

Fernanda Vieira Ribeiro

Cirurgiã-Dentista

Efeito do meloxicam sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas, para
obtenção do Título de Mestre em Clínica
Odontológica - Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior

PIRACICABA

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

R354e Ribeiro, Fernanda Vieira.
Efeito do meloxicam sobre o reparo ósseo ao redor de
implantes de titânio. / Fernanda Vieira Ribeiro. -- Piracicaba,
SP : [s.n.], 2007.

Orientadores: Márcio Zaffalon Casati, Francisco
Humberto Nociti Júnior.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Agentes antiinflamatórios. 2. Cicloxigenases. 3.
Implantes dentários. 4. Ossos – Regeneração. I. Casati,
Márcio Zaffalon. II. Nociti Júnior, Francisco Humberto. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Effect of meloxicam on bone healing around titanium implants

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Anti-inflammatory agents. 2.
Cyclooxygenases. 3. Dental implants. 4. Bone regeneration

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Márcio Zaffalon Casati, Giuseppe Alexandre Romito,
Enilson Antonio Sallum

Data da Defesa: 28-02-2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 28 de Fevereiro de 2007, considerou a candidata FERNANDA VIEIRA RIBEIRO aprovada.

A handwritten signature in black ink, appearing to be "M. Zaffalon", is written above a horizontal line.

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Giuseppe Alexandre Romito", is written above a horizontal line.

PROF. DR. GIUSEPPE ALEXANDRE ROMITO

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Enilson Antonio Sallum", is written above a horizontal line.

PROF. DR. ENILSON ANTONIO SALLUM

Dedicatória

A **Deus**, em primeiro lugar. Agradeço-lhe pela minha vida, por todas as pessoas que colocou em meu caminho, por todos os momentos e por todas as conquistas que me proporcionou até hoje. Agradeço-lhe por estar presente ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Peço-lhe que meu caminho seja sempre traçado segundo a Tua vontade.

Aos meus pais, **Vani e Toni**, pelo amor infinito e pelo carinho sem limites. Obrigada por toda compreensão, confiança e apoio durante toda minha trajetória e em todas as minhas decisões, tanto na vida pessoal como profissional. Vocês são responsáveis por esta minha conquista! A vocês, meu amor e minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos, **Renata e Ricardo**, pelo amor inexplicável que nos une, pela amizade e cumplicidade. Agradeço-lhes pelos nossos inesgotáveis momentos de alegria, pelos conselhos e pelo apoio sempre que precisei. Agradeço-lhes por serem mais do que irmãos, mas os melhores amigos que Deus poderia me dar.
Amo vocês!

Agradecimentos Especiais

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Márcio Zafallon Casati**, pela amizade e preciosa contribuição na minha formação de graduação e pós-graduação. Considero-o meu grande exemplo de conduta e admiro-o imensamente como pessoa, orientador e profissional. Agradeço-lhe pela sua confiança, pela amizade conquistada e por ter me proporcionado a oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao Prof. Dr. **Francisco Humberto Nociti Jr**, co-orientador deste trabalho, pela enorme contribuição científica nas fases de execução deste trabalho, pelo exemplo de profissionalismo e dedicação à pesquisa, e, sobretudo, por toda atenção e disponibilidade dispensadas durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Enilson Antônio Sallum**, pelo qual tenho muito carinho e admiração, pelo incentivo e oportunidades concedidas durante todo o curso de pós-graduação, pelo exemplo de dedicação e pela valiosa contribuição na minha formação.

Ao Prof. Dr. **Antônio Wilson Sallum**, pela atenção, carinho e por colocar no coração de todos nós o seu amor pelo aprender e ensinar.

Ao Prof. Dr. **Sérgio de Toledo**, pelo exemplo de serenidade e amizade em meio à vida profissional.

Ao Prof. Dr. **Antônio Fernando Martorelli de Lima** (*in memorian*), pela contribuição na minha formação acadêmica.

Aos professores membros da banca de qualificação, Prof. Dr. **Márcio de Moraes** e Prof. Dr. **Eduardo Dias de Andrade**, pela contribuição neste trabalho, por serem profissionais que tenho como exemplo e pessoas que admiro muito.

À sra. **Eliete Aparecida Ferreira Lima**, secretária da área de Periodontia, pela amizade, competência inigualável e pelos inesgotáveis auxílios prestados sempre que precisei.

À sra. **Mariana Piovezan Fugolin**, técnica do laboratório de Periodontia, pela grande ajuda na execução da parte laboratorial deste trabalho e pelos momentos agradáveis de convivência no laboratório.

Aos meus avós, **Nelsa, João, Lourdes e Antônio** (*in memorian*), que sempre torceram por mim e se alegraram com minhas conquistas e a todos os meus tios e primos, pela força e apoio.

Ao **Luiz Gustavo Pinheiro**, por todos os momentos inesquecíveis compartilhados nestes anos, por ter feito parte da minha vida de maneira tão intensa, independente do tempo, da distância e das dificuldades. Por todo amor, carinho e paciência. Agradeço-lhe por ter entrado em meu caminho e por ter permitido que eu conhecesse a pessoa tão sensacional e especial que é. Agradeço a você por tudo que aprendemos e vivemos juntos. Agradeço-lhe por ser minha vida para sempre!

À família Pinheiro, em especial ao Seu **Thércio** e Dona **Lúcia, Gabriela e Carolina**, por serem minha segunda família e por todo amor, consideração e carinho existentes entre nós. Vocês são muito importantes em minha vida!

Ao **Luiz Eduardo Coelho**, meu cunhado e amigo, pela pessoa especial que é para mim e por todos os momentos compartilhados.

Ao **Renato Casarin**, grande companheiro, parceiro e amigo. Por toda sua disponibilidade em me ajudar, escutar e dar conselhos sempre que precisei. Agradeço-lhe pela fundamental ajuda na realização deste trabalho e principalmente por todos os momentos de alegria, pelo companheirismo, pela cumplicidade, pelas nossas conquistas juntos, pela sua irreverência e jeito único de ser, meu amigo-irmão.

Aos amigos do mestrado **Beatriz Bezerra, Daniela Feitosa, Fabrícia Suaid, Kamille Pontarolli, Liana Linhares, Mauro Santamaria, Renato Casarin, Thaís Gonçalves, Wagner Filho**, por tudo que aprendemos e convivemos juntos, pelas horas de alegria e de trabalho compartilhadas. Aos amigos da Periodontia que também fizeram parte da minha vida durante a pós-graduação, **Bruno Benatti, Cléverson de Oliveira, Daiane Peruzzo, Érica Ribeiro, Gabriela da Cruz, Marcelo Carvalho, Roberta Tunes, Sandro Souza e Saulo dos Santos**.

Ao **Bruno Gurgel**, pelo grande amigo e exemplo que é para mim. Agradeço-lhe pelo seu apoio e incentivo que me ajudaram nesta conquista e pelo seu indispensável auxílio na realização deste trabalho.

Ao **João César-Neto**, pela disponibilidade e enorme contribuição na execução deste trabalho.

Às minhas eternas companheiras de morada, **Aline Mie, Giovana Lécio, Thalita Oliveira e Vanessa Salvadego**, grandes amigas que Deus me deu, com as quais tanto aprendi e as quais tanto amo. Agradeço-lhes por tudo que vivi ao lado de vocês, pelos inesgotáveis momentos de alegria, pela amizade e carinho existente entre nós. Nossos momentos estarão vivos para sempre em meu coração.

