um teste de remoção mecânica para determinar a força de contra-torque na interface osso-implante. Os resultados obtidos indicaram que nos implantes fixados por aposição óssea direta, as interfaces não foram significativamente afetadas pelo módulo de elasticidade ou pela composição da superfície do implante. Entretanto, a variação da textura da superfície afetou de maneira significativa a resposta na interface dos implantes. Para cada grupo de mesmo módulo de elasticidade, os implantes com superfície rugosa mostraram maior resistência que os implantes com superfície lisa. A avaliação histológica dos implantes demonstrou que implantes rugosos apresentaram aposição óssea direta, enquanto que implantes lisos exibiram presença de tecido fibrótico.

Considerando o papel preponderante que as características da superfície do implante têm na resposta reparacional, Baier e Meyer (1988) classificaram-nas em três

categorias: textura (ou rugosidade), carga (ou potencial elétrico) e química (normalmente descritos em valores de energia de superfície, p. ex.: tensão superficial). Concluíram que o grau de integração correlaciona-se com a deposição do “filme condicionador glicoprotéico” que, por sua vez, depende da textura com sua propriedade de embricamento celular e da energia de superfície com sua propriedade de adsorção molecular (molhamento).

Implantes dentários variam principalmente na topologia da superfície de contato celular. Brunette (1988) observou quatro princípios de comportamento celular em culturas de células explicando algumas interações célula e implante. 1. Orientações de contato: alinham células e fibras colágenas com finos sulcos, como aqueles produzidos por máquinas. 2. Rugofilia: descreve a tendência de macrófagos em preferir superfícies rugosas. 3. Efeito de dois centros: pode explicar a orientação de células de tecido epitelial e fibras aderidas na superfície porosa. 4. Apoptose: pode estar envolvida na formação de cápsulas ao redor dos implantes com baixa energia de superfície.

Buser et al. (1991) avaliaram a influência das superfícies na osseointegração de implantes de titânio. Implantes cilíndricos com seis diferentes superfícies foram colocados na metáfise da tíbia e no fêmur em seis porcos. Após três a seis semanas, os implantes que tinham osso ao redor foram removidos e analisados. O exame histológico revelou contato osso-implante direto em todos os implantes. Entretanto, a análise morfométrica demonstrou diferença significativa na porcentagem de contato osso-implante. Implantes com superfície eletropolida, jateada com areia e com ataque ácido tiveram maior porcentagem de contato osso-implante com valores médios entre 20% a 25%. Implantes jateados com areia e com plasma de titânio demonstraram 30% a 40% de media de contato ósseo. A maior extensão na interface osso-implante foi observada

na superfície de jateamento com areia e com ataque ácido, com valores médios de 50% a 60% e na superfície coberta com hidroxiapatita (HA) com 60% a 70%. Entretanto, a superfície com HA revelou sinais de reabsorção. Concluíram, que a extensão da interface osso-implante está relacionada com o aumento da rugosidade da superfície do implante.

Bowers et al. (1992) estudaram a resposta celular de osteoblastos-like, *in vitro*, em superfície de titânio com diferentes tipos de rugosidades. Um aumento significativo nos níveis de adesão celular foi encontrado nas superfícies rugosas, jateada com areia com morfologia irregular. Os resultados corresponderam com os achados *in vivo* e sugerem que os implantes devem ser preparados com superfícies rugosas nas áreas de contato ósseo.

A importância da topografia da superfície e da composição do material do implante na osseointegração em osso trabecular foi pesquisada por Wong (1995) que utilizou três tipos de implantes de uso comercial, incluindo jateamento, ataque ácido a alta temperatura e cobertura de hidroxiapatita (HA). A rugosidade de superfície e os parâmetros espaciais foram medidos para cada grupo de implante utilizando laser. Implantes cilíndricos foram colocados no osso trabecular de joelhos de porcos. Após 12 semanas, *in situ*, a osseointegração foi avaliada através de testes de tração mecânica, para medir a força da interface osso-implante, e através de medição morfométrica qualitativa da porcentagem da superfície do implante coberto por osso. Implantes cobertos com HA mostraram maior osseointegração em ambos os testes. Foi encontrada excelente correlação entre a pouca rugosidade da superfície do implante e a falha no tracionamento. Novos métodos para alterar a topografia local e/ou o estado químico da superfície do implante puderam propiciar um importante caminho para as

pesquisas e assim melhorar as propriedades de osseointegração dos materiais ortopédicos.

Várias superfícies de implante foram pesquisadas por Odont et al. (1997) e analisadas com torque de remoção (contra-torque) ou testes de tração em diferentes modelos de animais. As superfícies rugosas mostraram maiores valores de resistência em teste mecânico, indicando uma interface implante-osso mais resistente. Este estudo piloto foi feito para testar os valores de contra-torque em implantes maquinados totalmente tratados por jateamento e por condicionamento ácido. Foi comparado histomorfometricamente a porcentagem de contato osso-implante em condições de carregamento ou não, para determinar o grau de correlação entre os valores de contra-torque e contato osso-implante com a variação da rugosidade. Os resultados sugerem que a força da interface osso-implante determinada pelo teste de contra-torque, foi influenciada pelas diferentes características de superfície. As superfícies com condicionamento ácido registraram maiores forças de contra-torque do que as jateada ou maquinada. A avaliação histológica do contato ósseo nas diferentes superfícies de implantes não demonstrou uma vantagem definitiva para superfícies rugosas em relação à porcentagem de contato ósseo, quando observado no microscópio óptico.

Piattelli et al. (1997) analisaram as reações ósseas em implantes tratados com plasma spray de titânio carregado precocemente. Um total de 24 implantes (12 na maxila e 12 na mandíbula) foi colocado em macacos. Uma superestrutura metálica foi cimentada nos 10 implantes da mandíbula e da maxila 15 dias após a cirurgia. Os quatro implantes remanescentes foram usados como controle. Oito meses após a colocação dos implantes, um bloco foi removido e os 24 implantes foram recuperados. A análise histológica mostrou osso ao redor da superfície de todos os implantes. A

análise morfométrica demonstrou linha óssea de 67,2% na superfície dos implantes na maxila e 80,71% na mandíbula. Nenhuma diferença foi encontrada na porcentagem de contato osso-implante nos implantes controles. Nos implantes carregados, entretanto, o osso ao redor dos implantes teve uma aparência mais compactada. O estudo demonstrou que é possível obter alta porcentagem de contato osso-implante em implantes com superfície de plasma spray de titânio no carregamento precoce.

Piattelli et al. (1966, 1977), em duas publicações seguidas, de casos clínicos, mostraram evidências histológicas raras de implantes de sucesso resgatados de humanos tanto por razões de fratura como por razões psicológicas. Esses implantes TPS haviam sido carregados precocemente (aos dois meses) e imediatamente. A análise desse material revelou que, em ambos os casos, ao redor dos implantes havia osso lamelar compacto com a presença de inúmeros sistemas de Havers e ósteons em contato a 60-70% da superfície. Com o auxílio do corante Von Kossa, observaram ainda que o osso era altamente mineralizado.

Estudo histomorfométrico, comparando superfícies plasma spray de titânio (TPS) e jateada com areia e ataque ácido (SLA) em mandíbulas de cães, foi realizado por COCHRAN et al. (1997), que analisaram os implantes transmucosos em três tempos de reparação: três meses após osseointegração, três meses após osseointegração mais três meses de carga e três meses de osseointegração mais doze meses de carga. As diferenças foram importantes entre o período isento de carga e o de doze meses com carga. As superfícies SLA apresentaram maior porcentagem de contato ósseo que os implantes com TPS após os três meses. O mesmo ocorreu aos 12 meses de carga, onde os implantes SLA tiveram uma porcentagem maior que os implantes com TPS.

Baseado nesses resultados sugeriram que a superfície de SLA promove um melhor e mais rápido contato ósseo do que as superfícies de TPS.

De acordo com essa linha de pensamento, Ellingsen (1998) teorizou que imediatamente após a instalação de um implante, sua superfície entra em contato com uma série de diferentes substâncias encontradas nos fluidos teciduais tais como: íons, polissacárideos, carboidratos e proteínas, assim como células do tipo condroblastos, fibroblastos e osteoblastos que reagem com a superfície. Essa camada glicoprotéica, fruto das reações iniciais entre os constituintes teciduais e a superfície implantar, governará as reações subseqüentes que determinarão o tipo de resposta celular. A continuação deflagra uma série de interações entre as células que dão lugar à liberação de citocinas e fatores de crescimento que modularão a atividade celular circunjacente determinando a eventual taxa de aposição óssea. Ainda de acordo com o autor, idealmente uma superfície deveria sempre suscitar o perfeito controle de adsorção protéica e adesão celular, assim como propiciar condições ideais para o crescimento, diferenciação e síntese protéica celular subseqüente.

Buser et al. (1998) compararam lado a lado dois implantes de titânio diferentes na maxila de porcos. Os implantes testados foram com superfície maquinada e com ataque ácido (Osseotite®), enquanto que os implantes controles foram os jateados com areia e condicionado com ácido (SLA). Após 4, 8 e 12 semanas de reparação foi feito um teste de remoção dos implantes para avaliar a força necessária para romper a interface osso-implante nos dois tipos de superfícies. Os resultados demonstraram uma diferença significativa entre os dois tipos de superfície. Implantes Osseotite® revelaram media de valores de remoção de 62,5 Ncm em quatro semanas, 87,6 Ncm em oito semanas e 95,7 em 12 semanas de reparação. Por outro lado, implantes SLA

demonstraram valores médios de remoção de 109,6 Ncm, 196,7 Ncm e 186,8 Ncm nos mesmos períodos respectivamente. A média de valores para implantes SLA foi 75% a 125% maior que implantes Osseotite® em até 3 meses de reparação.

A alteração da resposta óssea na superfície do implante para aumentar a qualidade do tecido ósseo é o atual objetivo da terapia clínica. No trabalho de Cooper et al. (1999) uma cultura de célula foi usada para investigar respostas superfície-dependente das células de formação óssea. Nesse estudo, o potencial das culturas de osteoblastos mandibular de feto bovino em formar uma matriz mineralizada em superfícies maquinadas, plasma de titânio e jateada com óxido foi estudada. As marcações imunohistoquímicas associadas com a formação óssea foram usadas para definir o estágio de diferenciação da matriz formada usando microscópio de luz qualitativa e corante von Kossa, para mostrar a presença de mineralização da matriz. Comparando as superfícies de plasma de titânio e maquinada (lisa), a de plasma de titânio mostrou um único padrão de matriz mineralizada formada. A análise microscópica revelou que cada superfície acumulou um único depósito orgânico e inorgânico durante a formação da matriz, sugerindo que as falhas nas superfícies do titânio comercialmente puro podem alterar a cultura de osteoblastos extracelulares na formação e mineralização da matriz.

Amarante e Lima (2001) analisaram os resultados da literatura publicada sobre superfícies de implantes tratadas com plasma de titânio (TPS) e jateadas com areia e tratadas com ácido (SLA). Isoladamente, a textura da superfície foi a característica mais marcante na promoção da osseointegração. Os estudos da topografia da superfície implantar no comportamento celular mostram que o osso se deposita indistintamente em superfícies porosas ou lisas, seja em implantes de cerâmica, titânio ou em ampla

variedade de outras superfícies. A porosidade não é condição necessária para que ocorra aposição óssea, entretanto, desempenha um papel preponderante no percentual de aposição óssea sobre a superfície do implante, assim como na velocidade com que essa deposição ocorre. Os resultados demonstraram que tanto a rugosidade como o tratamento químico das superfícies pode influenciar a força superficial de cisalhamento (resistência oferecida à remoção). Estas características da superfície do titânio, além de melhorar o procedimento, podem ainda, por exemplo, permitir a colocação dos implantes em função mais precocemente e ampliar a gama de aplicações possíveis para osso alveolar de densidade inferior, ou favorecer sua aplicação em osso regenerado.

A textura da superfície do implante pode influenciar a taxa e a extensão da fixação óssea expressada pelo contato osso-implante (COI). A proposta do estudo de Veis et al. (2007) foi comparar a densidade óssea e o COI entre superfície Osseotite® e lisa em implantes colocados em defeitos ósseos sem enxerto e cobertos por membrana. O tempo de reparação foi de 2, 3 e 5 meses. Não houve diferença nos valores de COI no segundo e no quinto mês entre as duas superfícies (na área regenerada), enquanto que valores de COI na superfície Osseotite® foi significativamente maior do que na superfície lisa com três meses de reparação. A mudança na densidade óssea observada nos três grupos afetou diretamente os valores de COI, em ambas as superfícies de implante e o efeito pareceram ser mais evidente na superfície Osseotite®

Um trabalho com 95 pacientes com edentulismo mandibular, os quais receberam 03 implantes cada num total de 285 implantes que imediatamente receberam próteses fixas, mostrou um índice de sucesso no primeiro ano de 95,0%, no terceiro ano 93,3% e

no quinto ano 93,3%. Demonstrando um alto índice de sucesso, compatíveis aos implantes com carga tardia, porém com tempo reduzido de tratamento (ENGSTRAND et al, 2003).

## 2.2. Remodelação Óssea

Apesar de o GH estimular a deposição de proteínas e o maior crescimento em quase todos os tecidos do corpo, seu efeito mais evidente é aumentar o crescimento do arcabouço esquelético. Osteoblastos no periósteo do osso e em algumas cavidades ósseas depositam um osso novo nas superfícies do osso mais velho. Simultaneamente, osteoclastos no osso removem o osso velho. Quando a taxa de deposição é maior que a da reabsorção, a espessura do osso aumenta. O hormônio do crescimento estimula fortemente os osteoblastos. Portanto, os ossos podem continuar a aumentar por toda a vida sob a influência do hormônio do crescimento; isto é especialmente verdadeiro para os ossos membranosos (GUYTON; HALL, 2002).

O osso remodela em um fenômeno cíclico que consiste na reabsorção osteoclástica seguida pela formação osteoblástica. Embora evidências sugeriram que o GH participou na remodelação óssea, o mecanismo exato continua incerto. A série de estudos *in vitro* apontou esclarecer que o GH afetou a formação e a reabsorção do osso. O GH bovino (bGH) aumentou a síntese de DNA, estimulou a atividade de fosfatase alcalina, aumentou a formação do RNAm do pró-colágeno tipo I e a síntese de colágeno. O GH aumentou também a formação de IGF-I e RNAm de IGF-ligante de

proteína-5 assim como a liberação de IGF-I pelas células. A adição de IGF-I ou de IGFBP-5 recombinante aumentou significativamente a atividade de ALP e a formação de RNAm do pró-colágeno tipo I. Estes achados indicam que o GH age diretamente nos osteoblastos para estimular a formação óssea e que IGF-I e IGFBP-5 estão envolvidos nessa estimulação do GH. Estes efeitos estimulatórios do GH, na formação de calo e a diferenciação osteoclástica, foram significativamente bloqueados na presença de antígeno IGF-I. O GH estimulou a formação de osteoclasto-like através das células do estroma celular, estas células formaram calo em fatias de dentina na presença MC3T3-G2/PA-6 no estroma celular. Na remodelação óssea, a fase de reabsorção foi seguida por um período de formação. É plausível afirmar que o GH ativa a remodelação óssea através da estimulação de osteoblastos para formação óssea, e osteoclastos para a reabsorção óssea. A ação de IGF está envolvida na estimulação pelo GH na remodelação óssea (CHIHARA; SUGIMOTO, 1997).

A remodelação ocorre quando há o equilíbrio entre o processo de formação óssea e o processo de reabsorção óssea, em que o osso é gradualmente substituído. Marx e Garg (1998) declararam que 0,7% do esqueleto humano são reabsorvidos diariamente e repostos por osso saudável e que a remodelação de todo o esqueleto demora 142 dias. A célula diretamente envolvida nesse processo é o osteoclasto. É uma célula altamente móvel e pode migrar ao longo das superfícies ósseas e se localizarem em várias áreas a serem reabsorvidas. Passam a secretar enzimas hidrolíticas que dissolvem o tecido ósseo formando lacunas de reabsorção.

Remodelação óssea foi definida por Robert et al (1987) como reestruturação interna da estrutura óssea pré-existente. É um fenômeno em nível tecidual em que ocorre a ativação (A) de células precursoras ósseas, resultando em uma seqüência de

atividades (1) de reabsorção, (2) quietude (Q) e (3) formação (F). A duração do ciclo de remodelação A-R(Q)-F referida por Frost, (apud Roberts 1987) é de cerca de seis semanas para coelhos, 12 semanas para cachorros e 17 semanas para homens. Fase de quietude (Q) é um período de reversão onde osteoclastos são substituídos por osteoblastos. O resultado da fase de formação (F) é o que tem maior variação entre as espécies. A cavidade é preenchida em 4, 5, 10 ou 13 semanas para coelhos, cachorros e para homem, respectivamente. A média de duração do ciclo de remodelação A-R(Q)-F é diretamente proporcional ao tamanho do animal. Usando coelho X como base, os fatores para eventos fisiológicos similares em cachorros e humanos é 2 X e 3 X, respectivamente (Tabela 1). A remodelação da interface osso implante, em osso cortical de um coelho com 6 a 18 meses de idade, assumindo a proporção do tempo de remodelação (fator de 3 X), o equivalente em humano é de 17 semanas (Tabela 2).

**Tabela 1 – Ciclo de remodelação óssea cortical**

	<b>Coelho</b>	<b>Cachorro</b>	<b>Homem</b>
<b>Ativação (A)</b>	<b>0.5 semanas</b>	<b>0.5 semanas</b>	<b>1.0 semanas</b>
<b>Reabsorção (R)</b>	<b>1.0</b>	<b>1,5</b>	<b>2,0</b>
<b>Quietude (Q)</b>	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>	<b>1,5</b>
<b>Formação (F)</b>	<b>4,5</b>	<b>10,0</b>	<b>13,0</b>
<b>A-R-(Q)-F</b>	<b>6,0</b>	<b>12,0</b>	<b>17,0</b>
<b>Fator</b>	<b>X</b>	<b>2X</b>	<b>3X</b>

**Tabela 2 – Curso de tempo do desenvolvimento da interface de um implante endosseio no osso cortical.**

	<b>Coelho</b>	<b>homem (3X)</b>
<b>Modelação da Superfície</b>		
<b>Estágio 1: Formação do Calo</b>	<b>2 semanas</b>	<b>6 semanas</b>
<b>Estágio 2: Compactação lamelar</b>	<b>6 semanas</b>	<b>18 semanas</b>
<b>Remodelação, Maturação</b>		
<b>Estágio 3: Remodelação da interface</b>	<b>6 semanas</b>	<b>18 semanas</b>
<b>Estágio 4: Maturação Compacta</b>	<b>18 semanas</b>	<b>54 semanas</b>

Um modelo de animal conveniente para teste de materiais substituto de osso foi proposto por Frame (1980) que cita a utilização de animais de grande porte, além de necessitarem de espaço adequado, é cara para adquirir e manter. Para superar essas dificuldades, outros pesquisadores têm usado animais pequenos como ratos e coelhos. Os defeitos preparados nesses animais são pequenos e esses animais mostram uma boa reparação óssea.