À **Carolina Steiner**, amiga e companheira de todos os dias que Deus colocou em meu caminho e que tanto aprendi a admirar durante nossa convivência. Sempre prestativa e disposta a ajudar em tudo que necessitei. Jamais esquecerei de tudo que fez por mim, dos seus conselhos e ombro amigo, do seu companheirismo e carinho. Você sabe que serei eternamente grata a você por ter estado ao meu lado durante esta fase de minha vida.

Às amigas de longa data, **Andréa Soares, Carolina Guadagnoli, Marcela de Andrade e Thaís Gopfert**, que compreenderam minhas ausências e que sempre me mostraram que o tempo e a distância não influenciam em uma grande amizade. Obrigada por terem crescido comigo, por terem compartilhado de todas as minhas conquistas e pelo amor de vocês.

Aos amigos **Alyne Vieira, Beatriz Bezerra, Daniela Feitosa, Mauro Santamaria e Renato Casarin**, pelos momentos de descontração, pela amizade construída, pelos jantares, por sempre terem me ajudado com tanto prazer em tudo que precisei e por me mostrarem que posso sempre contar com vocês.

Aos demais amigos da Periodontia com quem tive a oportunidade de conviver e aprender, **Ângela Martins, Bruno Gurgel, João César-Neto, Luciana Machion, Patrícia Furtado, Poliana Duarte, Renato Alves, Suzana Pimentel**. E aos novos companheiros de trabalho com os quais também compartilhei meus dias, **Ana Paula Giorgetti, Hugo Valle, Maria Fernanda Peres e Tatiana Meulman**.

À **Luciana Germano**, pela amizade sincera, pela pessoa especial que representa para mim e por sempre me apoiar na minha vida pessoal e profissional.

Ao Sr. **Wanderley** e **Fábio**, funcionários do Biotério, pelos cuidados dispensados aos animais.

Às funcionárias que tanto me ajudaram na clínica, **Dona Cida** e **Rosângela**, e na telefonia, **Marilei**, com as quais pude contar sempre.

A todas as pessoas que fizeram parte de minha vida, aos meus amigos da graduação, aos amigos de outras Áreas e a todos aqueles que conheci neste período.

Meus sinceros agradecimentos...

Agradecimentos

Ao Excelentíssimo Senhor Prof. Dr. José Tadeu Jorge, magnífico reitor da Universidade Estadual de Campinas.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp na pessoa do seu diretor, Prof. Dr. Francisco Haiter Neto e Diretor Associado, Prof. Dr. Marcelo de Castro Meneghim.

Ao Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti, coordenador geral dos cursos de pós-graduação da FOP/UNICAMP.

À Prof^a. Dr^a. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia, coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Marcelo Ferraz Mesquita, chefe do Departamento de Prótese e Periodontia.

Ao Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, responsável pela área de Periodontia.

À Prof^a. Dr^a. Maria Cecília Ferraz de Azevedo Veiga, responsável pelo Biotério e pela disciplina de Fisiologia da FOP/UNICAMP.

À Prof^a. Dr^a. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, pela ajuda e disposição na execução da estatística deste trabalho.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro fornecido para a realização deste trabalho.

*“O tempo corre veloz
e a vida escapa das nossas mãos.
Mas pode escapar como areia
ou como semente...”*

Tomas Merton

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de um antiinflamatório não esteroidal inibidor seletivo de COX-2, meloxicam, sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio colocados em tíbias de ratos. Foram utilizados 31 ratos Wistar, machos, adultos, os quais receberam um implante dental de titânio em uma das tíbias. Após a colocação dos implantes, os animais foram aleatoriamente incluídos nos seguintes grupos: Controle (n=14): 1 ml/kg de solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% esterilizada e Teste (n=17): 3 mg/kg de meloxicam, ambos administrados via subcutânea, diariamente, durante 60 dias. Os animais foram mortos após 60 dias da cirurgia de colocação dos implantes. Secções não descalcificadas foram obtidas e avaliadas histometricamente. Foram avaliados os seguintes parâmetros: porcentagem de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante (CD), porcentagem de preenchimento ósseo dentro das roscas do implante (PR) e porcentagem de osso numa região 500 µm adjacente à superfície do implante (OA). Os dados foram obtidos separadamente para região cortical (A) e região medular (B). O teste não paramétrico de Mann-Whitney ($\alpha=5\%$) foi utilizado para a análise estatística. Os resultados demonstraram que o meloxicam reduziu significativamente o reparo ósseo ao redor dos implantes. Para a região A, diferenças significantes foram observadas com relação ao CD ($47,01 \pm 10,48$ A; $35,93 \pm 12,25$ B), PR ($86,42 \pm 3,66$ A; $61,58 \pm 12,09$ B) e OA ($96,86 \pm 0,96$ A; $91,06 \pm 3,05$ B), entre os grupos controle e teste, respectivamente ($p<0,05$). Para a região B, a análise dos dados também mostrou diferenças significantes entre os grupos controle e teste, respectivamente ($p<0,05$), para CD ($30,76 \pm 13,80$ A; $16,86 \pm 11,48$ B), PR ($34,83 \pm 8,18$ A; $25,66 \pm 9,16$ B) e OA ($15,76 \pm 7,05$ A; $7,73 \pm 4,61$ B). Dentro dos limites do presente estudo, concluiu-se que a administração de 3 mg/kg/dia de meloxicam influenciou negativamente o reparo ósseo, tanto no osso cortical quanto medular, ao redor de implantes de titânio inseridos em tíbias de ratos.

Palavras-chave: Agentes antiinflamatórios, Cicloxigenases, Implantes dentários, Ossos – Regeneração.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, meloxicam, on bone healing around titanium implants in rats. Thirty-one adult male Wistar rats were included in this study and one screw-shaped titanium implant was inserted in the tibiae. The animals were randomly assigned to one of the following groups, for daily subcutaneous injections: Control (n=14): 1 ml/kg of saline solution and Test (n=17): 3 mg/kg of meloxicam, each administered daily for 60 days. After the treatment, the animals were sacrificed and undecalcified sections obtained. Bone-to-implant contact (BIC) and bone filling within the limits of implant threads (BF) and percentage of bone in a 500µm-wide zone lateral to the implant (BL) were obtained and arranged for cortical (zone A) and cancellous (zone B) bone regions. The data were tested by the Mann-Whitney test ($\alpha= 5\%$). Intergroup comparisons demonstrated that meloxicam significantly reduced bone healing around implants. For zone A, significant differences were observed regarding BIC (47.01 ± 10.48 A; 35.93 ± 12.25 B), BF (86.42 ± 3.66 A; 61.58 ± 12.09 B) and BL (96.86 ± 0.96 A; 91.06 ± 3.05 B) for control and test groups, respectively ($p<0.05$). For zone B, data analysis also showed significant differences among the groups for BIC (30.76 ± 13.80 A; 16.86 ± 11.48 B), BF (34.83 ± 8.18 A; 25.66 ± 9.16 B) and BL (15.76 ± 7.05 A; 7.73 ± 4.61 B) for control and test groups, respectively ($p<0.05$). In conclusion, within the limits of the present study, 3 mg/kg/day of meloxicam may negatively influence bone healing in the cortical and cancellous bone around titanium implants inserted in rats after continuous administration.

Key Words: Anti-inflammatory agents, Cyclooxygenases, Dental implants, Bone regeneration

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Insucesso dos Implantes Dentais	3
2.2 Antiinflamatórios Não Esteroidais	8
2.2.1 Antiinflamatórios Inibidores Seletivos de COX-2	9
2.2.2 Meloxicam	11
2.3 O Papel da Cicloxigenase-2 nos Eventos Fisiológicos	14
2.3.1 Mecanismos de Ação da COX-2 sobre o Reparo Ósseo	15
2.4 Inibidores seletivos de COX-2 e o Reparo Ósseo: Estudos <i>in vivo</i>	19
2.5 Antiinflamatórios Não Esteroidais e o Reparo Ósseo em Implantes	23
3. PROPOSIÇÃO	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Amostra	27
4.2 Procedimento Cirúrgico	27
4.3 Constituição dos Grupos	30
4.4 Processamento Histológico	31
4.5 Análise Histométrica	32
4.6 Análise Estatística	35
5. RESULTADOS	36
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	67

1. INTRODUÇÃO

A reabilitação por meio de implantes dentais tem sido amplamente realizada em pacientes totalmente ou parcialmente desdentados e tem demonstrado altas taxas de sucesso clínico em longo prazo (Adell *et al.*, 1981; Lindquist *et al.*, 1996; Naert *et al.*, 2000).

Estudos prévios têm demonstrado que determinadas condições sistêmicas, incluindo certas desordens metabólicas ou intervenções farmacológicas, podem estar associadas a um prejuízo no reparo ósseo ao redor de implantes, sendo associadas à falha dos implantes dentais (Payne *et al.*, 2000; Rapuri *et al.*, 2000; César-Neto *et al.*, 2005; Duarte *et al.*, 2005; Mombelli & Cionca 2006).

O efeito dos antiinflamatórios não esteroidais (AINES) sobre o reparo ósseo foi avaliado em muitos estudos (Yazdi *et al.*, 1992; Altman *et al.*, 1995; Ho *et al.*, 1998; 1999; Akman *et al.*, 2002; Giordano *et al.*, 2003). Evidências mostraram que os AINES podem promover alterações no metabolismo do tecido ósseo e atrasar o processo de reparo de fraturas (Altman *et al.*, 1995; Giordano *et al.*, 2003).

Os agentes antiinflamatórios não esteroidais convencionais, os quais inibem tanto a enzima ciclooxigenase-1 (COX-1), quanto a ciclooxigenase-2 (COX-2), podem provocar efeitos colaterais, como distúrbios gastrintestinais e renais (Emery, 1996). Atualmente, com o intuito de reduzir os efeitos colaterais promovidos pelos AINES convencionais, foram desenvolvidos AINES que apresentam seletividade pela inibição da enzima COX-2, fato que justifica a melhor tolerabilidade a este tipo de medicamento, preservando o organismo de reações adversas. Esse tipo de antiinflamatório tem sido utilizado, de maneira rotineira, por pacientes com dor crônica e desconfortos associados, por exemplo, à osteoartrite e artrite reumatóide (Lemmel *et al.*, 1997).

No entanto, a utilização de AINES que inibem seletivamente a enzima COX-2 e apresentam baixa toxicidade para o estômago e os rins pode promover efeitos negativos sobre o reparo ósseo (Kawaguchi *et al.*, 1995; Weinreb *et al.*, 1997; Suponitzky *et al.*, 1998; Gurgel *et al.*, 2005). Os mecanismos pelos quais os inibidores seletivos de COX-2 prejudicam o reparo ósseo ainda não foram completamente esclarecidos, mas há evidências de que a enzima COX-2 tem importante papel na diferenciação osteoblástica, participando ativamente do processo osteogênico (Sato *et al.*, 1997; Arikawa *et al.*, 2004).

Esses efeitos negativos sobre o reparo ósseo promovidos por inibidores seletivos de COX-2 poderiam representar um importante fator a ser considerado no prognóstico da terapia com implantes dentais, particularmente quando esta droga é utilizada diariamente, por períodos extensos. Apesar de inúmeros estudos *in vitro* e *in vivo* mostrarem o efeito dos AINES sobre o processo de reparo ósseo (Sato *et al.*, 1997; Suponitzky *et al.*, 1998; Giannoudis *et al.*, 2001; Akman *et al.*, 2002; Simon *et al.*, 2002; Arikawa *et al.*, 2004; Gurgel *et al.*, 2005), pouca atenção tem sido direcionada à influência que tais medicamentos podem exercer sobre a osseointegração de implantes (Reddy *et al.*, 1990; Jacobsson *et al.*, 1994) e não há informações a respeito do papel de AINES inibidores seletivos de COX-2 no processo de osseointegração.

Baseados nessas considerações e diante da ausência de estudos que avaliem o efeito dos AINES seletivos para a COX-2 sobre a formação óssea ao redor de implantes, é que se propôs a realização do presente estudo.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Insucesso dos Implantes Dentais

Os implantes dentais de titânio foram desenvolvidos a partir dos estudos iniciados por Branemark *et al.* (1969), mostrando-se capazes de formar uma união resistente com o osso alveolar, sem causar reações adversas nos tecidos adjacentes, e possibilitando a ancoragem para elementos protéticos colocados em função mastigatória. Deste modo, os implantes de titânio têm sido amplamente utilizados com o objetivo de substituir dentes perdidos, exercendo importante papel tanto no tratamento de desdentados totais como parciais. Estudos têm demonstrado elevados índices de sucesso clínico dos implantes dentais em longo prazo (Adell *et al.*, 1981; Zarb & Schmitt, 1990, Lindquist *et al.*, 1996; Naert *et al.*, 2000, Merckse-Stern *et al.*, 2001) - aproximadamente 99% na mandíbula e 90% na maxila - obtidos após o período de 10 a 15 anos de acompanhamento (Adell *et al.*, 1981; Lindquist *et al.*, 1996; Jemt & Johansson 2006) - e conseqüentemente, a implantodontia tem se desenvolvido e buscado ampliar cada vez mais a indicação dos implantes.

Apesar dos elevados índices de sucesso observados por meio da reabilitação com implantes dentais (Adell *et al.*, 1981; Zarb & Schmitt, 1990, Lindquist *et al.*, 1996; Naert *et al.*, 2000, Merckse-Stern *et al.*, 2001; Jemt & Johansson 2006), certa porcentagem de insucesso ainda persiste. Deste modo, estudos têm tentado esclarecer os motivos para o fracasso de implantes.

Inúmeros fatores têm sido relacionados com as falhas dos implantes dentais. Esposito *et al.* (1998) classificaram esses fatores como: (1) exógenos, relacionados tanto à experiência e técnica do operador, como à biocompatibilidade do material, características da superfície dos implantes e desenho do mesmo; (2) endógenos locais, dependente da quantidade e qualidade óssea, localização

anatômica e presença de enxertos no leito receptor e (3) endógenos sistêmicos, associados à presença de desordens sistêmicas e hábitos do paciente.

No que se refere aos fatores exógenos, sabe-se que, inicialmente, as falhas dos implantes dentais foram muito relacionadas ao biomaterial empregado. Atualmente, porém, os materiais mais utilizados para a confecção de implantes dentais mostram grande biocompatibilidade e não ocasionam esse tipo de problema (Esposito *et al.*, 1998). Com relação à experiência e a habilidade do operador, têm sido demonstrado que tais fatores podem influenciar no sucesso da terapia com implantes. Morris *et al.*, em 1997, relataram que a falha precoce de implantes (antes da instalação de próteses) pode ser duas vezes maior para profissionais com experiência de colocação inferior a cinquenta implantes. Lambert *et al.* (1997), analisando a curva de aprendizado para a colocação de implantes, observaram que a taxa de falha precoce nos nove primeiros implantes era duas vezes maior que nos colocados após este período de treinamento.