### 2.3. Histologia do Tecido Ósseo

O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e material extracelular calcificado, a matriz óssea. As células são: os osteócitos, que se situam em cavidades ou lacunas no interior da matriz; os osteoblastos, produtores da parte orgânica da matriz; e o osteoclastos, células gigantes, móveis e multinucleadas que reabsorvem o tecido ósseo, participando dos processos de remodelação dos ossos. A presença da matriz mineralizada torna o tecido ósseo difícil de ser cortado no micrótomo. Por isso, uma técnica muito utilizada no estudo das células baseia-se na descalcificação do tecido ósseo após sua fixação num fixador histológico comum. A remoção da parte mineral da matriz é realizada em solução ácida diluída (por exemplo, ácido nítrico a 5%) ou em solução contendo uma substância quelante (por exemplo, o sal sódico do ácido etileno-diamino-tetracético ou EDTA) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Os osteócitos são as células encontradas no interior da matriz óssea, ocupando as lacunas das quais partem canalículos. Cada lacuna contém apenas um osteócito, que são células achatadas. Embora essas características ultra-estruturais indiquem pequena atividade sintética, os osteócitos são essenciais para a manutenção da matriz óssea. Sua morte é seguida pela reabsorção da matriz. Os osteoblastos são as células que sintetizam a parte orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas) da matriz óssea. Dispõe-se sempre nas superfícies ósseas, lado a lado, num arranjo que lembra um epitélio simples. Quando em intensa atividade sintética são cubóides, com citoplasma muito basófilo. Porém, em estado pouco ativo, tornam-se achatados e a basofilia citoplasmática diminui. Uma vez aprisionado pela matriz recém-sintetizada, o osteoblasto passa a ser chamado de osteócito. A matriz se deposita ao redor do corpo da célula e de seus prolongamentos, formando assim as lacunas e os canalículos. Os osteoblastos em fase de síntese mostram as características ultra-estruturais das células produtoras de proteína. A matriz óssea recém-formada, adjacente aos osteoblastos ativos e que não está ainda calcificada, recebe o nome de osteóide (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Histologicamente existem dois tipos de tecido ósseo: o imaturo ou primário; e o maduro, secundário ou lamelar. Em cada osso, o primeiro tecido ósseo que aparece é do tipo primário (não lamelar), sendo substituído gradativamente por tecido ósseo lamelar ou secundário. No adulto é muito pouco freqüente, persistindo apenas próximo as suturas dos ossos do crânio, nos alvéolos dentários e em alguns pontos de inserção dos tendões. O tecido ósseo primário apresenta fibras colágenas dispostas em varias direções sem organização definida, tem menor quantidade de minerais (mais facilmente penetrado pelos raios X) e maior proporção de osteócitos do que o tecido ósseo

secundário. O tecido ósseo secundário é a variedade geralmente encontrada no adulto. Sua principal característica é possuir fibras colágenas organizadas em lamelas de três a sete  $\mu\text{m}$  de espessura, que ficam paralelas umas as outras ou se dispõem em camadas concêntricas em torno de canais com vasos, formando os sistemas de Havers ou ósteons (JUNQUIERA; CARNEIRO, 2004).

#### 2.4. Fatores que Influenciam a Remodelação Óssea

Nevins et al. (1998) identificaram os efeitos do diabetes na osseointegração. Os implantes foram colocados no fêmur de 10 ratos diabéticos e 10 ratos normais. Os animais foram sacrificados 28 e 56 dias após a implantação. Os resultados histométricos mostraram que a qualidade da formação óssea foi a mesma nos animais teste e controle. Entretanto, um menor contato osso-implante foi observado no grupo teste (diabético) em relação ao grupo controle em ambos os casos (28 e 56 dias). Esse estudo mostrou que o processo de osseointegração é afetado pela diabetes.

Mombelli e Cionca (2006) avaliaram o impacto da doença sistêmica e o seu tratamento no sucesso da osseointegração. Uma pesquisa foi feita procurando estudos em humanos com doença sistêmica e implantes osseointegrados. Para muitas condições sistêmicas não há na literatura estudos comparando pacientes com e sem a doença. A evidência para a recomendação de terapia com implantes é pobre e consiste em apresentações de alguns casos de sucesso de tratamento. Em relação à diabetes, a heterogeneidade do material e a metodologia dos artigos incluem uma meta-análise. A

maioria dos estudos mostra um aumento significativo do risco de falha do implante em diabéticos. Os dados de 17 artigos sobre osteoporose são muito heterogêneos. A evidência de associação entre osteoporose e falha do implante é pequena. O autor concluiu que os estudos que mostram contra-indicações da terapia com implantes devido a doenças sistêmicas são baixos.

McCracken et al. (2005) estudaram a osseointegração de implantes em ratos diabéticos descompensados e insulino-dependentes controlados. Cento e cinquenta e dois ratos foram divididos em grupo controle, diabéticos descompensados e diabéticos insulino-dependentes. Os ratos receberam streptozotocin (65 mg/kg) para induzir diabetes, animais diabéticos receberam um implante de insulina subcutâneo. Os implantes de titânio (1,5 x 8 mm) foram colocados na tíbia dos animais e removidos com 2, 7, 14 e 24 dias e examinados histologicamente. O osso ou tecido osteóide adjacente aos implantes foi qualificado percentualmente. O tempo e o tratamento foram fatores significantes no prognóstico da resposta óssea em implantes. O pico da média de volume ósseo foi no 7º dia e diminuiu gradativamente até o 24º dia. O volume ósseo adjacente ao implante nos ratos diabéticos foi significativamente maior do que no controle. Animais diabéticos tratados com insulina não tiveram diferença estatística com o grupo controle.

Smith, Berger e Dodson (1992) observaram em seu trabalho que o risco de falhas está diretamente relacionado ao maior número de implantes instalados, devido ao maior período cirúrgico, aumentando o risco de contaminação bacteriana, além de o trauma ser maior, podendo levar a um aumento no índice de insucesso.

Muitas contra-indicações devido a doenças sistêmicas são relativas. Uma vez que esses pacientes são aqueles que mais precisam de reabilitação oral com

implantes. Os tratamentos com implantes foram limitados devido à intercorrência de fatores sistêmicos. Outro aspecto foi o risco de contaminação devido ao próprio tratamento cirúrgico, que pode interferir no curso da condição sistêmica (STREENBERGHE et al., 2003).

Os principais fatores locais relacionados às falhas de implantes foram de origem endógena e consistem basicamente na característica anatômica e na qualidade óssea do sítio receptor. Todavia, o tratamento com implantes dentários em pacientes com osteoporose severa mostra que esta não é uma contra-indicação para utilização dessa técnica (FRIBERG, 1994).

No trabalho de Bain e Moy (1993) foi observado que pacientes que receberam enxertos intra-bucais com simultânea instalação de implantes e que relataram fumar no período da cirurgia, apresentaram perda óssea e/ou de implante superiores aos não fumantes, este fato ocorreu porque o fumo causa efeitos adversos na reparação. A meta análise revelou uma significativa relação entre o fumo e o risco de falha na osseointegração de implantes, mais particularmente para aqueles implantes localizados na maxila.

Em um levantamento bibliográfico usando Pub Med e Japana Centra Revero Medicina (japonês) Hinode et al. (2006) analisaram 175 artigos e após uma detalhada revisão 19 deles foram inclusos na meta-análise. Foi concluído que quando os pacientes fumantes são comparados a pacientes não fumantes a taxa de falha de implantes osseointegrados foi significativamente maior. O autor considerou um implante perdido quando este teve que ser removido por alguma razão ou mostrou perda óssea progressiva verificada através de radiografias. O artigo mostrou também que os casos de insucesso foram estatisticamente maior na maxila de pacientes fumantes, quando

comparados com não fumantes, porém na mandíbula não houve diferença entre os pacientes.

Em um estudo retrospectivo de 15 pacientes, Sweet (1992) mostrou que houve um aumento dos problemas na reparação dos enxertos com colocação simultânea de implante em pacientes fumantes. Os 15 pacientes foram divididos em dois grupos de fumantes e não fumantes. Cinco dos pacientes eram fumantes e dez não fumantes. Os casos foram avaliados pela reparação diminuída, definida como deiscência e/ou infecção que resultou em perda óssea e/ou de implantes. Apenas um de dez não fumantes teve a reparação diminuída, enquanto quatro de cinco fumantes tiveram problemas.

Bain e Moy (1993) revisaram 2194 implantes colocados em 540 pacientes em um período de seis anos. A taxa total de falha de 5,92% foi consistente com outros estudos; porém, quando os pacientes foram subdivididos em fumantes e não fumantes, foi encontrado uma porcentagem significativamente maior de falhas em fumantes (11,28%) do que em não fumantes (4,76%). Estas diferenças foram significativas em todas as áreas exceto na região posterior da mandíbula. Enquanto as taxas das falhas diminuem com aumento do comprimento do implante, falhas em qualquer comprimento de implante foram maiores em fumantes do que em não fumantes. O possível mecanismo de falha em fumantes foi discutido, e um protocolo de interrupção do fumo próximo a data da cirurgia foi proposta. Sugeriram que o paciente parasse de fumar pelo menos uma semana antes da cirurgia para permitir reversão dos altos níveis de adesão plaquetária e viscosidade sangüínea, assim como a diminuição dos efeitos associados com a nicotina. O paciente deve manter a abstinência ao fumo por pelo menos dois

meses após a colocação do implante, tempo necessário para a reparação óssea, fase de osteoblastos e início da osseointegração.

Entre 1990 e 2003, 71 pacientes (15 mulheres e 56 homens com idade média de 57,8 anos) foram tratados com implantes dentários após radioterapia e cirurgia radical de câncer de boca. A radioterapia foi administrada em frações diárias de 2Gy durante 25 dias (total de 50Gy). Foram colocados ao todo 316 implantes em osso residual não irradiado (84; 27%), em osso residual irradiado (154; 49%) ou osso enxertado (78; 25%) em vários intervalos (média de 1,41 anos, 0,34-6,35 anos). O acompanhamento de tempo após a colocação do implante foi em média de 5,42 anos. A taxa de sobrevivência de todos os implantes aos 2, 3, 5 e 8 anos foi 95%, 94%, 91% e 75% respectivamente. Foram perdidos 44 implantes em 21 pacientes durante o período de observação. A irradiação na mandíbula mostrou uma significativa queda na sobrevivência do implante comparado com o osso não irradiado. A taxa de sobrevivência em 8 anos no osso residual não irradiado (2 perdidos), no osso residual irradiado (29 perdidos) e no osso enxertado (13 perdidos) foi de 95%, 72%, e 54% respectivamente. O tempo de implantação após irradiação mostrou nenhuma influência estatisticamente significativa. A radioterapia com 50Gy foi relacionada com a queda na sobrevivência do implante na mandíbula. A sobrevivência é menor em enxertos. O tempo da colocação do implante não teve influência estatisticamente significativa na sobrevivência do implante nas condições desse estudo. Portanto a sobrevivência do implante é menor em mandíbulas irradiadas (YERIT et al., 2004).

## 2.5. Hormônio do Crescimento

### 2.5.1. Histórico

Isakson et al. (1987) demonstraram a relação entre um fator na pituitária e o crescimento corporal. Em um experimento subsequente produziram crescimento acima do normal em ratos intactos com a administração de extrato pituitário bovino. Na década de 40, uma proteína altamente purificada foi isolada da pituitária bovina que produziu crescimento somático quando administrado em ratos hipofisectomizados ou intactos. Esta proteína exibiu um pequeno ou nenhum efeito sobre as gônadas e a glândula tireóide e foi chamado GH ou somatotropina. A estrutura molecular do GH não foi revelada até o início da década de 70 quando a total seqüência de aminoácidos foi determinada. Em 1923, foi observada a diminuição da largura da cartilagem epifiseal em gatos e cachorros hipofisectomizados. Também se observaram que o tratamento com extrato do lóbulo anterior da pituitária reverte parcialmente estes efeitos e que o GH aumentou o tamanho dos ratos hipofisectomizados pelo crescimento na espessura nas zonas de crescimento na cauda vertebral, sugerindo que o GH aumenta a espessura do disco de crescimento pela estimulação da proliferação dos condrócitos. A determinação do disco de crescimento e a sua largura em tibia de ratos hipofisectomizados foram correlacionadas a uma sensível e específica atividade biológica do GH, e é ainda usada como um dos métodos de referência para determinar a atividade do GH in vivo. Outros hormônios como a insulina e o da tireóide também influenciam o crescimento ósseo, mas o GH é o único hormônio reconhecido que estimula o crescimento longitudinal do osso de uma maneira dose dependente sobre uma larga abrangência de doses. O crescimento dos tecidos é o resultado de um

aumento do número celular, do tamanho das células ou ambos. Tem sido demonstrado que o GH estimula o crescimento da cartilagem e de outros tecidos principalmente pelo aumento do número de células do que do tamanho das mesmas. Uma questão controversa referente ao mecanismo de ação do GH na promoção do crescimento do esqueleto é quando o GH age diretamente no local do disco de crescimento ou indiretamente regulando o nível de circulação de somatomedina ou fatores de crescimento parecidos com a insulina (IGF). A hipótese da somatomedina implica que a ação do GH no crescimento do esqueleto não foi devida diretamente à interação do GH e o crescimento do tecido, mas mediado pelo IGF-I, o qual foi sintetizado num local distante (o fígado). A administração local do IGF-I também estimulou a largura da cartilagem epifiseal e o crescimento longitudinal do osso, mostrando que a administração exógena de IGF-I teve a capacidade de estimular localmente o crescimento ósseo. Não existiram efeitos sinérgicos sobre o crescimento longitudinal do osso quando o GH e o IGF-I foram administrados simultaneamente. A administração local do GH ou IGF-I para ratos hipofisectomizados estimulou o crescimento do osso unilateral mostrando que ambos os peptídeos diretamente ou independentemente estimularam os condrócitos epifiseal *in vivo*.

Guyton e Hall (2002) concluíram que os principais hormônios da hipófise anterior, além do GH, exercem seus efeitos mais importantes estimulando glândulas-alvo, incluindo a glândula tireóide, o córtex adrenal, os ovários, os testículos e as glândulas mamárias. As funções de cada um desses hormônios hipofisários estão relacionadas com as funções de suas respectivas glândulas-alvo. O GH, em contraste com outros hormônios, não funciona através de uma glândula-alvo, mas exerce seus efeitos sobre todos ou quase todos os tecidos do corpo. O GH, também chamado de hormônio

somatotrópico ou somatotropina é uma pequena molécula de proteína que contém 191 aminoácidos numa cadeia única e tem um peso molecular de 22005. Causa o crescimento de quase todos os tecidos do corpo que são capazes de crescer. Promove o aumento do tamanho das células e do número de mitoses com o desenvolvimento do número aumentado de células e a diferenciação de certos tipos celulares como as células do crescimento ósseo e células musculares primitivas.

Os efeitos do GH biosintético nas propriedades biomecânicas na reparação de fraturas de tíbias e de ossos intactos em ratos foram estudados após 20 e 40 dias de reparação da fratura. No trabalho de Bak, Jorgensen e Andreassen (1990) foi injetada uma dose de 2,0 mg/kg/dia de bhGH, por via subcutânea, em duas doses diárias. Em animais controle foi injetado o volume correspondente de soro. Após 20 dias de reparação da fratura não houve diferença nas propriedades mecânicas entre o osso fraturado e o intacto. Após 40 dias, o maior carregamento e o pico de massa da fratura no grupo bhGH-injetável teve um aumento de mais de 400% em relação ao grupo controle. O estresse e a absorção de energia no último carregamento aumentou 270% comparado com o grupo controle. Observou-se maior carregamento, massa e absorção de energia no osso intacto no grupo bhGH-injetável, mas não houve diferença nos valores de estresse ou de energia normal, mostrando que a mudança no osso intacto foi um fenômeno quantitativo.

Segundo Marcus (1997) três processos ocorrem no esqueleto: modelação durante o crescimento, reparo da fratura e remodelação. Remodelação é a reabsorção óssea associada. A formação óssea e alterações na balança de remodelação são os caminhos finais para a perda de osso. Os agentes terapêuticos são responsáveis por minimizar o fenômeno normal da idade relacionado com a perda óssea e por proteger

contra fraturas por osteoporose. Estes agentes reduzem a taxa de reabsorção óssea, tem efeitos positivos na massa óssea e na redução de algumas fraturas. Nada, no entanto, devolve a parte mineral do osso para níveis normais. O GH tem sido muito importante devido aos efeitos positivos *in vitro* e *in vivo*. Adultos com deficiência de GH têm baixo nível de densidade mineral óssea (DMO) quando comparados com pessoas saudáveis e as razões desse achado são controversos. Um fator negligenciado é o artefato de mensuração com o uso da absorvometria radiológica de dupla energia (ARD). Há muito tempo a terapia com GH tem a sua importância clínica, aumentando os níveis de DMO em adultos com deficiência de GH. O pequeno aumento de DMO lombar ou a manutenção da DMO no quadril mostram que não são tão bons quanto os resultados obtidos em terapias de administração mais barata e fácil.

Cacciafesta et al. (2001) avaliaram a força biomecânica e a formação óssea em defeitos na calvária de ratos utilizando membranas de politetrafluoroetileno (e-PTFE) e tratada sistemicamente com GH recombinante humano (rhGH). Quarenta ratas foram divididas em dois grupos de 20 animais cada um, aleatoriamente. Os defeitos do osso foram cobertos com uma membrana de e-PTFE extra e endocranialmente. No dia da cirurgia, o grupo rhGH recebeu 2,7 mg rhGH/Kg/dia e o grupo placebo recebeu solução de cloreto de sódio. Os animais foram sacrificados 28 dias após a cirurgia. A carga final, a rigidez final, e a absorção de energia na carga final foram significativamente aumentados no grupo rhGH. Também, o tecido seco e os pesos das cinzas foram aumentados significativamente no grupo rhGH. A reconstrução 3D do osso mostrou que havia quase duas vezes mais volume do osso atual nos defeitos do grupo rhGH comparados com o grupo do placebo. A experiência demonstrou que a administração

do rhGH realça a deposição de osso e a força mecânica de defeitos em reparação em calvária de ratos coberta com membranas de e-PTFE.