Com relação aos fatores endógenos locais que poderiam provocar falha de implantes, a anatomia e a qualidade óssea do sítio receptor devem ser consideradas. Altas taxas de insucesso (35%) foram encontradas por Jaffin & Berman (1991) em implantes colocados em osso tipo IV - pequeno componente cortical e componente medular com baixa densidade óssea (Lekholm & Zarb, 1985) - enquanto apenas 3% dos implantes colocados em ossos dos tipos I, II e III falharam. As maiores taxas de falhas têm sido relatadas para o segmento posterior da maxila e mandíbula, o que pode ser parcialmente explicado pela qualidade óssea inferior e maiores forças oclusais associadas a essas regiões (Esposito *et al.*, 1998). De acordo com Gibbs *et al.* (1986) e Hagberg (1987), as forças oclusais podem ser aumentadas em até três vezes quando associadas a hábitos parafuncionais, o que poderia elevar ainda mais as chances de insucesso da terapia com implantes.

No que se refere aos fatores endógenos sistêmicos associados à falha de implantes, indícios sugerem que alguns distúrbios osteometabólicos, reumatológicos, hormonais e ainda alterações de neutrófilos e imunológicas,

podem influenciar o resultado da terapia com implantes (Balshi & Wolfinger, 2003; Van Steenberghe *et al.*, 2003).

Um desses fatores endógenos sistêmicos é a osteoporose, distúrbio osteometabólico freqüente entre idosos e mulheres no período pós-menopausa e caracterizado pela diminuição da massa óssea, a qual pode interferir na taxa de sucesso de implantes dentais, já que a qualidade óssea é um fator de fundamental importância para o sucesso da terapia com implantes (Friberg *et al.*, 1991; Hutton *et al.*, 1995). De acordo com alguns estudos, as características mecânicas de ossos osteoporóticos não oferecem a mesma estabilidade à osseointegração de implantes, sendo similares às características do osso tipo IV (Van Steenberghe *et al.*, 2003). Estudos em animais e clínicos reportaram o efeito negativo da deficiência de estrógeno sobre densidade óssea e no processo de reparo ósseo ao redor de implantes (Yamazaki *et al.*, 1999; Pan *et al.*, 2000; August *et al.*, 2001; Fini *et al.*, 2002; Duarte *et al.*, 2003a, 2003b). Apesar de alguns relatos de casos clínicos não terem demonstrado interferência da osteoporose na taxa de sucesso de implantes dentais (Dao *et al.*, 1993; Friberg, 1994; Fujimoto *et al.*, 1996), August *et al.* (2001), em estudo retrospectivo, avaliaram a taxa de sucesso de implantes colocados em mulheres no período pós-menopausa, em mulheres no período pré-menopausa ou em homens. Segundo os resultados, o fracasso de implantes na maxila de mulheres pós-menopausa que não receberam reposição hormonal foi significativamente maior (13,6%) que em mulheres pré-menopausa (6,3%) e homens (7,6%), não havendo diferenças estatisticamente significantes para o fracasso de implantes mandibulares entre os dois últimos grupos. Com base nesses dados, os autores sugeriram que a deficiência de estrógeno pode ser considerada um fator de risco para o sucesso de implantes dentais na maxila. Tais observações clínicas são suportadas por estudos histológicos prévios (Motohashi *et al.*, 1999; Pan *et al.*, 2000; Duarte *et al.*, 2003a, 2003b; Colmanetti *et al.* 2004; Qi *et al.* 2004). Outros estudos têm também demonstrado o efeito prejudicial da osteoporose no processo da osseointegração de implantes (Hara *et al.*, 1999; Lugero *et al.*, 2000; Moy *et al.*, 2005), embora tenha sido relatado que o

tratamento e o controle dos níveis hormonais associados a esta desordem sistêmica previne os efeitos negativos exercidos sobre reparo ósseo ao redor de implantes de titânio (Nociti *et al.*, 2002c; Duarte *et al.*, 2003b; Narai & Nagahata, 2003).

O consumo de cigarros, que ocasiona inúmeras alterações teciduais sistêmicas, inclusive no tecido ósseo, é apontado como um dos principais fatores associados ao fracasso de implantes (Van Steenberghe *et al.*, 2002; Karoussis *et al.*, 2004). Estudos em ratos têm demonstrado que a exposição intermitente à fumaça de cigarro e que aplicações diárias de nicotina prejudicam o reparo ósseo ao redor de implantes e sugerem que o efeito negativo do cigarro pode estar relacionado a mais de um dos componentes da fumaça, além da nicotina (Nociti *et al.*, 2002a; 2002b; César-Neto *et al.*, 2003). Adicionalmente, estudos clínicos mostraram que o sucesso na reabilitação com implantes dentais pode ser negativamente influenciado pelo hábito de fumar, sendo observadas maiores taxas de falhas de implantes em pacientes fumantes (Bain & Moy, 1993; Lambert *et al.*, 2000), inclusive quando os implantes são inseridos em regiões associadas a enxertos ósseos (Kan *et al.*, 1999). Tem sido sugerido que 0% a 17% dos implantes colocados em fumantes podem apresentar falha, sendo que em não fumantes o índice de falha varia de 2 a 7% (Bain & Moy, 1993; de Bruyn & Collaert, 1994; Jones *et al.*, 1999; Wallace, 2000). Além disso, sugere-se que o índice de insucesso de implantes em pacientes fumantes é, no mínimo, o dobro maior que em não fumantes (Bain & Moy, 1993; Gorman *et al.*, 1994; de Bruyn & Collaert, 1994; Jones *et al.*, 1999; Lambert *et al.*, 2000; Wallace, 2000; Schwartz *et al.*, 2005). Adicionalmente, o consumo de cigarros tem também sido associado à maior perda óssea ao redor dos implantes já osseointegrados (Haas *et al.*, 1996; Lindquist *et al.*, 1997). Lindquist *et al.* (1997) avaliaram radiograficamente a associação entre o consumo de cigarros e a perda óssea ao redor de implantes dentais e concluíram que o consumo de cigarro é o fator mais importante associado à perda óssea ao redor de implantes, comprometendo o sucesso da terapia em longo prazo. Outros estudos corroboram com tais achados,

determinando que o hábito de fumar representa um risco ao sucesso de implantes dentais (Gorman *et al.*, 1994; Lemons *et al.*, 1997; Minsk & Polson, 1998; Vehemente *et al.*, 2002; Feloutzis *et al.*, 2003; McDermott *et al.*, 2003).

O diabetes, outro importante fator endógeno sistêmico, é uma desordem endócrina que também tem sido associada à redução na osseointegração de implantes dentais (Nevins *et al.*, 1998; McCracken *et al.*, 2000; Morris *et al.*, 2000; Kopman *et al.*, 2005). Embora não haja informações suficientes e estudos clínicos controlados em longo prazo categorizando o diabetes como importante fator sistêmico que negativamente afeta o sucesso dos implantes (Mombelli & Cionca 2006), Moy *et al.* (2005) observaram retrospectivamente, após o período de 21 anos, que diabéticos apresentavam significativamente maior risco de falha de implantes que pacientes não diabéticos. Adicionalmente, Fiorellini *et al.* (2000), em um estudo retrospectivo, analisaram 215 implantes em 40 pacientes diabéticos e observaram que a taxa de sucesso na maxila foi de 85,5% e na mandíbula de 85,7%. Segundo os autores, o diabetes é um fator sistêmico que pode negativamente interferir na terapia com implantes dentais, uma vez que os índices de sucesso observados são inferiores aqueles obtidos em pacientes saudáveis, embora estudos tenham demonstrado que o controle da doença é capaz de melhorar o reparo ósseo ao redor de implantes (Farzad *et al.*, 2002; Kwon *et al.*, 2005).