A atividade diminuída de GH-insulin-like-I ocorre em pessoas idosas e contribui para a diminuição da massa corporal e para o aumento da massa de tecido adiposo. Rudman et al. (1990) avaliaram 21 homens saudáveis de 61 a 81 anos quem tiveram concentrações plasmáticas IGF-I menor que 350 U/l durante um período de seis meses de controle e um período de seis meses de tratamento. Durante o período do tratamento, 12 homens (grupo 1) receberam aproximadamente 0.03mg/kg de GH biossintético, subcutâneo, três vezes por semana, 9 homens (grupo 2) não receberam nenhum tratamento. Os níveis plasmáticos IGF-I foram medidos na massa corporal, na massa de tecido adiposo, na espessura da pele (epiderme e derme) e na densidade óssea em nove locais esqueléticos. No grupo 1, a média de concentração plasmática de IGF-I foi de 500 a 1500 U/l durante o tratamento, enquanto no grupo 2 esta concentração permaneceu abaixo de 350 U/l. No grupo 1 houve aumento de 8.8% na massa corporal, diminuição de 14.4 % de massa de tecido adiposo e um aumento de 1.6% na densidade vertebral óssea lombar . A espessura de pele aumentou 7.1% e não houve nenhuma mudança significativa na densidade óssea. No grupo 2 não houve mudança significativa. A secreção diminuída de GH foi responsável em parte pela diminuição da massa corporal, pelo o aumento do tecido adiposo e pela a fragilidade da pele que ocorre em pessoas idosas. Após os 30 anos a secreção de GH pela glândula pituitária tende a diminuir. O fato do GH ser secretado em pulsos principalmente nas primeiras horas do sono, sua mensuração foi dificultada, por isso ele foi medido indiretamente pela concentração plasmática de IGF – I, também conhecido como somatomedina C.

Andreassen et al. (1995) investigou a influência do GH na formação óssea, força mecânica e composição em osso cortical de ratos com dois anos de idade. Foi dado aos ratos hormônio de crescimento humano biossintético (bhGH) numa concentração de 2,7 mg/kg/dia em duas injeções diárias por 20, 40 ou 80 dias e todos os animais foram sacrificados 80 dias após a administração do bhGH. Para o grupo controle foi administrado soro. Todos os animais foram marcados com tetraciclina nos dias 41 e 69. Apenas o grupo bhGH-80 dias foi marcado duas vezes com tetraciclina sub-periosteal ao redor de toda diáfise do fêmur e esse padrão foi seguido em todos os animais do grupo. Duas marcações sub-periostealmente no sentido póstero-medial foram achadas em todos os animais do experimento e comparando com o grupo controle 400% e 800% de aumento de aposição mineral foi encontrada no grupo bhGH-40 dias e bhGH-80 dias, respectivamente. A análise através do microscópico de luz polarizada mostrou que esse novo osso depositado estava organizado em lamelas concêntricas e tinha a mesma direção das fibras colágenas quando comparado com o osso formado antes do início da aplicação do bhGH. A área do osso cortical em corte transversal foi aumentada no grupo bhGH-40 dias e bhGH-80 dias. Na parte endóssea, marcações espaçadas foram encontradas nos animais de todos os grupos e não houve diferença na porção medular. A análise mecânica revelou um aumento na força mecânica em toda diáfise óssea após administração de bhGH. Quando os dados foram corrigidos para dimensões da diáfise óssea, nenhuma diferença nas propriedades mecânicas intrínsecas no tecido ósseo foi encontrada. Correspondentemente, um leve aumento na concentração de peso no grupo bhGH-injetado foi observado. A administração de bhGH sempre aumenta o peso corporal, a massa muscular, a concentração total de IGF-1 e tiroxina.

O efeito da administração de GH em períodos diferentes na reparação de fraturas de tíbia de ratos foi investigado por Nilsen et al. (1991) após 40 dias de recuperação. O GH humano bio sintético numa concentração de 2,7 mg/kg/dia foi administrado em três grupos de ratos por 1, 2 ou 3 semanas após a fratura, uma solução salina foi administrada para o grupo controle por 3 semanas. Os valores de carga final e rigidez final das fraturas aumentaram nos grupos com aplicação de GH por 2 ou 3 semanas. Análise linear regressiva revelou uma alta probabilidade de correlação positiva. Nos ossos intactos um aumento da carga final, rigidez e absorção de energia foi observado no grupo com aplicação de GH por 3 semanas, uma análise linear regressiva mais uma vez mostra uma alta probabilidade de uma correlação positiva.

Segundo Harris e Heaney (1969) a massa do esqueleto de cachorros adultos de ambos os sexos pôde ser significativamente aumentada pela administração exógena de GH bovino (0,5mg/kg/dia por 84 dias) sem indução de acromegalia ou diabetes. Esse aumento foi uma consequência de formação de novo osso. Este novo osso foi histologicamente e microrradiograficamente normal.

Evidências clínicas e experimentais mostraram a importância do GH pituitário no aumento do esqueleto. A osteogênese e a condrogênese diminuiu em ratos hipofisectomizados, esse processo foi estimulado pela administração de GH (SALMON; DAUGHADAY, 1957).

Nos dias atuais o hormônio de crescimento pode ser bio sintetizado (rhGH) pela bactéria *Escherichia coli*, em decorrência da aplicação bem sucedida da tecnologia do DNA recombinante. Entretanto, esse hormônio está começando a se tornar disponível em quantidades suficientes para fins terapêuticos. Os indivíduos que apresentam deficiência do hormônio do crescimento podem ser completamente curados se forem

tratados no início da vida. Além disso, o hormônio do crescimento humano pode ser benéfico em outros distúrbios metabólicos, em virtude de suas várias funções metabólicas no organismo (PIRINEN, 1995).

### 2.5.2. Ação local

Tressgerres et al. (2005) em seu trabalho avaliou o quanto a administração de rhGH pode influenciar a formação de osso ao redor do implante colocado em tíbias de coelhos novos. Trinta e dois coelhos New Zealand foram separados em 2 grupos. O grupo experimental recebeu 4 UI (1,2 mg) de rhGH em forma de pó liofilizado no alvéolo cirúrgico do implante e o grupo controle não recebeu tratamento hormonal. Os animais foram sacrificados 1, 2, 3 e 6 semanas após a cirurgia lâminas histológicas foram fabricadas e observadas em microscópio de luz. As lâminas foram analisadas morfométricas e densitométricamente para calcular a quantidade de novo osso formado. O grupo rhGH de 2 semanas mostrou aumento do trabeculado ósseo através do perióstio, com trabeculado mais grosso e irregular do que o observado no grupo controle. Uma tendência de que o grupo rhGH tinha melhor área óssea e menor densidade foi observada embora os grupos não se diferenciassem significativamente. No entanto, o contato osso-implante nas duas e seis semanas foi significativamente maior no grupo com rhGH. Um aumento na resposta cortical através de reações do perióstio e endóstio foram observados com a administração local de rhGH, contrariando muitos autores. Nas primeiras fases de reparo ósseo, os osteócitos

estavam mais desorganizados e na 6ª semana mais organizados. Os autores concluíram que a administração local do rhGH pode estimular as primeiras fases do processo de remodelação óssea.

Em outro trabalho Tresguerres et al. (2002) determinou o quanto o rhGH administrado localmente durante a colocação do implante na tíbia de coelho com osteoporose, pode induzir qualitativa e quantitativa diferença na reação do osso peri-implantar. Oito coelhas foram ovariectomizadas e submetidas a uma dieta pobre em cálcio (0,07 de cálcio) para induzir osteoporose. Após 6 semanas, implantes de titânio foram colocados na tíbia das coelhas. Os animais foram divididos em dois grupos iguais. O grupo experimental foi tratado com 4 IU de rhGH na forma de pó liofilizado adicionado localmente no alvéolo cirúrgico e o grupo controle colocou o implante sem tratamento hormonal. Após 2 semanas, os animais foram sacrificados, pedaços de tíbia foram preparados e a interface osso-implante foi examinada com microscópio de luz. As comparações de quantidade de reação óssea foram feitas morfométrica e densitométricamente. Os autores concluíram que a administração local de rhGH durante a colocação do implante em tíbias de ratas com osteoporose induz reação periostal e transcortical e mineralização óssea após 14 dias ao redor da superfície do titânio, sem aumento da reabsorção óssea.

Muitos fatores puderam modificar a osseointegração, entre eles a idade e a possibilidade do uso de hormônio de crescimento para melhorar esse fenômeno. Arriba et al. (2001) usaram uma técnica histológica que permite estudar não apenas a interface, mas também toda resposta óssea em áreas distantes. O rhGH foi usado topicamente em animais idosos que tinham implante de titânio na tíbia. Um grau homogêneo de osseointegração foi observado em ambos os grupos, controle e teste. O

tecido ósseo localizado distante da área cirúrgica apresentou certo aumento nas lacunas ósseas no grupo teste, mas não no grupo controle. Isso sugeriu que a ação do rhGH nos sítios ósseos reflete em reabsorção das suas lacunas.

Hedner et al. (1996) realizaram um estudo em 93 ratos machos, a administração local e sistêmica dentre outras substâncias do hormônio do crescimento recombinante humano (rhGH; Genotropin, Lot 66138 A5; 2.0 IU/mg) combinado com membranas e-PTFE (GORE-TEX), produziram defeitos transósseos de 5 mm na região do ângulo da mandíbula. Foram instaladas membranas tanto por vestibular quanto por lingual. Nos experimentos com administração local, cada grupo continha seis ratos e os defeitos foram feitos em ambos os lados direito e esquerdo. A administração local do rhGH foi feita por catéteres através de um dispositivo que força para dentro os fluidos numa direção única, colocado na região do defeito ósseo somente pelo lado vestibular. No defeito do lado direito da mandíbula foi injetado o rhGH (0,2, 2,0 ou 20 µg/dia) e no defeito do lado esquerdo da mandíbula foi injetado apenas solução salina. Os resultados foram avaliados após quatro semanas de reparação. Quando o rhGH foi administrado localmente observaram uma clara atividade estimulatória de regeneração óssea com resultados estatisticamente significantes para as doses de 2 e 20 µg/dia. Esse estudo enfatizou que o rhGH exerce efeito específico e direto no tecido ósseo.

Administração local de hormônio de crescimento *in vivo* na cartilagem do disco de crescimento da tíbia proximal em ratas hipofisectomizadas resultou no aumento longitudinal do crescimento ósseo. Esse achado sugeriu que o hormônio de crescimento estimulou diretamente as células do disco de crescimento e contrariou a teoria de que o GH aumenta a concentração plasmática de somatomedina e ela que agiria localmente. O resultado contrariou a teoria de que o aumento da concentração

plasmática de somatomedina causa aceleração longitudinal do crescimento ósseo após administração de GH. Na verdade, parece que a somatomedina foi produzida como consequência da ação do GH em vários tecidos como foi sugerido anteriormente (IAKSSON; JANSON; GAUSE, 1982).

### 3. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem a finalidade de avaliar, através da análise histomorfológica se o uso tópico de Hormônio do Crescimento recombinante humano (rhGH) melhora a reparação óssea ao redor dos implantes (com tratamento de superfície OSSEOTITE®) instalados em tíbias de coelhos.

## 4. MATERIAL E MÉTODO

### 4.1. Seleção dos Animais

Foram utilizados oito coelhos New Zealand fêmeas, com peso variando entre 3,0 kg e 3,4 kg e idades entre 11 e 15 meses, provenientes do biotério do Laboratório Universitário de Análises Toxicológicas (Unitox) da Universidade de Santo Amaro – Unisa.

A pesquisa foi realizada de acordo com os “Princípios Éticos de Experimentação Animal” elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), entidade filiada ao International Council of Laboratory Animal Science (ICLAS), com base em “Normas Internacionais para a Utilização de Animais em Pesquisa” que se apresentam com base na tríade: “Sensibilidade, Bom Senso e Boa Ciência”. Os animais foram inicialmente mantidos em observação por um período de 15 dias após sua chegada, para que fossem descartadas quaisquer anomalias em seu estado geral de saúde. Foram acondicionados em local apropriado com ventilação e temperaturas controladas ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ). Os animais durante todo o experimento foram alimentados com ração Nutríara®<sup>1</sup> e água administrada *ad libitum*. A higienização das gaiolas foi realizada de acordo com as normas do biotério do Unitox, ou seja, lavadas diariamente com água e sabão e desinfetadas com desinfetante hospitalar, sendo realizada a troca

---

<sup>1</sup> Paulínia, São Paulo- Brasil

da maravalha estéril diariamente. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas de ferro sob as mesmas condições ambientais.

Os animais receberam a mesma quantidade e qualidade de ração e ficaram sob a supervisão dos veterinários da Faculdade de Medicina Veterinária da UNISA. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNISA REGISTRO CEP UNISA Nº 042/07 (ANEXO A).

## 4.2. MATERIAL

### 4.2.1. Material permanente

Para realização do experimento, foram utilizados 04 jogos de fresas cirúrgicas BIOMET 3i®<sup>2</sup> (Figura 1), 01 chave Torque-Lock<sup>3</sup>, 01 motor BIOMET 3i®<sup>2</sup> (Figura 2), 03 contra-ângulos redutores 16:1, 04 jogos de instrumentais cirúrgicos Duflex<sup>4</sup> (contendo seringas carpule, descoladores de Molt, pinças dente de rato, pinças hemostáticas, afastadores Sammler), 01 porta agulha Maio Hegar, 01 sugador de sangue e saliva portátil Nevone<sup>5</sup>, 01 um torpedo de oxigênio medicinal WHITE MED<sup>6</sup>,

---

<sup>2</sup> Implant Innovations do Brasil Ltda. São Paulo – Brasil

<sup>3</sup> Intra-Lock Int., Inc., Boca Raton, Flórida, EUA

<sup>4</sup> Duflex Juiz de Fora – Brasil

<sup>5</sup> NS Indústria e comércio Ltda – Ribeirão Preto – São Paulo – Brasil

<sup>6</sup> WHITE MARTINS – São Paulo – Brasil

01 seladora BARBI <sup>7</sup> , 04 chaves digitais hexagonais 0,88 média, 04 chaves de catraca, 01 autoclave M9 ULTRACLAVE <sup>8</sup> .

#### 4.2.2. Material de consumo

Foram utilizados 32 implantes com superfície tratada Osseotite® da marca BIOMET 3i® com 3,25 mm de diâmetro e 8,5 mm de comprimento com hexágono externo, 16 fios de sutura de nylon ETHICON® <sup>9</sup> com agulha ½ circular de 1,5 cm com seção triangular, 20 cabos de bisturi estéreis <sup>10</sup> e lâminas número 15 EMBRAMED <sup>11</sup> , 08 sugadores descartáveis cirúrgicos INDUSBELLO <sup>12</sup> , de plástico estéril com pontas sobressalentes, 08 kits de paramentação cirúrgicos estéreis e descartáveis FIORELLI <sup>13</sup> composto por um campo cirúrgico fenestrado 90 X 90 cm gramatura 50 e dois protetores para mangueiras 1,20 x 0,08 cm gramatura 30, 60 pacotes de compressas de gaze estéreis 13 fios CREMER <sup>14</sup> , 16 pares de luvas cirúrgicas estéreis 7,5 MADEITEX <sup>15</sup> , 16 toucas, 16 máscaras cirúrgicas , 16 aventais cirúrgicos estéreis em autoclave, 16 frascos de soro fisiológico <sup>16</sup> de 250 ml a 0,9% e 16 agulhas gengivais Misawa <sup>17</sup> .

<sup>7</sup> BARBI Indústria Mecânica Ltda – São Paulo – Brasil

<sup>8</sup> DABI ATLANTI – São José do Rio Preto – São Paulo – Brasil

<sup>9</sup> Jhonson e Jhonson, São José dos Campos – São Paulo – Brasil lote 666174, val. 10/2009

<sup>10</sup> Embramed Indústria e Comércio Ltda – São Paulo – Brasil lote 43770, va. 12/2009

<sup>11</sup> Embramed Indústria e Comércio Ltda – São Paulo – Brasil lote 05905 fab. 24/01/2005

<sup>12</sup> INDUSBELLO Indústria de Instrumentos Odontológicos Ltda Londrina PR – Brasil lote SUG7608 Fab. 10/12/2006 Val. 10/12/2009

<sup>13</sup> La fiorelli Confecções Ltda – Marília – São Paulo – Brasil

<sup>14</sup> (CREMER S/A Blumenau – Santa Catarina – Brasil) lote 6004225/34 Fab. Ago. 2006 – Val Ago. 2008

<sup>15</sup> MADEITEX Indústria e Comércio de artefatos de Látex Ltda – São José dos Campos – São Paulo

<sup>16</sup> Biossintética Lote 05011082 Fab. 01/2006 Val. 01/2008

<sup>17</sup> Misawa Medical Industry Co, Ltda – Japão Lote 010507 Fab. 06/05/2000

## 4.3 MÉTODO

### 4.3.1. Preparo dos Animais

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais e identificados por números marcados em suas orelhas. No prontuário havia a data da cirurgia e o nome do cirurgião.

Os animais foram pesados no pré-operatório para que fosse estabelecida a dose ideal do anestésico e da medicação pós-operatória.

Na medicação pré-anestésica (MPA) foram utilizados 0,6 ml de cloridrato de ketamina<sup>18</sup>, 0,3 ml de Midazolam<sup>19</sup> e 0,5 ml de Mepiridina<sup>20</sup> intramuscularmente e, para a indução 1,0 ml de Ketamina intramuscular (IM), injetada após 10 minutos da MPA; como manutenção, foi aplicada 0,4 ml de Ketamina a cada 15 minutos até o término da cirurgia. A partir da indução, o animal passava a receber oxigênio, via máscara inalatória adaptada ao focinho durante todo o procedimento cirúrgico. Após a verificação da indução anestésica pela ausência do reflexo de dor estimulada pela pressão bidigital na orelha do animal, foi realizada a tricotomia na região da tíbia (Figura 3) a ser operada, diminuindo assim o estresse do animal. Este recebia anestesia infiltrativa na região medial da tíbia, onde era aplicado com uso de seringa carpule, um tubete de anestésico contendo cloridrato de prilocaina mais felipressina a 0,03 UI/ml

---

<sup>18</sup> Vetanarcok, Laboratório Kong S/A, Alvallaneda, Argentina

<sup>19</sup> Midazolam

<sup>20</sup> Meperidina

citanest<sup>21</sup>. A anestesia infiltrativa foi realizada, para promover a vasoconstrição local e assim diminuir o sangramento.

#### 4.3.2. Técnica cirúrgica

Com uso de bisturi com lâmina nº 15c, foi feita incisão na pele na face anterior da tíbia (Figura 05) com extensão de 5 cm aproximadamente. Posteriormente, foram incisadas as fáscias musculares com exposição da musculatura (Figura 06). Com uso de uma tesoura Metszembraun foi feita a divulsão da musculatura até a exposição do periósteo que se apresentava extremamente delgado. Este por sua vez, foi incisado com uma leve pressão da lâmina de bisturi contra o osso. Em seguida, o periósteo foi descolado com o uso de uma cureta de Molt e com auxílio de uma pinça mosquito, permitindo a exposição completa da superfície óssea (Figura 07) com o menor trauma possível.

O contra-ângulo cirúrgico 16:1 conectado ao micromotor cirúrgico tinha a rotação previamente ajustada para 1700 rpm e a bomba peristáltica ajustada para o máximo de vazão.