Outras alterações sistêmicas tais como escleroderma (Haas, 2002; Oczakir *et al.*, 2005), doença de Parkinson (Heckmann *et al.*, 2000; Chu *et al.*, 2004), síndrome de Sjogren (Binon, 2005; Oczakir *et al.*, 2005), displasia ectodérmica (Kearns *et al.*, 1999; Bergendal, 2001; Oczakir *et al.*, 2005), doença de Crohn (Van Steenberghe *et al.*, 2002), entre outras, foram também sugeridas como fatores que podem ocasionar insucesso na terapia com implantes, embora haja ausência de estudos clínicos controlados que suportem tais evidências (Mombelli & Cionca, 2006).

Além das condições sistêmicas que podem diretamente reduzir o sucesso na osseointegração dos implantes, têm sido sugerido que algumas

desordens do organismo, por exigirem o uso em longo prazo de medicamentos, tais como os antiinflamatórios não esteroidais, podem também potencialmente afetar o reparo ósseo ao redor de implantes (Reddy *et al.*, 1990; Jacobsson *et al.*, 1994).

2.2 Antiinflamatórios Não Esteroidais

Mediante a um processo inflamatório, a enzima fosfolipase A_2 é ativada, agindo sobre os fosfolipídios das membranas celulares das células associadas à inflamação e, conseqüentemente, promovendo a liberação de ácido araquidônico no interior das células (Vane & Botting, 1995; de Andrade *et al.*, 2000). Por meio da via cicloxigenase (COX) ou da via lipoxigenase, o ácido araquidônico é metabolizado (Vane & Botting, 1995; de Andrade *et al.*, 2000). Quando enzimaticamente oxidado pela via cicloxigenase, o ácido araquidônico forma cicloendoperóxidos intermediários instáveis, tais como prostaglandina G_2 (PGG_2) e, subseqüentemente, prostaglandina H_2 (PGH_2), levando posteriormente à síntese de outras prostaglandinas (PGs), tais como a prostaglandina D_2 (PGD_2), prostaglandina E_2 (PGE_2), prostaglandina F_2 (PGF_2) e prostaglandina I_2 (PGI_2), além de poder ser metabolizado em prostaciclina e tromboxanas (Needleman *et al.*, 1986). Por meio da via lipoxigenase, o ácido araquidônico é metabolizado principalmente em leucotrienos (Seymour & Heasman, 1988).

Existem dois grupos de antiinflamatórios, aqueles associados ao hormônio glicocorticóide, e por isso denominados “esteroidais” e aqueles não relacionados com hormônios, denominados “não esteroidais” (Lara, 1998). Os antiinflamatórios esteroidais, também conhecidos como corticosteróides, possuem uma ação antiinflamatória mais elevada que os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) por bloquearem a enzima fosfolipase A_2 , reduzindo, deste modo, não só a

liberação de prostaglandinas, mas também de outros mediadores químicos tais como tromboxanas e leucotrienos (Seymour & Heasman, 1988).

Os AINES, por sua vez, agem por meio do bloqueio da via cicloxigenase, produzindo efeitos no metabolismo do ácido araquidônico e a inibição da síntese de determinados metabólitos, como as PGs (Emery, 1996; Salvi *et al.*, 1997). Além das propriedades antiinflamatórias, os AINES possuem também ação analgésica e antipirética (Seymour & Heasman, 1988).

2.2.1 Antiinflamatórios Inibidores Seletivos de COX-2

Até a década de 90 era conhecido apenas um tipo de cicloxigenase. No entanto, sabe-se hoje que existem ao menos duas isoformas desta enzima: a cicloxigenase-1 (COX-1) e a cicloxigenase-2 (COX-2) (Xie *et al.*, 1991). A enzima COX-1, denominada constitutiva, controla mecanismos fisiológicos do organismo (mucosa gástrica, plaquetas, endotélio e rins), regulando a atividade celular e sendo encontrada na maior parte dos tecidos para promover a homeostasia (Vane *et al.*, 1998). Enquanto isso, a COX-2, denominada induzida ou patológica, é produzida em resposta a uma variedade de estímulos pró-inflamatórios como, por exemplo, as citocinas, fatores de crescimento ou lipopolissacarídeos bacterianos (O'Sullivan *et al.*, 1992; Wadleigh & Herschman, 1999), tendo, portanto, sua quantidade aumentada substancialmente sob qualquer estímulo inflamatório (Masferrer *et al.*, 1994; Lara, 1998). Além de estar envolvida no processo inflamatório, a COX-2 está associada também à dor, à febre e aos mecanismos de carcinogênese (Lee *et al.*, 1992; Schwartz *et al.*, 1999).

Os AINES, em geral, promovem seus efeitos terapêuticos por meio da inibição de ambas as enzimas, tanto da COX-1 quanto da COX-2, porém em intensidade variada para as duas isoformas. Parte dos AINES disponíveis apresenta sua ação por meio da inibição em maior prevalência da síntese da

enzima COX-1, agindo em menor intensidade sobre a COX-2 (Emery, 1996). Neste contexto, AINES convencionais, tais como indometacina, ácido acetilsalicílico e ibuprofeno são menos ativos contra COX-2 que contra COX-1 (Mitchell *et al.*, 1993). O espectro de seletividade para a inibição das isoformas da COX pode variar entre eles, podendo haver alta seletividade para a inibição da COX-1, como no caso da indometacina e do ácido acetilsalicílico, e igual potência para a inibição de COX-1 e COX-2, como no caso do diclofenaco (Mitchell *et al.*, 1993). Entretanto, o uso prolongado destes AINES não seletivos, os quais inibem consideravelmente a enzima COX-1, pode trazer conseqüências prejudiciais para a integridade do organismo (Vane & Botting, 1995; Lara, 1998), provocando efeitos adversos tais como desconforto abdominal, náuseas, vômitos, dispepsias, úlceras e hemorragia gastrointestinal e insuficiência renal (Emery, 1996).

Em razão dos efeitos prejudiciais provocados pela inibição da COX-1 e diante do conhecimento sobre os perfis farmacológicos distintos entre as enzimas COX-1 e COX-2, foram desenvolvidas, a partir da década de 90, drogas antiinflamatórias não esteroidais com a finalidade de bloquear preferencialmente a enzima COX-2, produzida a partir de estímulos inflamatórios, sob condições patológicas, minimizando os efeitos colaterais no organismo e conferindo maior segurança quando da utilização de AINES, principalmente no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, quando a mesma é utilizada por períodos extensos (Gierse *et al.*, 1995; Emery, 1996).

Os inibidores seletivos de COX-2 estão entre as drogas mais utilizadas para o tratamento de doenças como artrite reumatóide, osteoartrite, artrite idiopática juvenil e outras inúmeras condições músculo-esqueléticas crônicas, mostrando-se eficientes na redução dos sintomas provocados por estas doenças nos tecidos ósseos, articulares e musculares (Marnett & Kalgutkar, 1999).

Deste modo, os AINES que apresentam inibição seletiva para a enzima COX-2 passaram a ter grande importância terapêutica, já que os efeitos adversos promovidos pela excessiva inibição da enzima COX-1 são responsáveis por provocar, em alguns casos, a interrupção do tratamento medicamentoso por parte

dos pacientes, exigindo, muitas vezes, cuidados especiais dos pacientes em função dos distúrbios colaterais gerados (Fries *et al.*, 1991).

2.2.2 Meloxicam

O meloxicam é um antiinflamatório não esteroidal, pertencente à classe do ácido enólico, um dos derivados das oxicanas, e é considerado um AINES inibidor seletivo de COX-2 que, juntamente com o etodolac e nimesulide, surgiu como um AINES que preferencialmente inibe a enzima COX-2 (Noble & Balfour, 1996), apresentando favorável tolerabilidade gastrointestinal e renal, preservando o organismo de reações adversas ligadas à excessiva inibição de COX-1 (Masferrer *et al.*, 1994, Engelhardt *et al.*, 1995; Noble & Balfour, 1996; Dequeker *et al.*, 1998). Posteriormente, com a modificação molecular destas drogas, foram desenvolvidos AINES com capacidade de inibição sobre a enzima COX-2 ainda maior, tais como o celecoxibe, parecoxibe, valdecoxibe, rofecoxibe e etorocoxibe, os quais inibem quase que estritamente apenas a enzima COX-2, sendo denominados inibidores específicos de COX-2 (Penning *et al.*, 1997; Chan *et al.*, 1999; Talley *et al.*, 2000; Riendeau *et al.*, 1997).

O meloxicam apresenta rápida e eficiente absorção após sua administração, atingindo concentração plasmática máxima em aproximadamente 60 minutos, sendo sua taxa de ligação às proteínas plasmáticas correspondente a 99,5% (Turck *et al.*, 1996). A metabolização do meloxicam pode gerar quatro metabólitos biologicamente inativos, os quais são excretados na urina e nas fezes (Turck *et al.*, 1996). Sua meia-vida plasmática é alta - cerca de 20 horas - e uma única dose diária é suficiente para que tal droga promova seus efeitos (Turck *et al.*, 1996; Lara, 1998).

O meloxicam possui potente ação antiinflamatória, analgésica e antipirética (Engelhardt *et al.*, 1995; Engelhardt 1996b; Noble & Balfour, 1996) e é

utilizado clinicamente, dentre outras indicações, para o tratamento de osteoartrite e artrite reumatóide, doenças que acometem as juntas e articulações gerando dores, edema e dificuldade de movimentação de uma ou várias regiões (Noble & Balfour, 1996; Lemmel *et al.*, 1997; Vidal *et al.*, 2001).

Estudos mostraram que o meloxicam apresenta preferencialmente inibição pela COX-2, diferentemente dos AINES não seletivos convencionais tais como naproxeno, ibuprofeno, indometacina e piroxicam (Patrignani *et al.*, 1997; Pairet *et al.*, 1998). Neste contexto, Engelhardt *et al.* (1996a) realizaram uma série de experimentos *in vitro* com o objetivo de comparar o meloxicam com AINES convencionais em relação à seletividade para a inibição das enzimas COX-1 e COX-2. De acordo com os resultados, o meloxicam mostrou potente ação inibitória contra COX-2 e pouco efeito contra COX-1, apresentando o melhor índice IC_{50} - concentração da droga que inibe 50% da atividade da COX - para COX-2/COX-1 dentre os AINES avaliados. Outras avaliações *in vitro* mostraram que o meloxicam foi até 300 vezes mais potente na inibição de COX-2 do que de COX-1 (Patrignani *et al.*, 1997; Pairet *et al.*, 1998). Estes índices de proporcionalidade de inibição das duas isoformas são usados para comparar a potência das drogas e, de acordo com este critério, quanto menor o valor do quociente relativo ou razão de COX-2/COX-1, maior será a seletividade da droga sobre a COX-2. No entanto, segundo Dannhardt & Kiefer (2001), os resultados destes testes variam muito dependendo do modelo utilizado, dos tipos celulares, dos agentes estimulantes e das condições das culturas utilizadas, sendo difícil a comparação entre os resultados de diferentes estudos.

Adicionalmente, Engelhardt *et al.* (1996b) demonstraram por meio de modelos clássicos de inflamação - artrite adjuvante - em animais, a margem de segurança terapêutica superior do meloxicam quando comparada sua dose ulcerogênica e sua dose antiinflamatória eficaz. Adicionalmente, os autores também avaliaram o perfil farmacológico do meloxicam com relação à inibição das enzimas COX-1 e COX-2, comparando-o com outros AINES convencionais. De acordo com os resultados, os achados *in vivo* confirmam estudos anteriores *in*

vitro (Engelhardt *et al.*, 1996a), mostrando que o meloxicam preferencialmente inibe a enzima COX-2.

Além disso, Engelhardt *et al.* (1996b) avaliaram também os efeitos dos AINES incluídos no estudo sobre a produção de leucotrieno B₄ (LTB₄) e leucotrieno C₄ (LTC₄), uma vez que há evidências de que a inibição da COX pelos AINES pode elevar a formação de outros produtos inflamatórios derivados da via lipoxigenase (Weissmann, 1983). Foi observado pelos autores que o meloxicam, na concentração que reduzia a formação de PGE₂ nos modelos de inflamação avaliados, não afetou a produção de LTB₄ e LTC₄. Porém, tanto o diclofenaco quanto a indometacina causaram aumento na concentração de LTB₄ sob as mesmas condições. Um dos AINES convencionais avaliados, o tenidape, provocou aumento tanto na concentração de LTB₄ quanto de LTC₄. O fato do meloxicam não aumentar as concentrações de LTB₄ e de LTC₄, enquanto inibe a produção de PGE₂, tem favorável implicação clínica já que o risco de indução de um broncoespasmo durante o tratamento com meloxicam pode ser inferior aquele associado ao uso de indometacina, tenidape e diclofenaco. Ainda com relação a este estudo, foi avaliado o efeito do meloxicam e de AINES convencionais sobre a produção de PGs em vários tecidos não inflamados, onde as PGs exercem importante papel fisiológico, tais como na proteção da mucosa gástrica e na microcirculação dos rins (Whitte & Vane, 1984). Foi verificado que o meloxicam interferiu muito pouco na concentração de PGE₂ presente na mucosa gástrica, diferentemente do que foi observado com diclofenaco, piroxicam e flurbiprofeno, comprovando a tolerância gástrica associada à utilização do meloxicam (Engelhardt *et al.*, 1995), a qual foi confirmada em estudos posteriores (Engelhardt *et al.*, 1996a; 1996b). O meloxicam mostrou ainda um efeito mais fraco na excreção urinária de PGE₂, quando comparado ao tenoxicam e piroxicam, ressaltando os benefícios deste medicamento sobre os tecidos renais. Adicionalmente, o meloxicam mostrou reduzido efeito sobre a produção de tromboxana, responsável pela agregação plaquetária (Engelhardt *et al.*, 1996b).

Estudos clínicos têm também evidenciado os reduzidos efeitos adversos promovidos pelo uso do meloxicam por extensos períodos, cujos pacientes avaliados utilizaram cronicamente esse medicamento para o tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite e outras doenças reumáticas (Dequeker *et al.*, 1998; Hawkey *et al.*, 1998). Em um estudo duplo cego com indivíduos com osteoartrite e artrite reumatóide, o uso de meloxicam nas dosagens diárias de 7.5 mg e 15 mg provocou significativamente menos eventos adversos gastrointestinais (avançados e leves) que AINES não seletivos. Adicionalmente, foi demonstrado que o meloxicam, quando utilizado cronicamente, ocasiona reduzidas taxas de complicações gastrintestinais, comparável com as taxas promovidas pelo celecoxibe (Layton *et al.*, 2003).

Estudos que envolvem a utilização de inibidores seletivos da COX-2 têm sido realizados na tentativa de esclarecer melhor os efeitos desta enzima nos diversos tecidos do organismo, saudáveis ou inflamados, procurando avaliar os riscos e benefícios promovidos por esta droga, bem como os mecanismos de ação que envolvem a inibição da COX-2 por tais medicamentos.