Um jogo de fresas para perfuração BIOMET 3i® estéril foi depositado sobre o campo cirúrgico, quando então, foi dado início as perfurações para o preparo dos alvéolos cirúrgicos. Inicialmente utilizou-se a fresa esférica (Figura 08) para marcar os pontos de perfuração (Figura 09), que foi feito no lado medial da tíbia o mais próximo

---

<sup>21</sup> Dentsply Pharmaceutical Lote 294525 Catanduva – São Paulo – Brasil

possível da articulação do joelho e a segunda o mais distante possível, na direção da articulação da pata, sem provocar danos às mesmas. Na seqüência foi utilizada a fresa super-cortante (Figura 10), alterando o protocolo sugerido pelo fabricante. Em seguida foi utilizada a fresa piloto 2/3 (Figura 11). Para diminuir o estresse no osso, no momento da inserção dos implantes, utilizou-se a fresa de 3,0mm. Finalizando, foi utilizado a fresa macho de rosca com diâmetro do implante (3,25mm), o que permitia a confecção da rosca no osso (Figura 12), facilitando a inserção dos implantes (figura 13) e possibilitando o controle uniforme da força de torque de instalação padronizado em 20 Ncm através da utilização do torquímetro.

Os implantes foram instalados com auxílio de um torquímetro Torque-Lock. Cada animal recebeu quatro implantes de titânio Biomet 3i<sup>®</sup> com tratamento de superfície (Osseotite<sup>®</sup>), sem rhGH, medindo 3,25 mm de diâmetro por 8,5 mm de comprimento, dois em cada tibia (Figura 14). No grupo teste os implantes foram embebidos com oito gotas de rhGH<sup>22</sup> (Figura 15), o que é equivalente a 0,4 mg, proporcionando assim o molhamento total de cada implante e inseridos com o auxílio do motor e do contra-ângulo (Figura 16). Para que os implantes recebessem a mesma quantidade de hormônio, utilizou-se o dispersador de hormônio do fabricante (Figura 17).

Após instalação dos implantes, foi realizada sutura interna com fio de nylon 4,0 (Figura 18). Terminado a sutura da pele (Figura19) foi feito um curativo oclusivo com uso de atadura de gaze fixada por esparadrapo.

#### 4.3.3. Dinâmica do experimento

---

<sup>22</sup> Norditropin SimpleXx 5mg/1,5ml

Um jogo de paramentação cirúrgico estéril foi aberto e os instrumentos cirúrgicos foram posicionados sobre um campo de mesa estéril. Com uso de uma pinça Allis, duas compressas de gaze estéreis dobradas sobre si e embebidas em solução de iodo-povidine a 1% foi feita a degermação da área a ser operada (Figura 04). Após este procedimento, a área a ser operada foi isolada com uso de campo cirúrgico estéril fenestrado, mantido em posição pela preensão com pinça Backaus.

Os instrumentais cirúrgicos e o jogo de fresas foram depositados sobre o campo de mesa, o campo fenestrado foi fixado na pele das tíbias por duas pinças Backaus. O contra-ângulo redutor e a ponta do sugador descartável estéril foram envolvidos por protetores estéreis e fixados no campo fenestrado pela preensão de uma terceira pinça backaus. Com a utilização de uma seringa carpule, foi realizada anestesia infiltrativa na região da tíbia, usando-se um tubete de anestésico citanest.

No grupo teste os implantes foram embebidos com oito gotas de rhGH, porque como não há trabalhos determinando a quantidade exata de hormônio e sabendo que essa quantidade pode alterar os resultados, preconizamos uma quantidade suficiente para embeber completamente os implantes sem que houvesse o derramamento do hormônio. A quantidade determinada foi de oito gotas.

Para embeber os implantes com rhGH, os mesmos foram removidos dos casulos com o dispositivo de captura de implantes, o qual estava acoplado ao contra-ângulo redutor. O motor foi acionado com a rotação de inserção de implantes, que é de 12 rpm. Observamos que apesar dos implantes serem de superfície tratada e apesar de terem um poder de molhamento, o rhGH não se espalhou muito bem pelo implante devido a sua viscosidade. Para homogeneizar o embeberimento do rhGH na superfície dos

implantes, foram dadas leves batidas no contra-ângulo para que ocorresse melhor espalhamento do rhGH.

Antes da inserção dos implantes com rhGH nos alvéolos cirurgicos, esses foram secos com gaze estéril até que ocorresse a hemostasia. Este procedimento foi realizado para que não ocorresse a diluição do rhGH pelo sangue.

Para que não houvesse interferência local e sistêmica do hormônio, devido à proximidade dos alvéolos cirúrgicos e a atuação sistêmica do hormônio, foram instalados quatro implantes em um coelho, sendo dois em cada tibia, com rhGH e denominado grupo teste (Figura 14) e quatro implantes em outro coelho, sendo dois em cada tibia (Figura 16) sem o rhGH e denominado grupo controle. No grupo controle foi deixado apenas sangue (grupo B controle), seguindo-se a instalação do implante. O monitoramento dos planos anestésicos dos animais foi realizado pelos médicos veterinários, analisando as funções vitais (frequência cardíaca e frequência respiratória) e do reflexo de dor.

Após 28 e 56 dias os animais foram sacrificados visando à exposição dos implantes instalados para posterior análise histomorfológica.

#### 4.3.4. Delineamento do estudo

Os alvéolos cirúrgicos foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme o tempo de sacrifício e de acordo com a aplicação de rhGH na superfície do implante, (Quadro I).

Grupo A – (teste): oito implantes instalados com a aplicação tópica de rhGH, que sofreram reabertura aos 28 dias para avaliação histomorfológica.

Grupo A<sub>1</sub> – (controle): oito implantes instalados sem aplicação tópica de rhGH e que sofreram reabertura aos 28 dias para avaliação histomorfológica.

Grupo B (teste): oito implantes instalados com a aplicação tópica de rhGH e que sofreram reabertura aos 56 dias para avaliação histomorfológica.

Grupo B<sub>1</sub> (controle): oito implantes instalados sem a aplicação tópica de rhGH e que sofreram reabertura aos 56 dias para avaliação histomorfológica

GRUPO	n	Implante	Data sacrifício	Número de coelhos
A teste (28 dias)	8	Com rhGH	28 dias	2
A <sub>1</sub> controle (28 dias)	8	Sem rhGH	28 dias	2
B teste (56 dias)	8	Com rhGH	56 dias	2
B <sub>1</sub> controle (56 dias)	8	Sem rhGH	56 dias	2

Quadro 1 – Divisão dos grupos experimentais

#### 4.3.5. Análise histológica

Os animais foram sacrificados por super-dosagem de anestesia intramuscular, a mesma utilizada para a realização das cirurgias, seguido de aplicação de cloreto de potássio intra-cardíaco. As tíbias foram cuidadosamente dissecadas, em seguida seccionadas utilizando-se o motor de implante com um disco diamantado conectado a uma peça reta. Para que não houvesse alteração das amostras foi utilizado irrigação com soro fisiológico 0,9%. As seções foram feitas com uma margem de 5 mm de distância dos implantes, sendo que as mesmas continham os dois implantes. Após serem removidas, as peças foram imediatamente armazenadas em formol a 10% (pH 7,0). Todos os frascos foram identificados com etiquetas escritas com grafite. As amostras foram enviadas para o Departamento de Histologia da UNISA, onde as mesmas foram descalcificadas e preparadas para a confecção das lâminas.

As peças contendo os implantes foram fixadas em formol a 10% (pH 7,0) por 72 horas. Em seguida, as amostras foram descalcificadas com ácido fórmico a 5% por um período de 21 dias. Após a descalcificação os implantes foram removidos através de pressão rotacional no sentido anti-horário, com auxílio da chave adaptada ao montador do implante, técnica descrita por Ponzoni (2004).

Após remover os implantes, as peças foram seccionadas no meio e ao longo eixo do espaço deixado pelo implante (Figura 22), e novamente colocadas no ácido fórmico a 5% para finalizar a descalcificação. Após a descalcificação as peças foram diafanizadas com xilol comercial, por três dias. Em seguida as amostras foram processadas e incluídas em parafina e foram realizados cortes com 5 $\mu$ m de espessura

utilizando micrótomo. As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina, tricrômico de Mallory e tricrômico de Masson, e os cortes histológicos foram analisados por meio de microscopia de luz, também no Departamento de Histologia da UNISA.

#### 4.3.6. Seqüência fotográfica do experimento

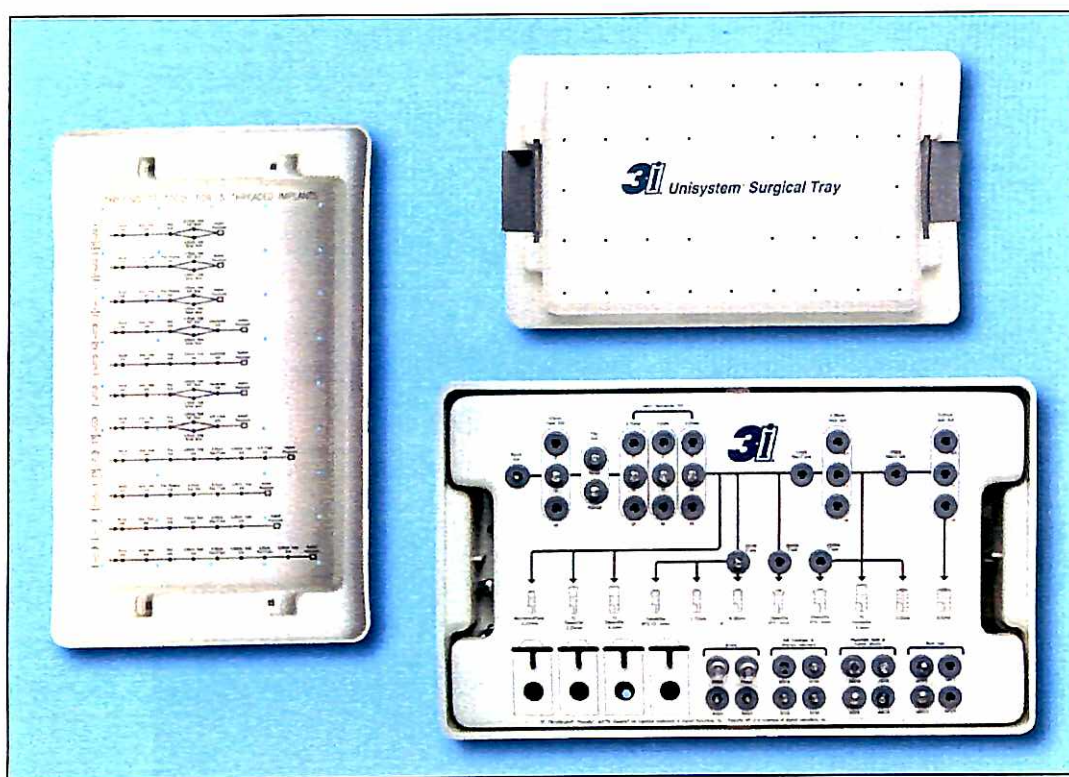


Figura 1 – Jogo de fresas BIOMET 3i®



Figura 2 – Motor usado no experimento (Biomet 3i<sup>®</sup>)



Figura 3 – Tricotomia da região a ser operada



Figura 4 – Degermação com iodo-povidina 1%

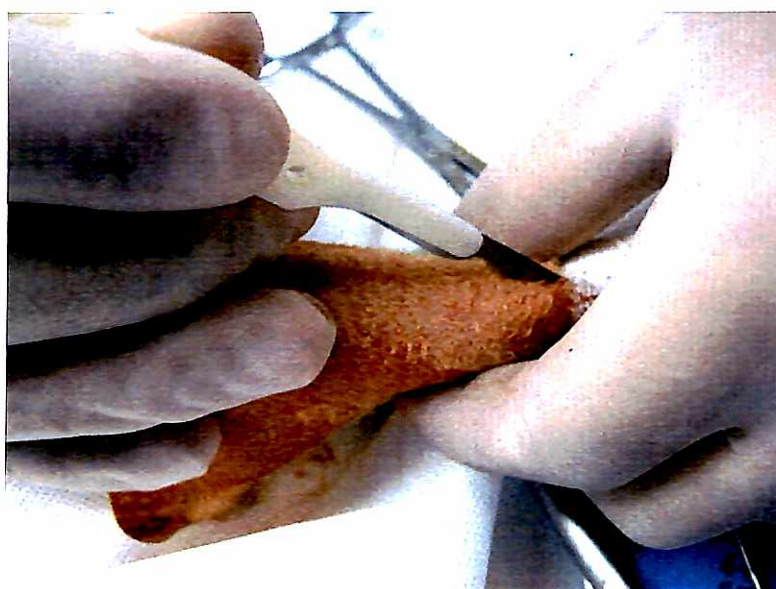


Figura 5 – Incisão na pele



Figura 6 – Exposição do plano muscular

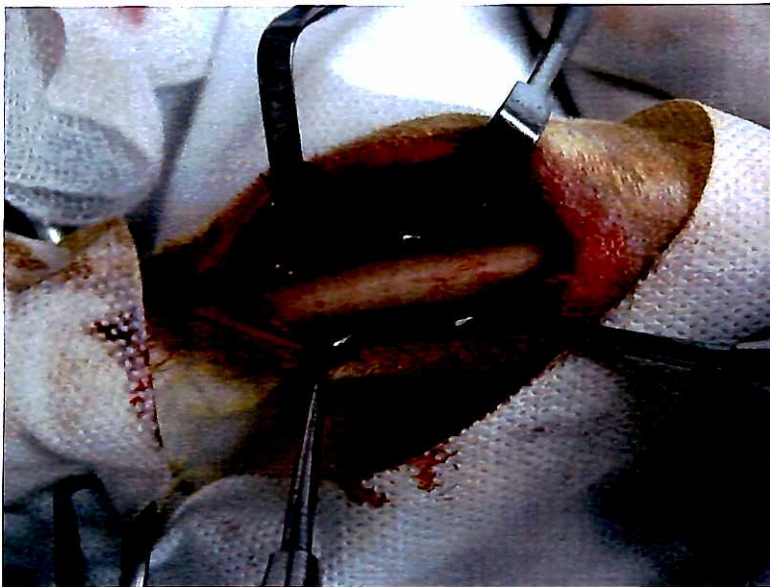


Figura 7 – Exposição da superfície óssea

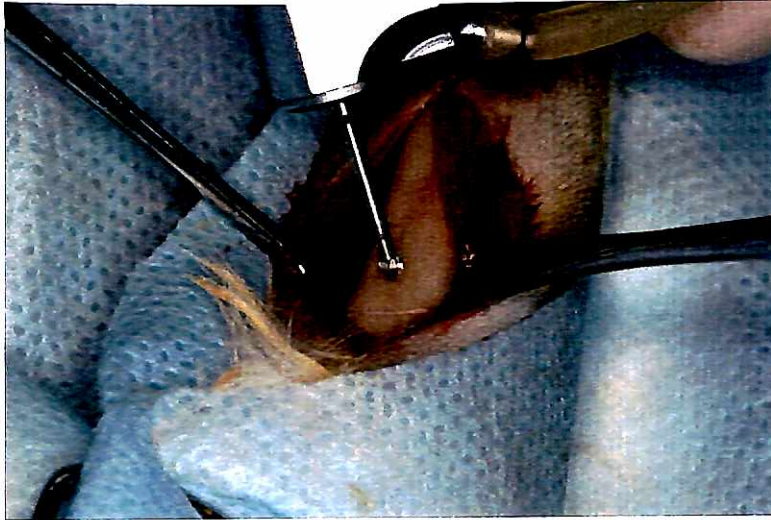


Figura 8 – Fresa esférica (início das perfurações)



Figura 9 – Marcação dos pontos de perfuração

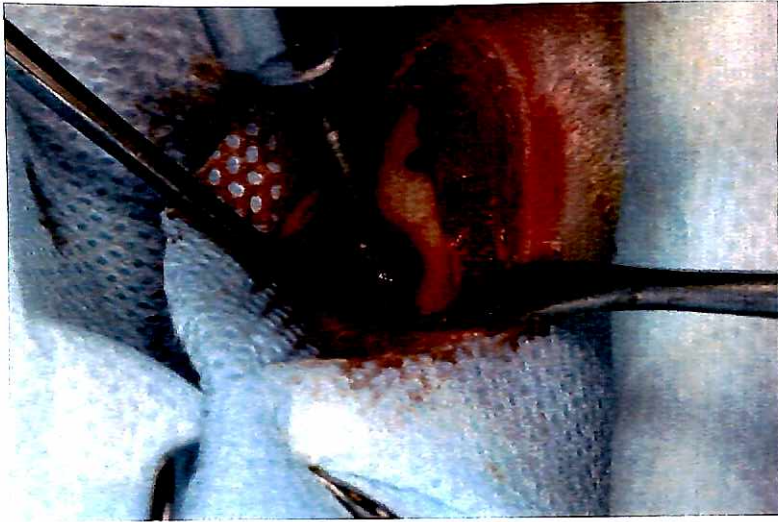


Figura 10 – Fresa super-cortante

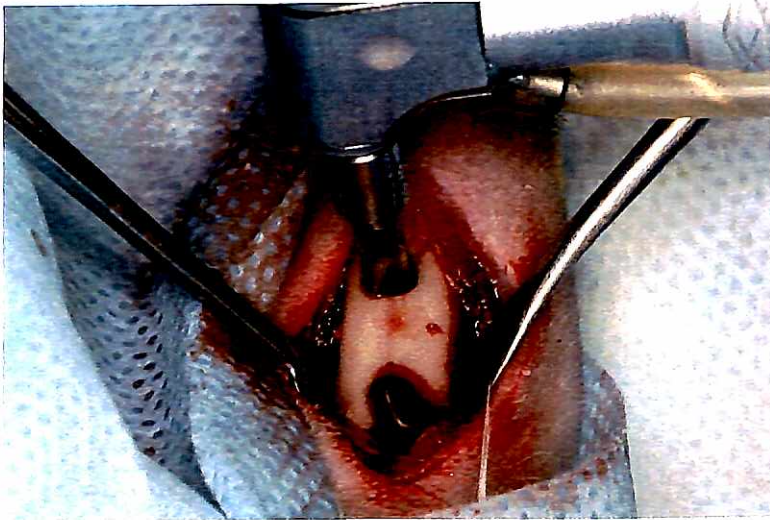


Figura 11 – Fresa piloto 2/3

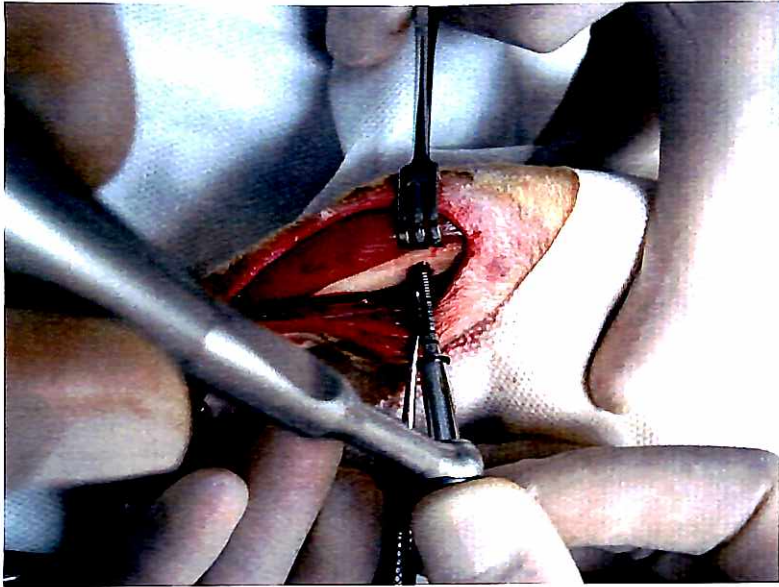


Figura 12 – Macho de rosca

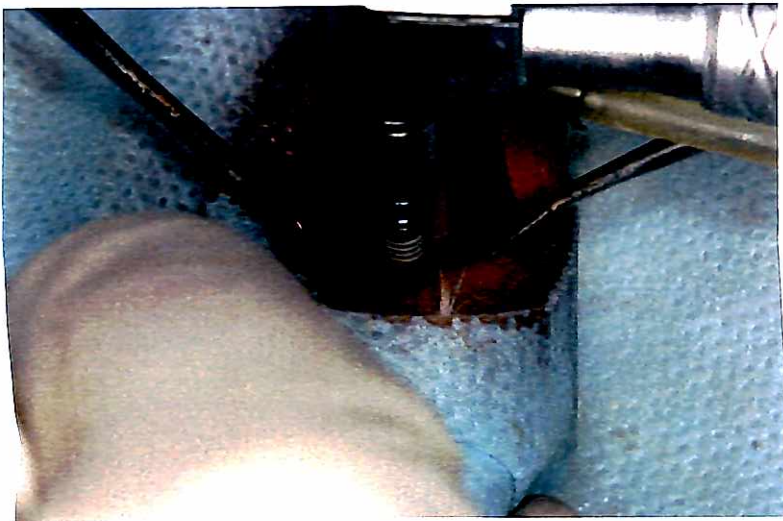


Figura 13 – Inserção do implante sem rhGH

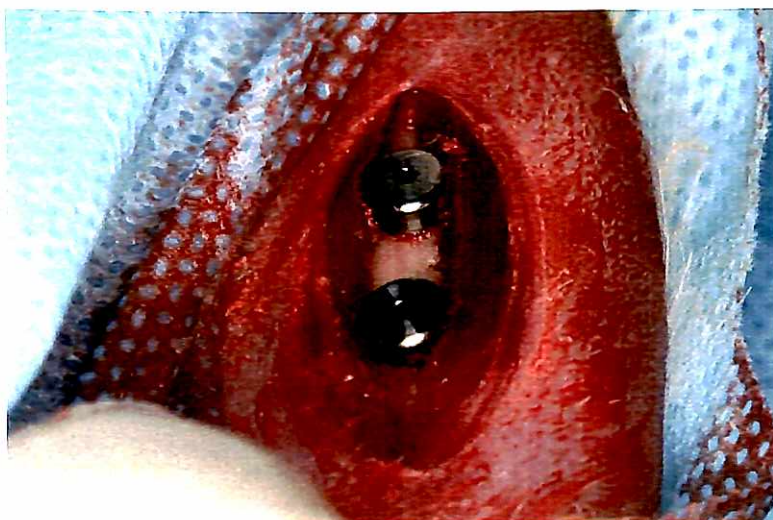


Figura 14 – Implantes sem rhGH posicionados

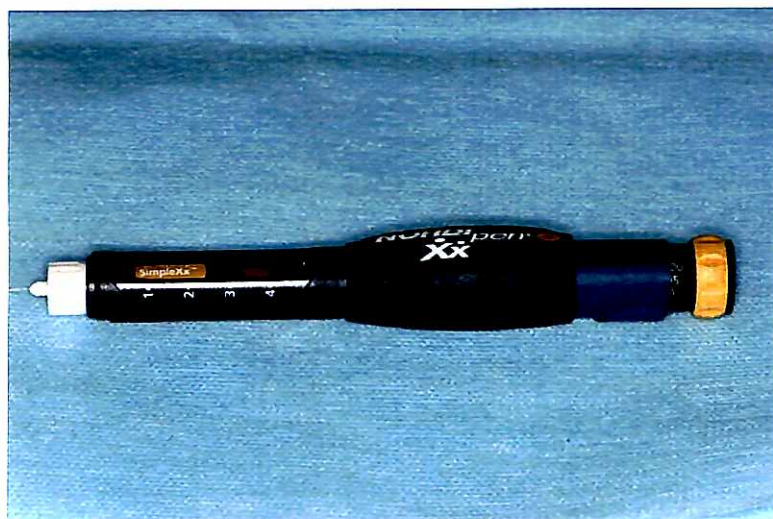


Figura 15 – Dispersador com rhGH

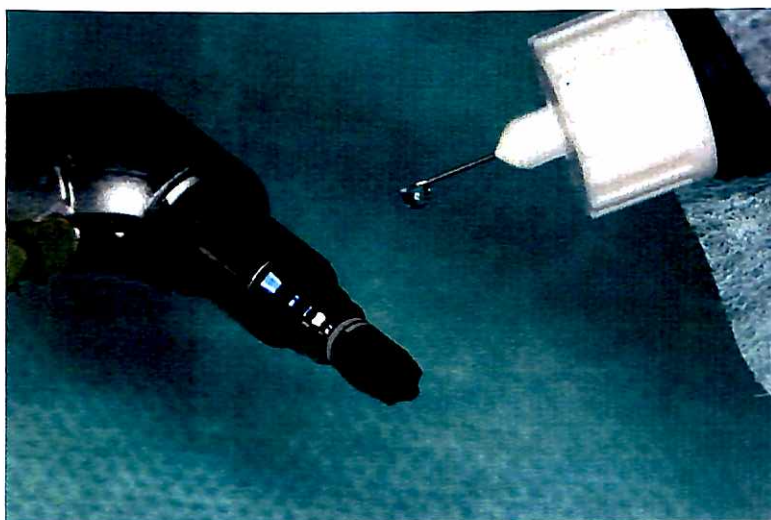


Figura 16 – Implante sendo embebido com rhGH

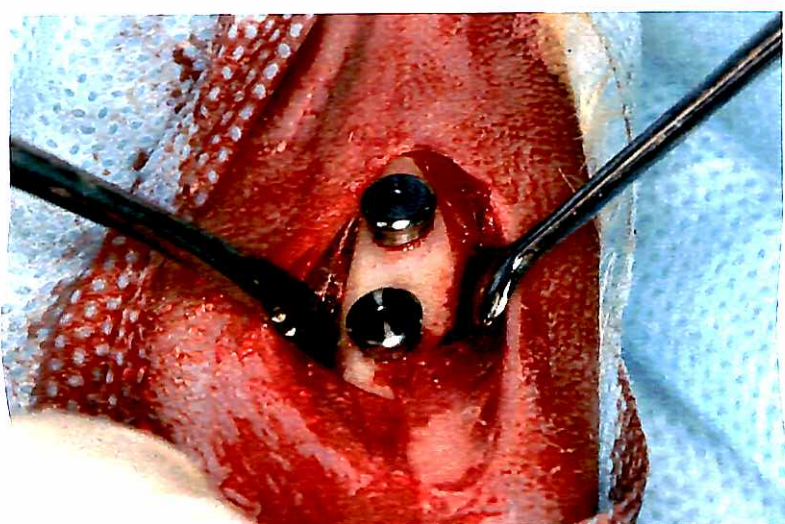


Figura 17 – Implantes com GH posicionados



Figura 18 – Sutura do plano muscular

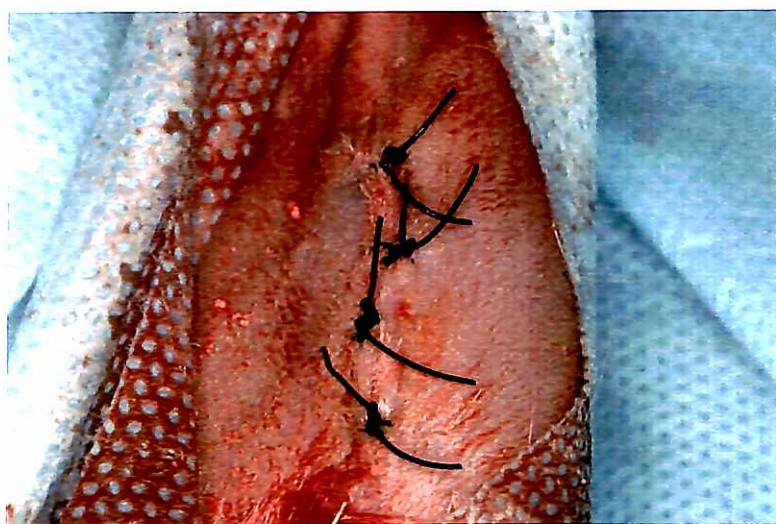


Figura 19 – Sutura da pele

#### 4.3.7. Seqüência de fotos da abertura

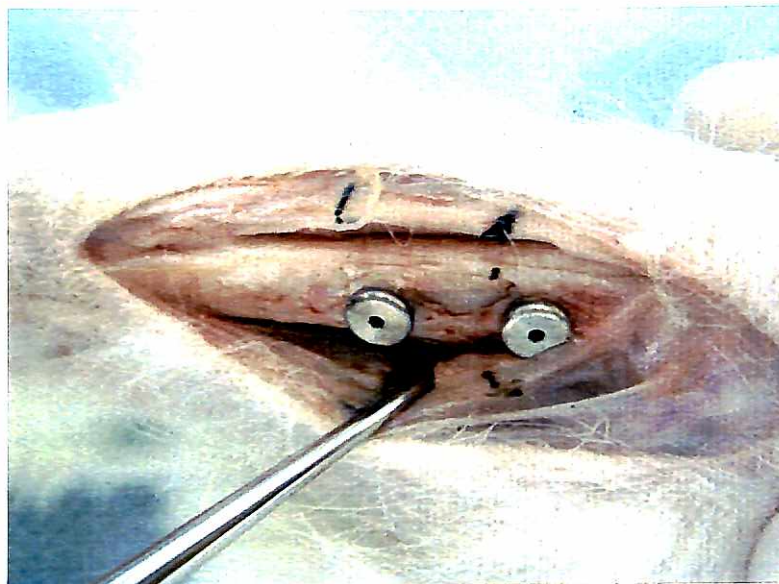


Figura 20 – Exposição dos implantes



Figura 21 – Secção da tíbia



Figura 22 – Peça sem o implante e seccionada

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análise Histomorfológica

#### Resultados do grupo A (teste 28 dias).

Encontramos em toda a superfície do implante, desde a cervical até o ápice, osso neoformado sem a presença de tecido conjuntivo indicativo de fibrose (Figura 23).

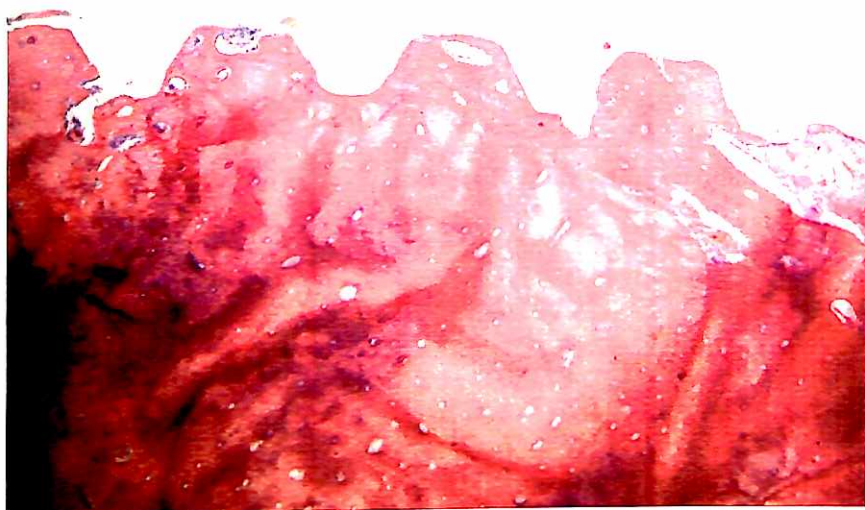


Figura 23 - Grupo A (teste 28 dias) 40x HE

É nítida a interface entre o osso pré-existente (tipicamente secundário) e o osso neoformado (seta A) (Figura 24).

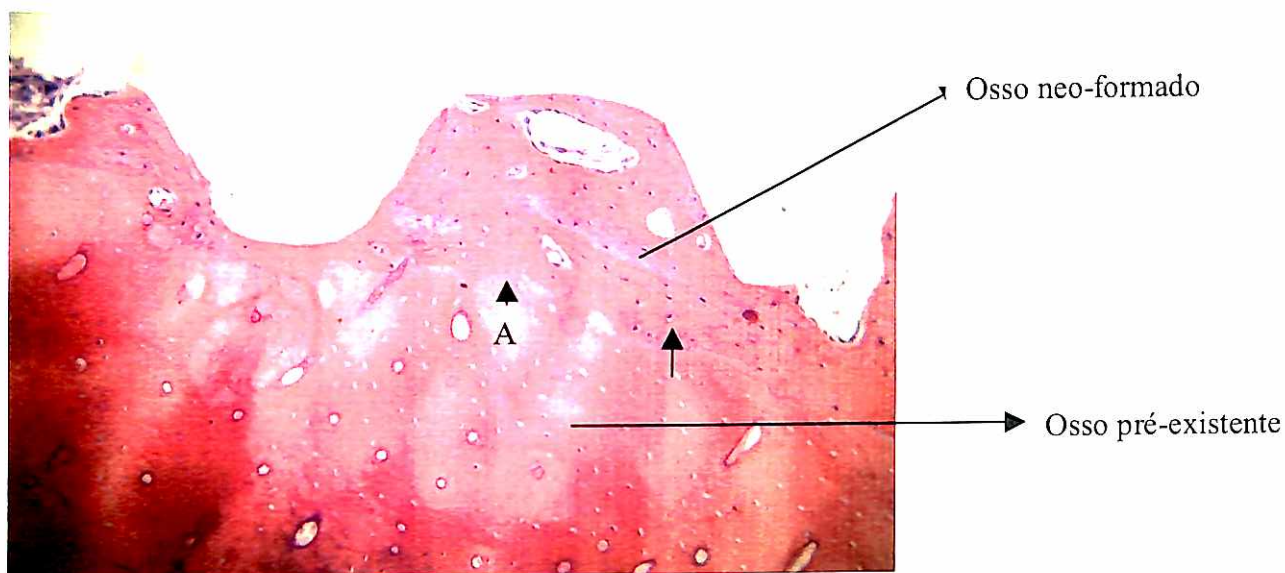


Figura 24 – Grupo A (teste 28 dias) 100x HE

Este osso neoformado presente nas espiras dos implantes apresenta osteócitos em grande quantidade, habitando em lacunas amplas, o que nos levam a acreditar que são osteócitos jovens. Ainda se mostram presentes alguns centros de ossificação intramembranoso, no interior do osso neo-formado, revestidos de osteoblastos secretores (Figura 25).

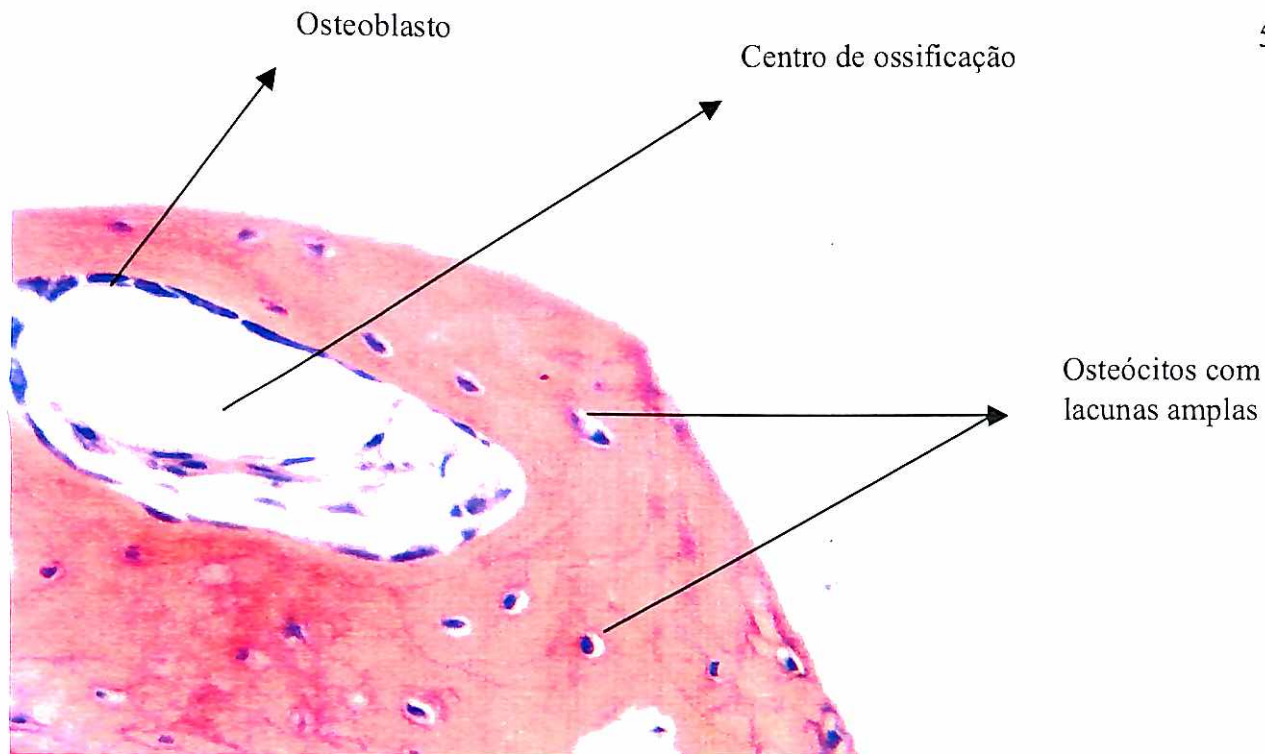


Figura 25 – Grupo A (teste 28 dias) 400x HE

Ainda neste mesmo tempo de reparação é possível observar que o osso neoformado já se encontra em fase de substituição para osso secundário (maduro), uma vez que é possível a observação de sistemas de Havers em formação, já apresentando canais de Havers e osteócitos distribuídos em sistemas de lamelas concêntricas ao redor desses canais. Ainda é nítida a observação de que estes osteócitos presentes no sistema de Havers habitam lacunas típicas de osso secundário de volume reduzido e formato elipsóide. O osso pré-existente é tipicamente secundário fazendo parte da cortical diafisária da tíbia do animal (Figura26).