2.3 O Papel da Cicloxigenase-2 nos Eventos Fisiológicos

Apesar da COX-1 ter sido caracterizada como construtiva por participar de eventos fisiológicos normais e da COX-2 ter sido descrita como resultante de reações inflamatórias (Lara, 1998; Garavito & DeWitt, 1999), estudos têm demonstrado que a enzima COX-1 também tem seu papel na gênese da resposta inflamatória e, por outro lado, que a enzima COX-2 pode também participar de importantes eventos fisiológicos, nem sempre estando vinculada a processos patológicos e inflamatórios (Lara, 1998).

Tem sido demonstrado que a COX-2 está envolvida na regulação do sistema renina-angiotensina (Morham *et al.*, 1995) e nos processos vasoativos e

antiaterogênicos (Mitchell & Evans, 1998). Adicionalmente, a COX-2 tem importante papel hormonal na ovulação e no período final das gestações, já que sua presença induz às contrações uterinas (Morham *et al.*, 1995; Chakraborty *et al.*, 1996).

Além disso, o papel da COX-2 na homeostasia do sistema renal foi evidenciado por Morham *et al.* (1995), os quais demonstraram que camundongos nocautes para a COX-2 nasceram mortos ou com severos problemas renais e susceptíveis a desenvolver peritonite, enquanto que os animais que não expressavam COX-1 sobreviveram normalmente e não apresentaram alterações na homeostasia deste sistema. Adicionalmente, Okada *et al.* (2000) também sugeriram que a enzima COX-2 pode ser responsável por eventos associados ao tecido ósseo, relatando que camundongos com deficiência de COX-2 apresentaram menor densidade óssea quando comparados a animais normais, evidenciando a importância desta enzima no processo de osteogênese.

Deste modo, tem sido demonstrado que a enzima COX-2, diferentemente do que foi sugerido por muitos anos na literatura (Masferrer *et al.*, 1994; Lara, 1998), não está associada apenas à inflamação, possuindo também importante papel em determinados processos fisiológicos (Morham *et al.*, 1995; Chakraborty *et al.*, 1996; Mitchell & Evans, 1998; Okada *et al.*, 2000).

2.3.1 Mecanismos de Ação da COX-2 sobre o Reparo Ósseo

A formação óssea pode ser afetada pela ação de diversos mediadores químicos, tanto hormônios sistêmicos quanto fatores locais (Schwartz *et al.*, 1997). Muitos pesquisadores têm localizado e identificado mediadores relacionados ao processo de remodelação e reparo ósseo (Massagué, 1990; Matthews, 2005). Dentre eles, o fator de crescimento transformador beta (TGF- β), que inclui as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), como a proteína óssea morfogenética 2

(BMP-2) e a proteína óssea morfogenética 7 (BMP-7) (Matthews, 2005), age de modo a estimular a expressão de colágeno tipo I nos osteoblastos, aumentando a atividade dessas células e regulando a calcificação da matriz óssea (Massagué, 1990; Matthews, 2005). Outros importantes reguladores de formação óssea local são os fatores de crescimento derivado das plaquetas, fator de crescimento relacionado à insulina e fator de crescimento dos fibroblastos (Schwartz *et al.*, 1997).

As PGs, as quais podem, em determinadas circunstâncias, estimular a reabsorção óssea, são também responsáveis por mediar importantes eventos relacionados ao processo de formação e reparo ósseo (Kawaguchi *et al.*, 1995). Os osteoblastos produzem PGs de maneira auto-regulada, sendo que as PGs podem regular sua própria produção (Pilbean *et al.*, 1997). A regulação da produção de PGs pelas células ósseas pode também ocorrer por meio de diferentes estímulos celulares capazes de alterar a quantidade da produção deste mediador químico (Klein-Nulend *et al.*, 1997; Wadleigh & Herschman, 1999).

As PGs são capazes de aumentar a atividade osteoblástica e a formação óssea, interferindo positivamente na diferenciação dessas células (Norrdin & Shih, 1988). Tendo em vista o importante papel das PGs no processo de reparo ósseo, estudos demonstraram que a administração de PGE₂ ocasiona aumento na taxa de reparo de fraturas em muitos modelos animais (Norrdin & Shih, 1988; Keller *et al.*, 1993), indicando que, de fato, tais metabólitos sejam necessários para que ocorra eficiente reparo ósseo.

Os AINES, por inibirem a síntese de COX-1 e COX-2, reduzem a síntese de PGs provenientes da metabolização do ácido araquidônico (Emery, 1996; Salvi *et al.*, 1997). Em função do aumento da utilização de AINES com inibição seletiva para COX-2, estudos recentes têm demonstrado que a enzima COX-2 exerce papel crucial sobre o processo de reparo ósseo e importantes mecanismos biológicos podem explicar esta associação (Sato *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2002).

Um estudo realizado por Sato *et al.* (1997) avaliou a expressão das enzimas COX-1 e COX-2 durante a osteogênese, induzida por meio da injeção de colchicina, na cavidade medular de tíbias de ratos. A expressão tanto de COX-1 quanto de COX-2 foi aumentada imediatamente antes de ser iniciada a formação óssea. Apenas a expressão de COX-2 foi elevada novamente durante o início da formação de tecido ósseo. Além disso, a administração diária de indometacina reduziu a indução óssea promovida pela colchicina nas tíbias dos ratos, indicando a relação entre as PGs e a osteogênese. De acordo com os resultados, os autores sugeriram que ambas as enzimas, COX-1 e COX-2, podem estar envolvidas com a osteogênese, sendo que a COX-2 apresenta essencial importância na maturação dos osteoblastos após o início do processo de formação óssea.

Zhang *et al.* (2002) realizaram um estudo para verificar o papel das isoformas da COX sobre a ossificação endocondral e intramembranosa. Para a avaliação sobre o reparo ósseo endocondral, fraturas ósseas confeccionadas em tíbias de camundongos nocautes para COX-1 ou COX-2 foram avaliadas radiograficamente após 7, 14 e 21 dias da confecção do defeito e comparadas com o reparo presente nos animais controle, os quais expressavam normalmente tais enzimas. Os resultados mostraram que houve diferença estatisticamente significativa, aos 14 dias, na calcificação do calo ósseo quando comparado o grupo controle com aquele que não expressava COX-2, sendo que este apresentou menor calcificação. Aos 21 dias, também foi verificada diferença significativa na união óssea entre o grupo controle e aquele com ausência de COX-2, sendo que reparo ósseo completo foi observado em quase todos os animais do grupo controle. Não foi constatada diferença no reparo ósseo entre o grupo controle e o grupo que não expressava COX-1, em nenhum dos períodos avaliados. De maneira similar, Zhang *et al.* (2002) também mostraram que a COX-2 é necessária para a ossificação intramembranosa. A formação óssea em defeitos de calvária foi avaliada em camundongos controle (que expressavam normalmente as enzimas COX-1 e COX-2) e camundongos nocautes para COX-1

e COX-2. Após 10 dias, foi observado, por meio de avaliação histométrica, que os animais que não expressavam COX-2 apresentaram menor neoformação óssea na região do defeito, sendo que o processo de reparo foi de 60% a 75% menor que os animais nocautes para COX-1. Esses resultados demonstraram que a COX-2 é requerida tanto na ossificação endocondral quanto na intramembranosa durante o processo de reparo, enquanto que a COX-1 não possui papel crítico neste processo.