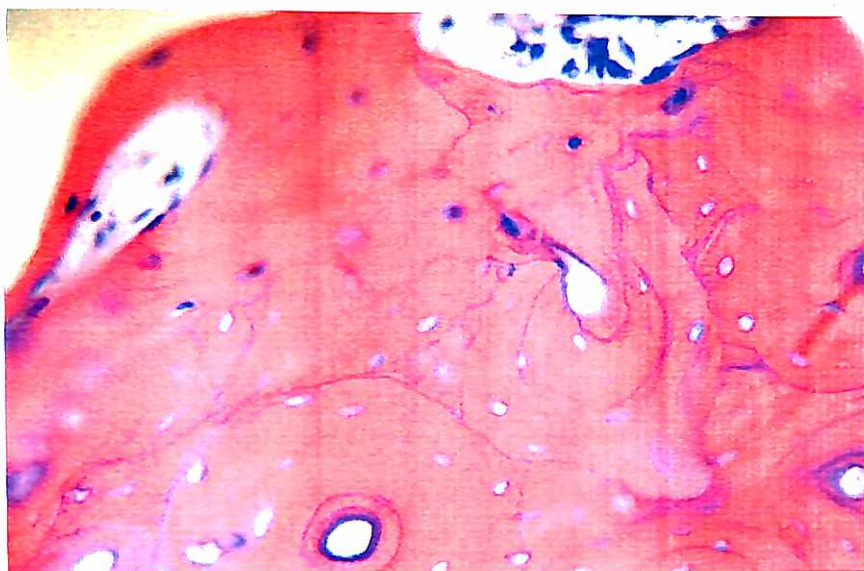


Figura 26 – Grupo A (teste 28 dias) 400x HE

O corte histológico revela a região profunda do alvéolo cirúrgico, local no qual também não foi encontrado nenhum tipo de tecido indicativo de fibrose, sendo o implante certamente circundado por tecido ósseo neoformado, como descrito anteriormente (Figura 27).

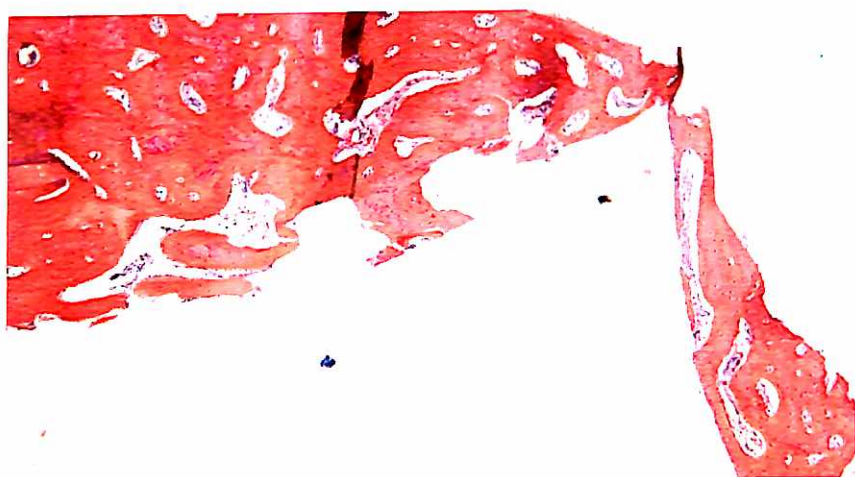


Figura 27 – Grupo A (teste 28 dias) 40x HE

Para atestar a perfeita conservação das amostras foi documentada a região cervical do alvéolo cirúrgico, local no qual foi possível observar o preparo do “counter sink” (Figuras 28 e 29)

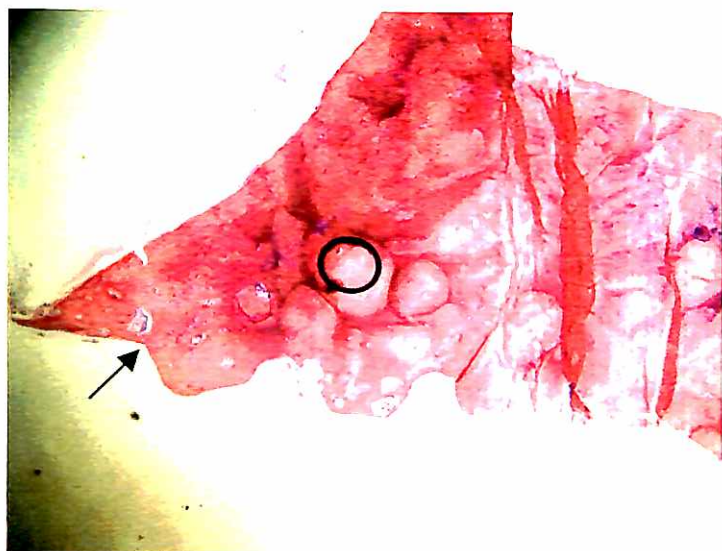


Figura 28 – Grupo A (teste 28 dias) 40x HE

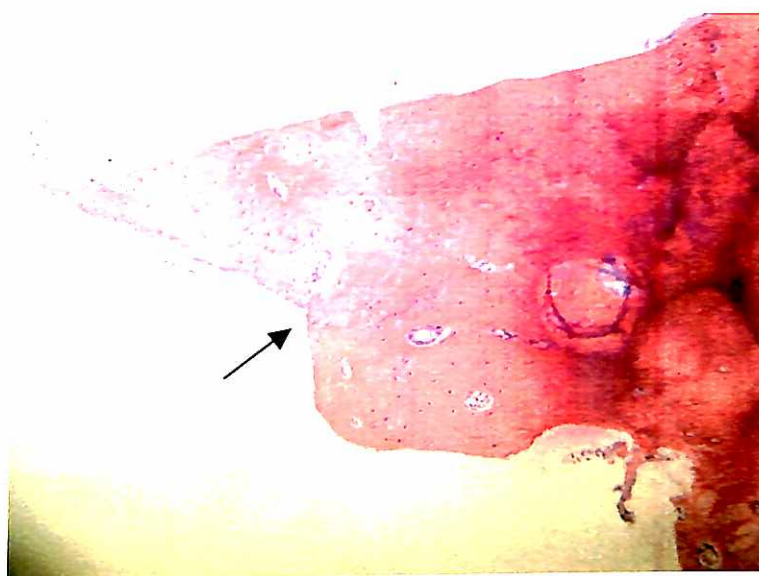


Figura 29 – Grupo A (teste de 28 dias) 100x HE

### Resultados do grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias).

Neste grupo, observamos que a reparação óssea se processou de maneira completa somente no osso cortical relativo à diáfise da tíbia. Porém, na região relativa a medula deste osso não houve processo de reparação significativo, mantendo-se nesta região a presença de um tecido mole de aspecto típico de medula óssea amarela, tecido este que copiou a morfologia da superfície do implante. Este tecido (medula amarela) apresentou-se típico de ossos longos, com a presença maciça de células adiposas, além de uma quantidade significativa de vasos sanguíneos. Encontramos ainda a presença de uma artéria de pequeno calibre (Figuras 30 e 31).

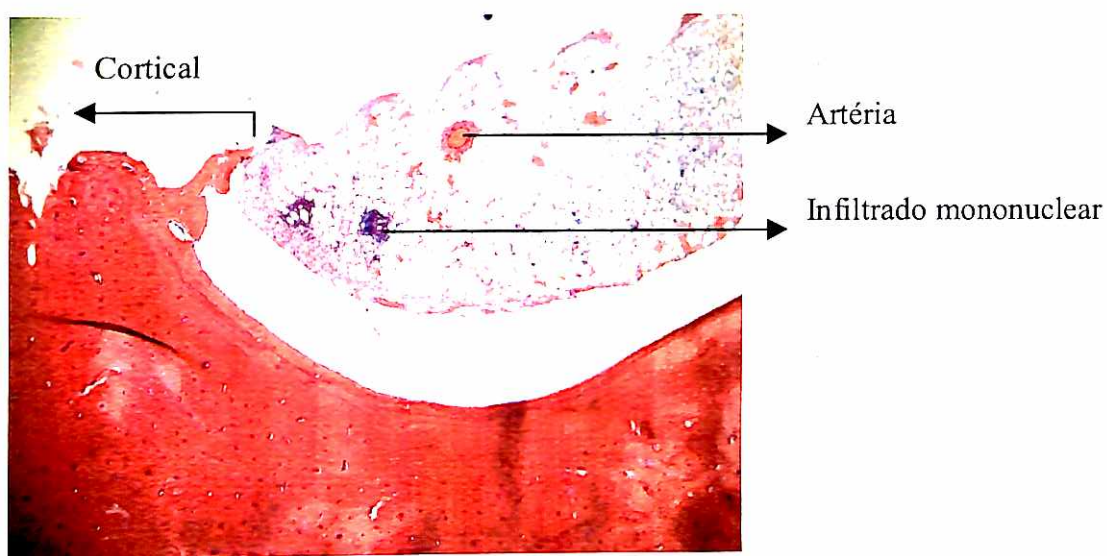


Figura 30 - Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 40x HE

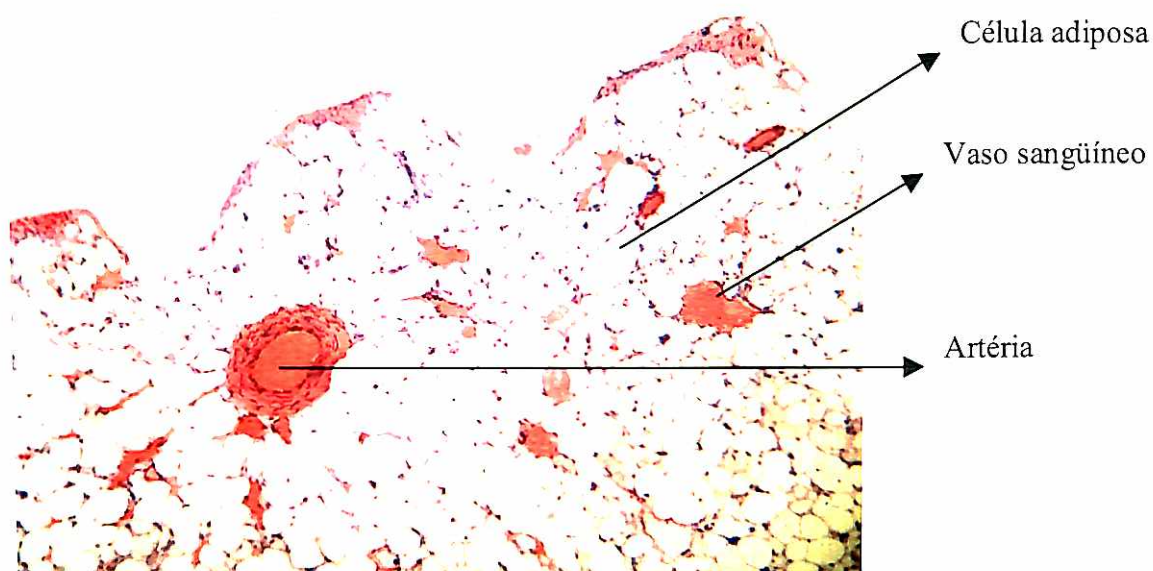


Figura 31 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE

Observando-se em maior aumento este tecido mole medular, especificamente na região relativa as espiras do implante, foi possível identificar algumas regiões de tecido conjuntivo frouxo com a presença de fibroblastos e raras fibras colágenas (Figura 32).

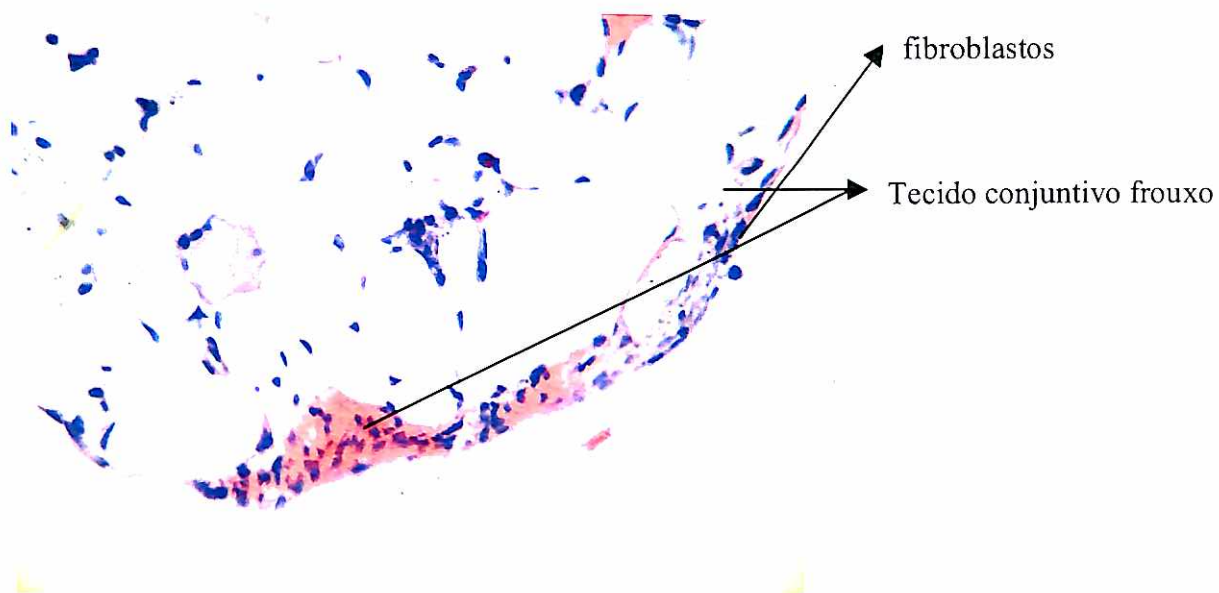


Figura 32 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 400x HE

Observamos também neste tecido medular a presença de algumas regiões de infiltrado mononuclear focal, de caráter inflamatório (Figuras 33 e 34).

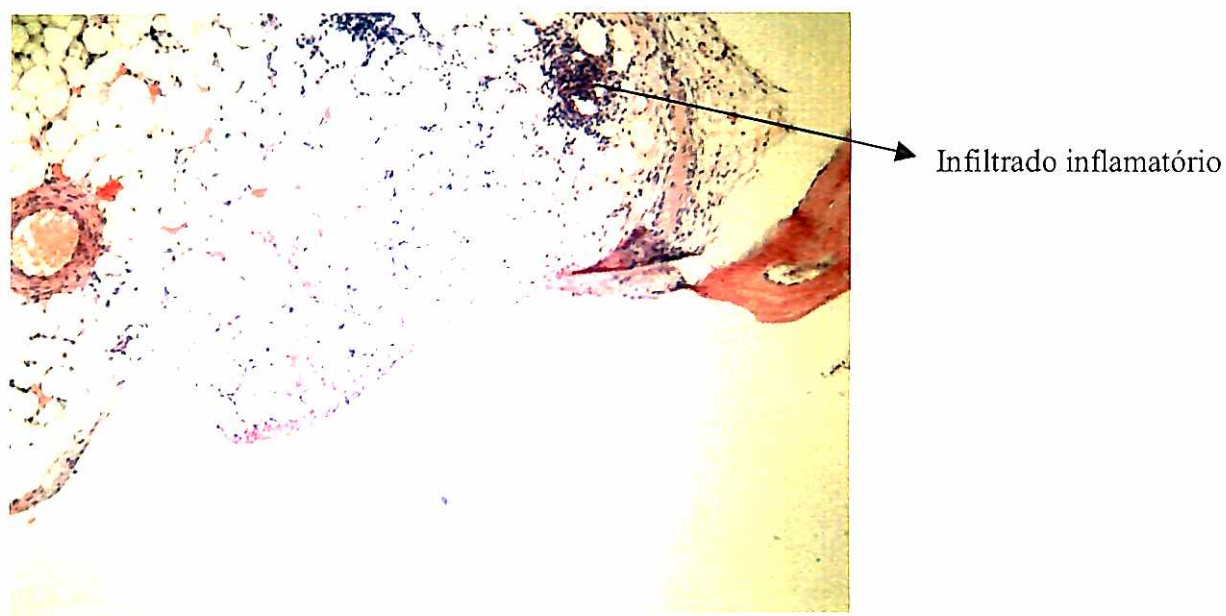


Figura 33 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE

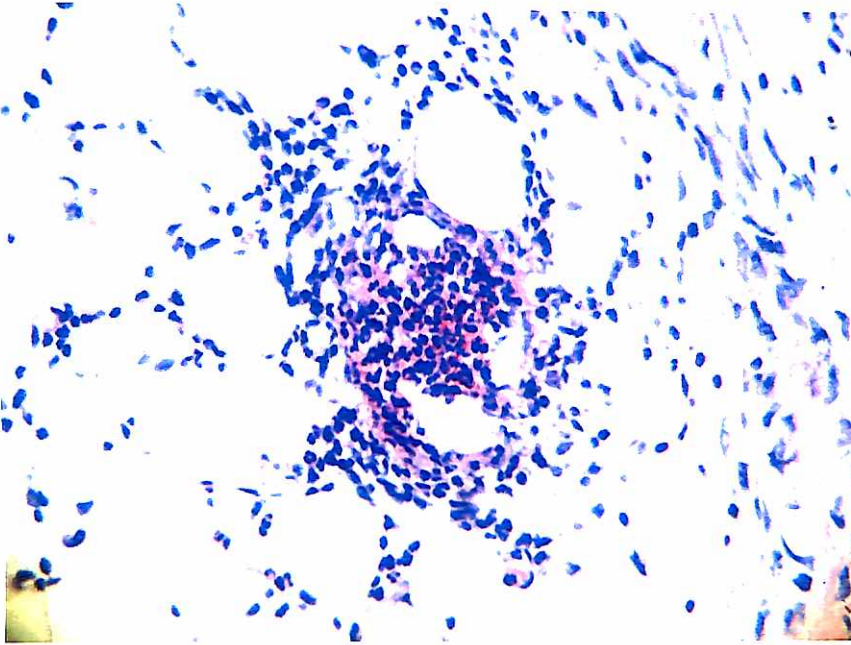


Figura 34 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 400x HE

Ainda nestas amostras observamos em raras regiões desse tecido medular, especificamente na sua interface em relação ao implante, pequenos centros de ossificação que apresentaram formação de osso tipicamente primário (Figuras 35 e 36).

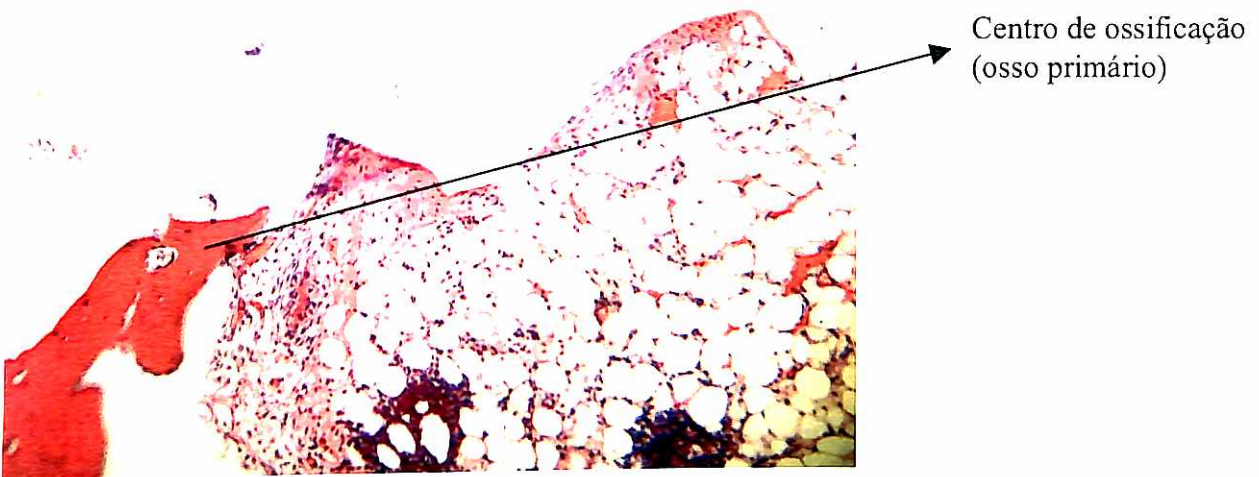


Figura 35 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE

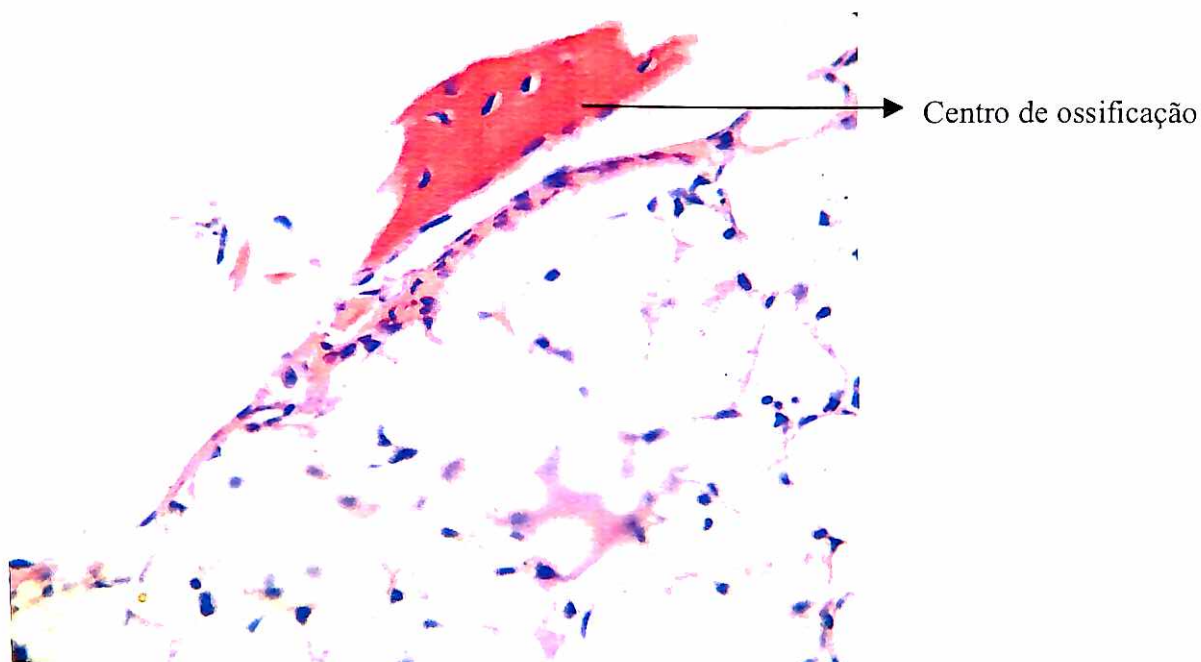


Figura 36 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 400x HE

Foi possível observar também nestas amostras, a presença do sistema circunferencial interno, estrutura típica da face interna de qualquer cilindro diafisário, onde as fibras colágenas de matriz óssea se organizam em arranjos paralelos à superfície interna do osso, determinando a “cortical interna” do canal medular. A presença desse sistema circunferencial interno delimita a circunferência do canal medular que se mostrou preservada, preenchida somente pelo tecido medular já descrito anteriormente. Esta situação não foi observada nos grupos teste, nos quais não foi mais possível observar este canal medular, uma vez que esta região estava totalmente preenchida por tecido ósseo (Figuras 37 e 38).

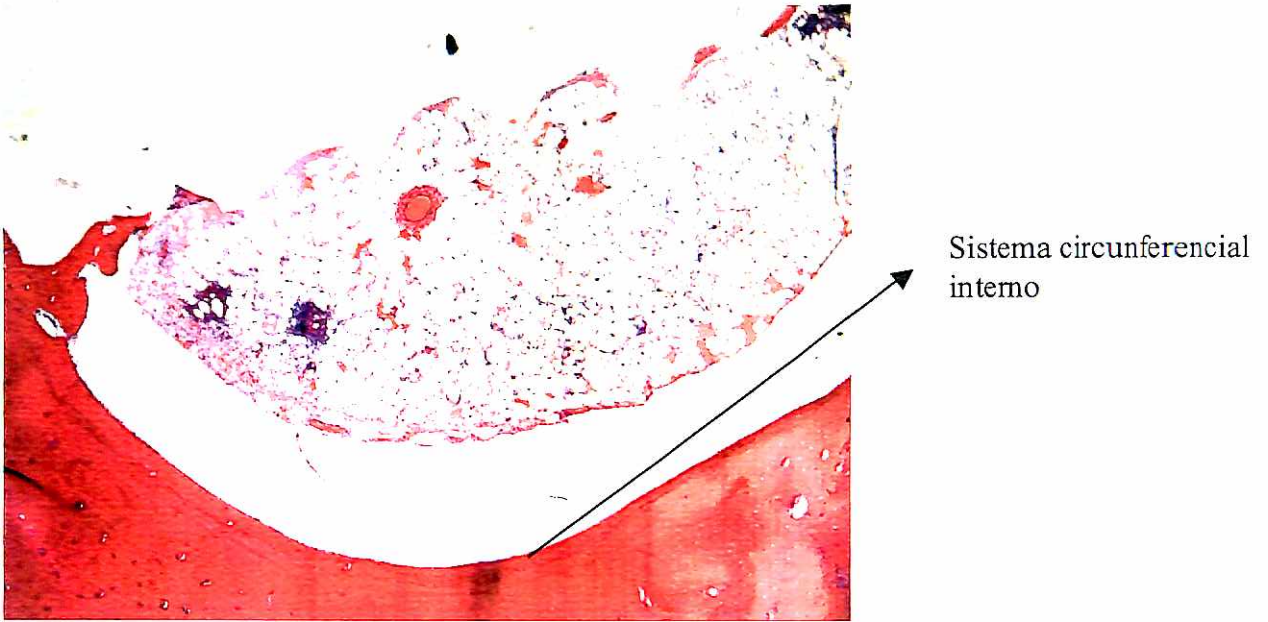


Figura 37 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 40x HE

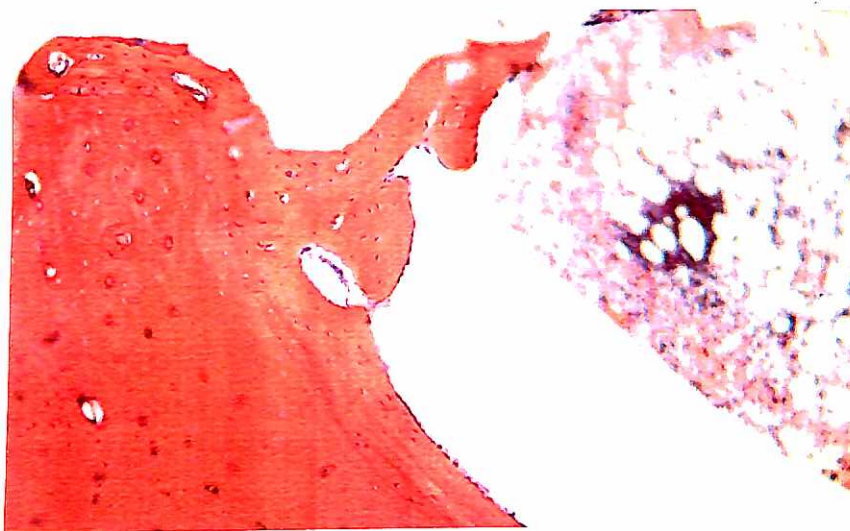


Figura 38 – Grupo A<sub>1</sub> (controle 28 dias) 100x HE

### Resultados do grupo B (teste 56 dias).

Aos 56 dias mesmo com o término do processo de descalcificação das amostras, encontramos dificuldade no momento da remoção dos implantes. Isto foi revelado também nos cortes histológicos, que revelaram uma destruição parcial da superfície óssea relativa à região do implante. O osso remanescente encontrado nas amostras revelou-se maduro recobrendo toda a extensão do implante, desde a região cervical até a região mais profunda do alvéolo cirúrgico. Não foi possível observar nenhum tipo de tecido conjuntivo ao redor do implante (Figuras 39, 40, 41 e 42).

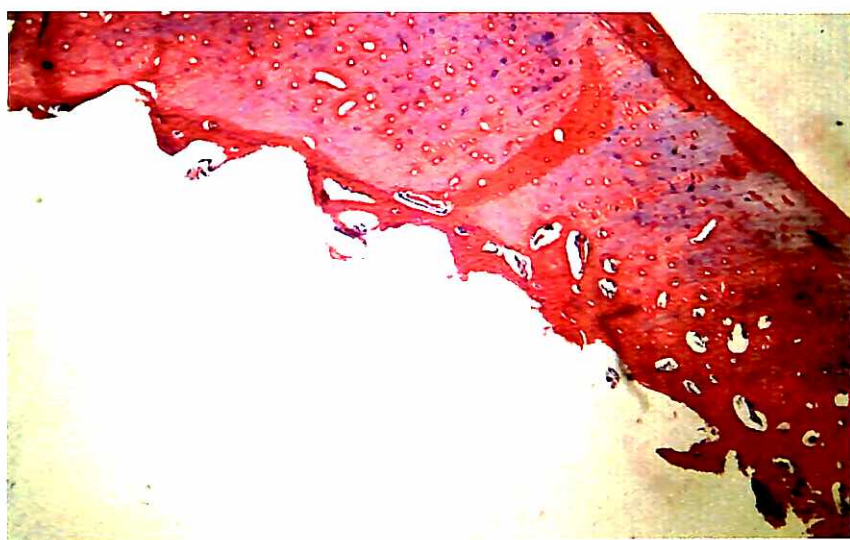


Figura 39 – Grupo B (teste 56 dias) 40x HE



Figura 40 – Grupo B (teste 56 dias) 40x HE - Região cervical

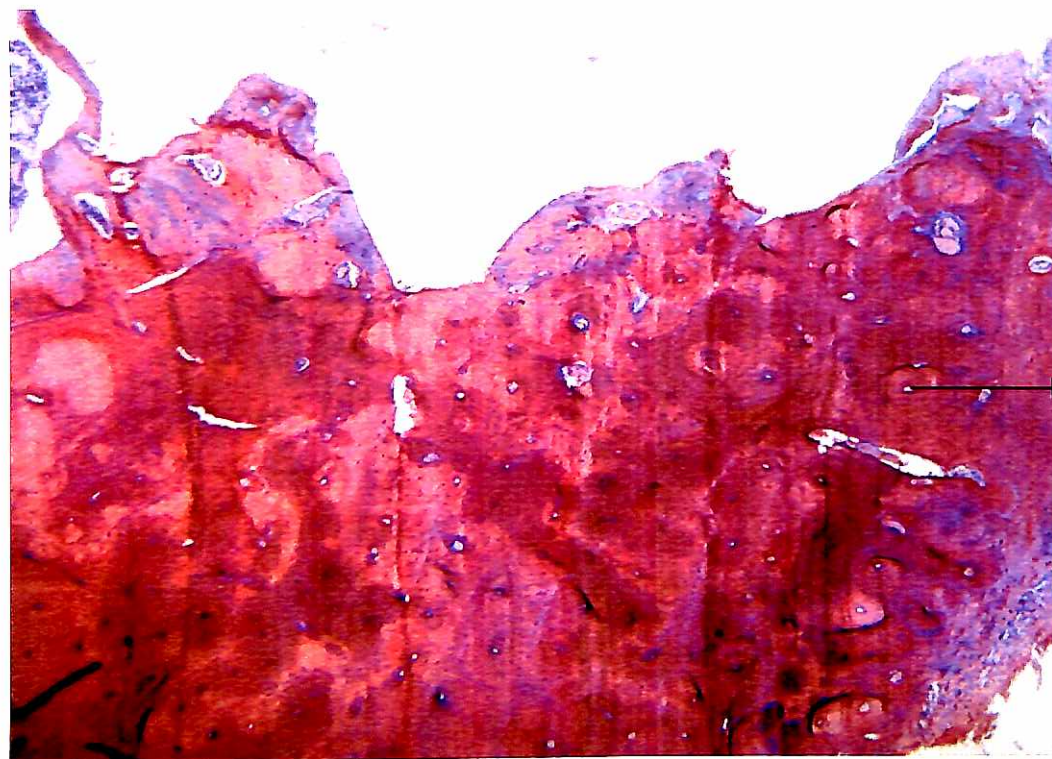


Figura 41 – Grupo B (teste 56 dias) 100x HE – região média - Nesta amostra é constante a presença do sistema de Havers típico de um tecido ósseo secundário.

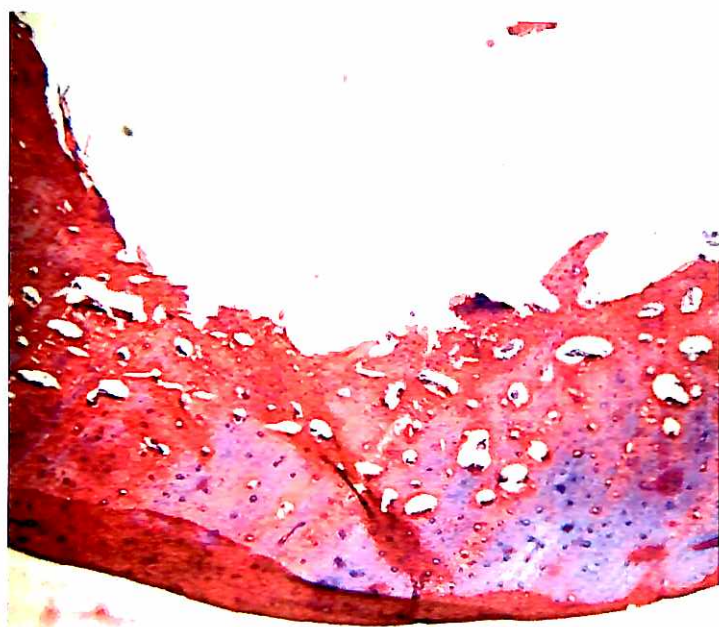


Figura 42 – Grupo B (teste 56 dias) 40x HE - Fundo do alvéolo

#### **Resultados do grupo B<sub>1</sub> (controle 56 dias).**

Presença de reparação óssea completa somente na região da cortical da tíbia. Na região medular, não houve processo de ossificação significativa, tendo a mesma descrição do grupo A<sub>1</sub> (controle de 28 dias). A diferença observada foi que o osso relativo às espiras do implante pareceu ser um pouco mais maduro (Figura 43).

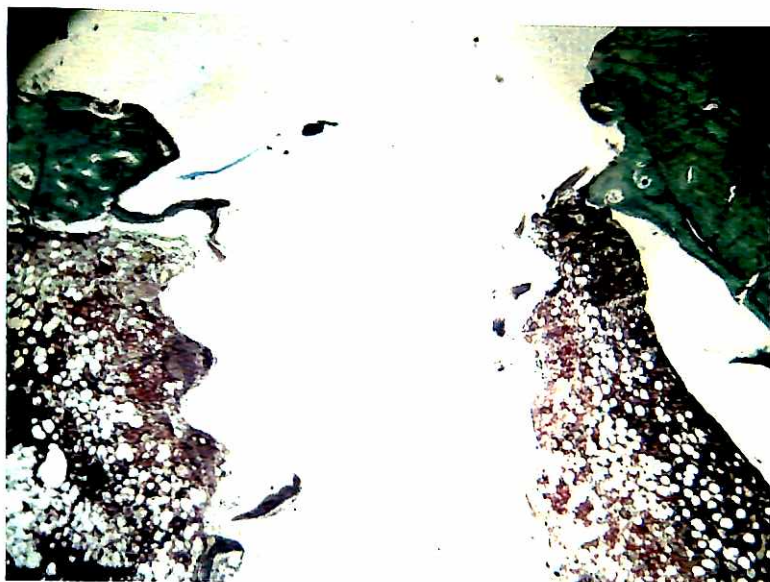


Figura 43 – Grupo B<sub>1</sub> (controle 56 dias) 40x tricrômico de Masson

Centro de ossificação mais maduro do que no grupo controle de 28 dias (Figura 44)

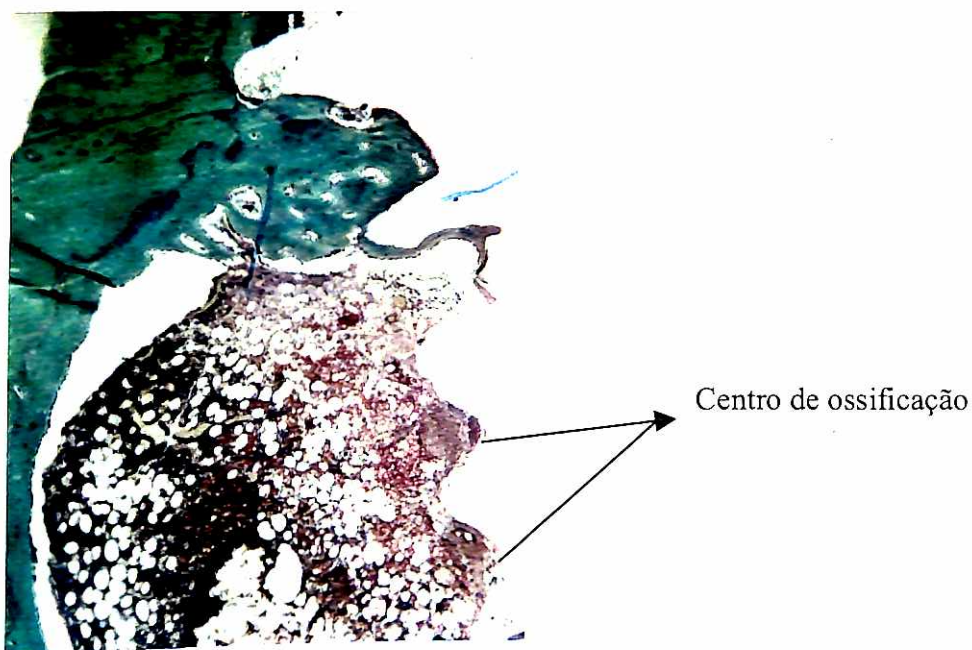


Figura 44 – Grupo B<sub>1</sub> (controle 56 dias) 100x tricrômico de Masson

Osso secundário na região cortical, referente a espira do implante (Figura 45)



Figura 45 – Grupo B<sub>1</sub> (controle 56 dias) 100x tricrômico de Masson

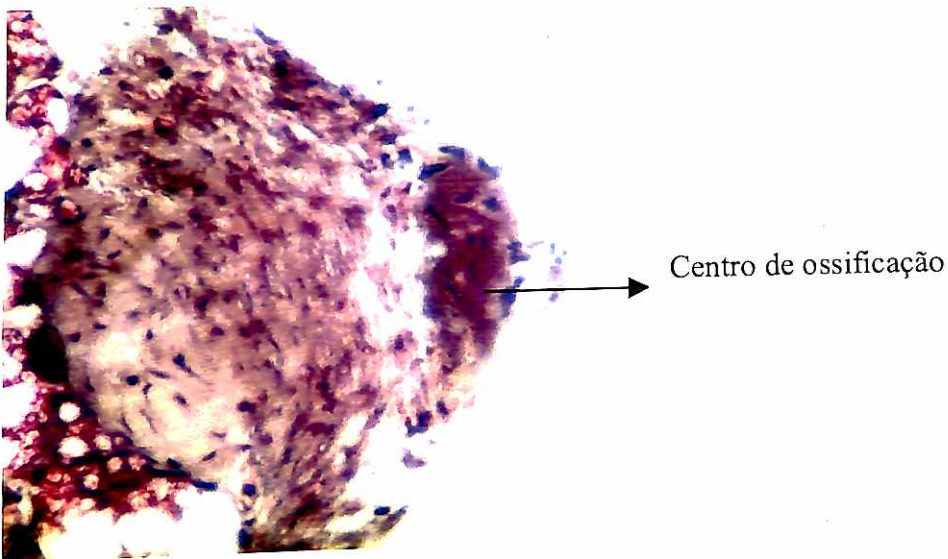


Figura 46 – Grupo B<sub>1</sub> (controle 56 dias) 400x HE

GRUPO	Implante	Reparação óssea
A teste (28 dias)	Com rhGH	Osso secundário Início de formação de lamelas
A <sub>1</sub> controle (28 dias)	Sem rhGH	Osso primário Pequenos centros de ossificação
B teste (56 dias)	Com rhGH	Osso secundário Sistema de Havers
B <sub>1</sub> controle (56 dias)	Sem rhGH	Osso primário Centros de ossificação maiores

Quadro 2 – Comparação dos resultados

## 6. DISCUSSÃO

Apesar do sucesso dos implantes osseointegráveis, mesmo em tratamentos com implantes com carga precoce (ENGSTRAND et al., 2003), a literatura mostra que há um índice de perda de implantes maior em diabéticos (NEVINS et al., 1998; McCRAKEN et al., 2005) e fumantes (BRAIN; MOY, 1993; HINODE et al., 2006; SWEET, 1992) e que os pacientes submetidos ao tratamento com implantes necessitam estarem controlados durante o tempo de reparação óssea ao redor desses implantes. Por esta razão, quanto menor o tempo de reparação óssea ao redor dos implantes, menor será o tempo de controle desses pacientes, melhorando assim a previsibilidade de sucesso dos tratamentos com implantes neste tipo de pacientes.

Outros fatores que podem afetar a osseointegração são: osteoporose (MOMBELL; CIONCA, 2006; FRIBERG, 1994), tempo de cirurgia (SMITH; BERGER; DODSON, 1992; STREENBERGHE et al., 2003), e radioterapia (YERIT et al., 2004).

Com o objetivo de melhorar a previsibilidade de sucesso e diminuir o tempo de reparação dos implantes osseointegrados, muitas pesquisas são feitas em função de melhorar a superfície dos implantes e assim aumentar o contato osso-implante. Vários autores demonstraram que a extensão da interface osso-implante está relacionada com o aumento da rugosidade da superfície do implante (THOMAS; COOK, 1985; BRUNETTE, 1988; BUSER et al., 1991) porque ocorre um aumento significativo nos níveis de adesão celular (BAIER; MEYER, 1988; ELLINGSEN, 1998; BOWERS et al., 1992).

Os estudos com implantes com tratamento de superfície (SLA, TPS e OSSEOTITE) resultaram em melhoria da osseointegração e da qualidade óssea ao redor desses implantes (ODONT et al., 1997; PIATTELLI et al., 1997; COCHRAN et al., 1997; VEIS et al., 2006). A ação do rhGH melhorou ainda mais a densidade óssea em osso poroso nos trabalhos de Amarante e Lima (2001) e Veis et al. (2006), o que vai de encontro com o que foi encontrado nas análises histológicas dos nossos experimentos.

Observamos na literatura que fatores sistêmicos também alteram a osseointegração (MOMBELL; CIONCA, 2006) devido à interferência na reparação óssea e que o rhGH melhora a deposição de osso e a força mecânica de defeitos na reparação óssea.

Uma vez que o rhGH administrado sistemicamente pode levar a efeitos colaterais relacionados à quantidade excessiva e ao uso prolongado (GUYTON; HALL, 2002) e levando em consideração que o rhGH tem ação local, alguns estudos foram feitos para avaliar a melhoria da osseointegração com a aplicação tópica de rhGH na instalação de implantes (TRESGUERRES et al., 2005; TRESGUERRES et al., 2002; ARRIBA et al., 2001; IAKSSON; JANSON; GAUSE, 1982). Seguindo esta linha de raciocínio fizemos nosso trabalho alterando o modo de aplicação tópica do rhGH, que foi através do embebimento do implante com rhGH e obtivemos resultados semelhantes no que se refere à melhoria da qualidade da reparação óssea ao redor desses implantes.

O rhGH não foi colocado nos alvéolos como no trabalho de Tresguerres, et al. (2005), porque nosso trabalho investigou a melhoria da superfície dos implantes através da adição do rhGH. O fato de estes implantes terem a superfície tratada impediu que ocorresse a remoção total do rhGH no momento da inserção destes implantes nos alvéolos.

Recentemente alguns artigos têm documentado os efeitos da aplicação local do rhGH para melhorar a reparação do osso periimplantar. Tresgueres et al. (2005), obtiveram em seus trabalhos os seguintes resultados:

1. Análise macroscópica: as tíbias tratadas com rhGH não mostraram um maior crescimento de formação de novo tecido nos grupos de 6 semanas.

2. Microscopia de luz: Os resultados microscópicos mostraram que na semana 6, a reabsorção óssea encontrada foi maior no grupo controle do que no grupo experimental. Os osteons no córtex nesta semana estavam mais organizados no grupo rhGH do que no grupo controle.

Em nosso experimento, o grupo teste de 28 dias teve diferença macroscópica em relação ao grupo controle. A porção medular da tíbia no grupo teste apresentou-se macroscopicamente mais compacta do que no grupo controle. Na análise microscópica observamos a presença de grande quantidade de osteócitos jovens, alguns centros de ossificação e locais com osso secundário.

A melhoria da reparação óssea ao redor dos implantes que obtivemos em nossos experimentos, ocorreu devido a uma maior e mais rápida formação óssea ao redor dos implantes, o que está de acordo com os achados de Cacciafesta et al. (2001) que demonstrou que a administração do rhGH realça a deposição de osso e a força mecânica de defeitos na reparação da calvária de ratos.

Andreasen et al. (1995) através do microscópio de luz polarizada mostrou que o novo osso depositado estava organizado em lamelas concêntricas e tinha a mesma direção das fibras colágenas quando comparado com o osso formado antes do início da aplicação do bhGH. Em nosso experimento não observamos as fibras colágenas, mas

no osso depositado também pudemos observar a formação de osso secundário, ou seja, osso organizado em lamelas concêntricas.

O trabalho de Tresguerres, et al. (2002) conclui que a administração local de rhGH durante a colocação de implantes em tíbias de ratas com osteoporose, induz a reação periostal e transcortical e a mineralização óssea após o décimo quarto dia ao redor da superfície do titânio, sem aumento da reabsorção óssea. Em nosso trabalho utilizamos coelhos sem osteoporose, mas na porção medular das tíbias, que é extremamente porosa, encontramos uma grande formação óssea.

Quando o rhGH foi administrado localmente, houve uma clara atividade estimulatória de regeneração óssea mostrando que o rhGH exerce efeito específico e direto no tecido ósseo (HEDNER et al., 1996).

Os resultados histológicos mostraram que houve uma pequena diferença histológica na reparação óssea ao redor dos implantes quando comparado os resultados entre 28 e 56 dias, sugerindo que a reparação aos 28 dias já estava completa. Isto se deu porque os implantes Osseotite® promovem a reparação óssea ao redor dos implantes em 60 dias (segundo o fabricante) em humanos, o que equivaleria a 20 dias em coelhos.

## 8. CONCLUSÃO

1. Através da análise histológica, pudemos concluir que o uso tópico de rhGH melhorou a reparação óssea ao redor dos implantes tanto no grupo A (teste de 28 dias), quanto no grupo B (teste de 56 dias).

2. A reparação óssea ao redor dos implantes no grupo A (teste de 28 dias) foi superior quando comparada à reparação do grupo B<sub>1</sub> (controle de 56 dias).

**REFEFÊNCIAS**

AMARANTE, E. S.; LIMA, L. A. Otimização das superfícies dos implantes: plasma de titânio e jateamento com areia condicionado pos ácido - estado atual. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 15, n. 2, p. 166-173, abr./jun. 2001.

ANDREASSEN, T. T. et al. Growth hormone stimulates bone formation and strength of cortical bone in aged rats. **J. Bone Miner. Res.**, Chicago, v. 10, n. 7, p. 1057-1067, 1995.

ARRIBA, C. C. et al. The role of growth hormone in bone response for implant treatment. Experimental study using presenile animals. **Eur. J. Anat.**, v. 5, n. 2, p. 105-111, 2001.

BAIER, R. E.; MEYER, A. E. Implant surface preparation. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, New York, v. 3, n. 1, p. 9-20, 1988.

BAIN, C. A.; MOY, P. K. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Nova Scotia, v. 8, n. 6, p. 609-615, 1993.

BAK, B.; JORGENSEN, P. H.; ANDREASSEN, T. T. Increased mechanical strength og healing rat tibial fractures treated with biosynthetic human growth hormone. **Bone**, Denmark, v. 11, p. 233-239, Mar. 1990.

BOWERS, K. T. et al. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Iowa, v. 7, n. 3, p. 302-310, 1992.

BRUNETTE, D. M. The effect of implant surface topography on the behavior of cells. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Vancouver, v. 3, n. 4, p. 231-246, 1988.

BUSER, D. et al. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 25, p. 889-902, Feb. 1991.

BUSER, D. et al. Removal torque values of titaium implants in the maxilla of miniature pigs. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Switzeland, v. 13, n. 5, p. 611-619, 1998.

CACCIAFESTA, V. et al. Growth hormone treatment promotes guided bone regeneration in rat calvarian defects. **Eur. J. Orthodont.**, v. 23, p. 733-740, 2001.

CHIHARA, K.; SUGUIMOTO, T. The action of GH/IGF-I/IGFBP in osteoblasts and osteoclasts. **Horm. Res.**, Kobe, v. 48, n. 5, p. 45-49, 1997.

COCHRAN, D. L. et al. 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.**, Switzerland, v. 40, n. 1, p. 1-40, May, 1997.

COOPER, L. F. et al. Formation of mineralizing osteoblast cultures on machined, titanium oxide grit-blasted, and plasma-sprayed titanium surfaces. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Chapel Hill, v. 14, n. 1, p. 37-47, 1999.

ELLINGSEN, J. E. Surface configurations of dental implants. **Periodontology 2000**, Denmark, v. 17, p. 36-46, 1998.

ENGSTRAND, P. et al. Prospective follow-up study of 95 patients with edentulous mandibles treated according to the Brånemark novum concept. **Clinical Implant Dent. Relat. Res.**, Hamilton, v. 5, n. 1, p. 3-10, 2003.

FRAME, J. W. A convenient animal model for testing bone substitute materials. **J. Oral Surg.**, Chicago, v. 38, n. 3, p. 176-80 Mar, 1980.

FRIBERG, B. Treatment with dental implants in patients with severe osteoporosis: a case report. **Int. J. Periodont. Res. Dent.**, Sweden, v. 14, n. 4, p. 349-353, 1994.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Os hormônios hipofisários e seu controle pelo hipotálamo. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap.75, p.791-801.

HARRIS, W. H.; HEANEY, R. P. Effect of growth hormone on skeletal mass in adult dogs. **Nature**, v. 223, n. 26, p. 403-404, July 1969.

HEDNER, E.; LINDE, A.; NILSSON, A. Systemically and locally administered growth hormone stimulates bone healing in combination with osteopromotive membranes: an experimental study in rats. **J. Bone Miner. Res.**, New York, v.11, n.12, p.1952-60, Dec. 1996.

HINODE, D. et al. Influence of smoking on osseointegrated implant failure: a meta-analysis. **Clin. Oral Impl. Res.**, Tokushima, v. 17, n. 4, p. 473-478, 2006.

IJAKSSON, O. G. P.; JANSSON, J.; GAUSE, I. A. M. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. **Science**, v. 216, n. 11, p. 1237-1239, June 1982.

ISAKSSON, O. G. P.; LINDAHL, A.; NILSSON, A.; ISGAARD, J. Mechanism of stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. **Endocrine Reviews**, Sweden, v. 8, n. 4, p. 426-438, Nov. 1987.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: \_\_\_\_\_. **Histologia básica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap.8, p.136-153.

LINDQUIST, L. W.; CARLSON G. E.; JEMT, T. A prospective 15-year follow –up of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, Denmark, v. 7, p. 329 – 336, Mar. 1996.

MARCUS, R. Skeletal effects of growth hormone and IGF-I in adults. **Horm. Res.**, Calif, v. 48, n. 5, p. 60-64, 1997.

MARX, R. E.; GARG, A. K. Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 7, n. 4, p. 267-76, 1998.

MERICSKÉ-STERN, R.; AERNI, D.; BUSER, D.; GEERING, A. H. Long-term evaluation of non-submerged hollow cylinder implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, Switzerland, v. 12, p. 252 – 259, 2001.

MCCRACHEN, M. S.; APONTEWESSON, R.; CHAVALI, R.; LEMONS, J. E. Bone associated with implants in diabetic and insulin-treated rats. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 17, n. 5, p. 495-500, Nov. 2005.

MOMBELLI, A.; CIONCA, N. Systemic diseases affecting osseointegration therapy. **Clin. Oral Impl. Res.**, Switzerland, v. 17, n. 2, p. 97-103, 2006.

NEVINS, M. L. et al. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Boston, v. 13, n. 5, p. 620-629, 1998.

NIELSEN, H. M.; BAK, B.; JORGENSEN, P. H.; ANDREASSEN, T. T. Growth hormone promotes healing of tibial fractures in the rat. **Acta. Orthop. Scand.**, v. 62, n. 3, p. 244-247, 1991.

ODONT, P. P. et al. Countertorque testing and histomorphometric analysis of various implant surfaces in canines: a pilot study. **Implant Dent.**, Los Angeles, v. 6, n. 4, p. 259-265, 1997.

PIATTELLI, A.; CORIGLIANO, M.; SCARANO, A.; Microscopical observation of the osseous in early loaded human titanium implants: a report of two cases. **Biomaterials**, Chieti, v. 17, n. 13, p. 1333-1337, 1996.

PIATTELLI, A.; CORIGLIANO, M.; SCARANO, A.; QUARANTA, M. Bone reactions to early occlusal loading of two-stage titanium plasma-sprayed implants: a pilot study in monkeys. **Int. J. Periodont. Rest. Dent.**, Chieti, v. 17, n. 2, p. 163-169, 1997.

PIATTELLI, A.; PAOLANTONIO, M.; CORIGLIANO M.; SCARANO, A.; Immediate loading of titanium plasma-sprayed screw-shaped implants in man: a clinical and histological report of two cases. **J. Periodontol**, Chieti, v. 68, n. 6, p. 591-597, June 1997.

- PIRINEN, S.; Endocrine regulation of craniofacial growth. **Acta Odontol. Scand.**, Stolkolms, v.53, n.3, p.179-85, June 1995.
- PONZONI, D.; Avaliação da osseointegração promovida por implantes jateados por  $AL_2O_3$  – análise histológica e histométrica em cães. 2004. Tese (Doutorado em odontologia) – Faculdade de Odontologia – Araçatuba – UNESP
- ROBERT, E. et al. Implants: bone physiology and metabolism. **CDA**, Sacramento, v. 15, n. 10, p. 54-61, 1987.
- RUDMAN, D. et al. Effects of human growth hormone in men over 60 years old. **N. Engl. J. Med**, Massachusetts, v. 323, n. 1, p. 1-6, July 1990.
- SALMON, W. D.; DAUGHADAY, W. H. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. **J. Lab. & Clin. Med.**, v. 49, n. 6, p. 825-836, June 1957.
- SMITH, R. A.; BERGER, R.; DODSON, T. B. Risk factors associated with dental implants in healthy and medically compromised patients. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 7, n. 3, p. 367-72, Fall 1992.
- STEENBERGHE, D. V.; QUIRYNEN, M.; MOLLY, L.; JACOBS, R. Impact of systemic diseases and medication on osseointegration. **Periodontology 2000**, v. 33, p. 163-171, 2003.
- SWEET, J. B. The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: a review of evidence and implications for patient care. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 50, p. 239-240, 1992.
- THOMAS, K. A.; COOK, S.D. An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. **J. Biomed. Mater. Res.** New Orleans, v. 19, p. 875901, 1985.
- TRESGUERRES, I. F. et al. Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 13, p. 631-636, 2002.
- TRESGUERRES, I. F.; ALOBERA, M. A.; BACA, R.; TRESGUERRES, J. A. F. Histologic, morphometric, and densitometric study of peri-implant bone in rabbits with local administration of growth hormone. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 20, n. 2, p. 193-202, 2005.
- VEIS, A. A. et al. Osseointegration of Ossotite® and machined-surface titanium implants in membrane-covered critical-sized defects: a histologic and histometric study in dogs. **Clin. Oral Impl. Res.**, Greece, v. 18, n. 2, p. 153-160, Apr. 2006.

WONG, M.; EULENBERGER, J.; SCHENK, R.; HUNZIKER, E. Effect of surface topology on the osseointegration of implant materials in trabecular bone. **J. Biomed. Mater. Res.**, Switzerland, v. 29, p. 1567-1575, Apr. 1995.

YERIT, K. C. et al. Implant survival in mandibles of irradiated oral cancer patients. **Clin. Oral Impl. Res.**, Wien, v. 17, n. 3, p. 337-344, Nov. 2004.



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 16/05/2000

## PARECER N.º 026/2007

REGISTRO CEP UNISA N.º 042/07

**Projeto de Pesquisa:** " Análise da Influência da aplicação tópica de gel de hormônio do crescimento, na força de torque de remoção de implantes instalados em tíbias de coelhos ".

**Pesquisadores Responsáveis:** Prof. Dr. Sérgio Luiz de Miranda  
Pós-Graduando: Wander Célio Kobayashi

**Área Temática Especial:** 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 Pesquisas da UNISA, de acordo com as atribuições da Resolução 196/96, manifesta-se pela **APROVAÇÃO** do projeto de pesquisa : " Análise da Influência da aplicação tópica de gel de hormônio do crescimento, na força de torque de remoção de implantes instalados em tíbias de coelhos ".

São Paulo, 21 de março de 2007

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