Ainda com relação aos experimentos realizados no trabalho descrito anteriormente, para elucidar os mecanismos associados à COX-2 e ao reparo ósseo, Zhang *et al.*, (2002) observaram, em culturas de células de medula óssea derivadas de animais nocautes para COX-1 ou COX-2 e controle (sem alteração na expressão destas enzimas), a diferenciação osteoblástica das células a partir de sinais osteogênicos. Após 21 dias, na cultura celular derivada de animais com ausência de COX-2, foi observado menor número e área de nódulos ósseos, não havendo diferenças significativas para as culturas de células provenientes de animais controle ou sem COX-1. A adição de PGE₂ à cultura celular com ausência de COX-2 restaurou a formação de nódulos ósseos a níveis compatíveis com os observados em células controle. Objetivando avaliar se a COX-2 é requerida na indução da formação óssea por BMPs, foi adicionada BMP-2 às culturas celulares controle e que não expressavam COX-2, sendo observada indução da formação óssea similar em ambas as culturas. Porém, em culturas contendo tanto PGE₂ quanto BMP-2 foi verificado aumento na formação de nódulos ósseos, quando comparadas às culturas que apenas continham BMP-2, sugerindo que a COX é necessária para que haja máxima osteogênese na presença de sinais osteogênicos.

Adicionalmente, Zhang *et al.* (2002) demonstraram que a COX-2 regula importantes fatores de transcrição, tais como cbfa-1 e osterix, os quais exercem papel fundamental na diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos (Ducy *et al.*, 1997; Komori *et al.*, 1997). A presença de tais fatores de transcrição

foi examinada em culturas celulares de medula óssea derivadas de animais desprovidos de COX-2 e normais (sem alterações na expressão da enzima COX). Foi observada redução significativa de cbfa-1 e osterix na cultura celular sem COX-2, sendo que após a administração de PGE₂, a expressão destes fatores retornou aos níveis semelhantes àqueles obtidos no grupo controle (sem alterações na expressão da enzima COX), ocorrendo expressão máxima destes fatores de transcrição, quando da adição de BMP-2 à PGE₂. De acordo com os resultados, a presença de COX-2 é importante para que haja expressão adequada dos fatores cbfa-1 e osterix, críticos no processo de formação óssea associada ao reparo (Zhang *et al.*, 2002). Corroborando com tais observações, Duncan & Turner (1995) e Forwood (1996) verificaram que a formação óssea em resposta ao estresse mecânico é mediada pela COX-2.

Deste modo, tendo em vista os mecanismos discutidos acima, há evidências de que a enzima COX-2, e portanto os AINES, regulam o processo de diferenciação osteoblástica, tendo importante papel na osteoblastogênese.

2.4 Inibidores seletivos de COX-2 e o Reparo Ósseo: Estudos *in vivo*

Inúmeros AINES não seletivos incluindo ibuprofeno (Lindholm & Tornkvist, 1981; Obeid *et al.*, 1992; Yazdi *et al.*, 1992; Altman *et al.*, 1995), indometacina (Allen *et al.*, 1980; Keller *et al.*, 1989; Engesaeter *et al.*, 1992; Yazdi *et al.*, 1992; Altman *et al.*, 1995), acetominofeno (Yazdi *et al.*, 1992), ácido acetilsalicílico (Allen *et al.*, 1980; Yazdi *et al.*, 1992), ketorolac (Ho *et al.*, 1998; 1999; Martin *et al.*, 1999), piroxicam (Yazdi *et al.*, 1992), flurbiprofeno (Yazdi *et al.*, 1992), diclofenaco sódico (Akman *et al.*, 2002) e naproxeno (Goodman *et al.*, 2002) têm demonstrado inibição no processo de reparo ósseo em diversas situações experimentais tais como no reparo de fraturas no fêmur (Altman *et al.*, 1995) e na tíbia de ratos (Lindholm & Tornkvist, 1981; Akman *et al.*, 2002), em

osteotomias confeccionadas em tíbias de coelhos (Keller *et al.*, 1989), em fraturas na junção têmporo-mandibular de ratos (Obeid *et al.*, 1992) e em defeitos confeccionados na ulna de coelhos associados a enxertos de matriz óssea desmineralizada (Ho *et al.*, 1995, 1998).

Adicionalmente, em um estudo retrospectivo em humanos, Giannoudis *et al.* (2001) avaliaram os fatores que poderiam estar relacionados à não união de fraturas no fêmur, dentre eles, o uso de AINES. Dos pacientes avaliados, 67 apresentaram e 32 não apresentaram união da fratura óssea. Os autores verificaram que houve associação entre o uso de AINES pelos pacientes após a injúria e ausência ou atraso no reparo das fraturas.

Após o surgimento dos AINES que inibem preferencialmente ou especificamente a enzima COX-2, evitando deste modo os efeitos adversos provocados pelos AINES convencionais e ampliando, conseqüentemente, o uso de tais medicamentos, diversos estudos foram realizados com o propósito de também investigar o papel desse tipo de antiinflamatório não esteroidal sobre o processo de reparo ósseo (Goodman *et al.*, 2002; Simon *et al.*, 2002; Bergenstock *et al.*, 2005; Endo *et al.*, 2005; Gurgel *et al.*, 2005; Leonelli *et al.*, 2006).

Goodman *et al.* (2002) compararam o efeito de um AINES convencional, o naproxeno, com o de um AINES específico para a inibição de COX-2, o rofecoxibe, no crescimento ósseo ao redor de câmaras inseridas em tíbias de coelhos. Após seis semanas da cirurgia, os animais foram submetidos ao tratamento com naproxeno (110 mg/kg/dia), adicionado à água ingerida pelos animais, e rofecoxibe (12,5 mg/dia), inserido diretamente na cavidade oral dos mesmos, ambos administrados durante o período de quatro semanas. Os espécimes foram avaliados histologicamente quanto à quantidade de formação óssea e foi realizada avaliação imunohistoquímica de fosfatase alcalina. Os resultados mostraram que a porcentagem de crescimento ósseo foi significativamente menor nos dois grupos tratados com AINES, quando comparados ao grupo controle, que não recebeu medicação, sendo que a

redução do número de células positivas para fosfatase alcalina foi apenas significativa para o grupo tratado com rofecoxibe. De acordo com os resultados, os autores sugeriram que AINES que inibem em maior intensidade a enzima COX-2 possuem maior impacto negativo sobre a formação do tecido ósseo.

Simon *et al.* (2002) avaliaram por meio de exames radiográficos, mecânicos e histológicos o papel dos AINES inibidores de COX-2, celecoxibe (4 mg/kg/dia) e rofecoxibe (3 mg/kg/dia), no reparo ósseo de fraturas femurais em ratos, comparando os resultados com o efeito promovido por um AINES convencional, a indometacina (1 mg/kg/dia), todos administrados via gavagem. Os animais foram mortos após 2, 4, 6 e 8 semanas do dia da confecção da fratura, para que fossem realizadas as avaliações. Os resultados radiográficos, mecânicos e histológicos demonstraram que os animais que receberam celecoxibe e rofecoxibe apresentaram redução ou completa ausência de reparo na região da fratura óssea, tendo sido também verificado prejuízo no reparo ósseo nos animais tratados com indometacina, porém em menor proporção. Adicionalmente, os autores realizaram as mesmas avaliações em animais nocautes para a enzima COX-2, nos quais também foram confeccionadas fraturas no fêmur. Foi demonstrado que estes animais, os quais não expressavam a enzima COX-2, também tiveram o processo de reparo da fratura óssea prejudicado. Portanto, os autores sugeriram que celecoxibe e rofecoxibe promoveram maior prejuízo sobre o reparo de fraturas, podendo bloquear por completo o processo de ossificação endocondral e ressaltam que a atividade da COX-2 é necessária para que ocorra efetivo reparo ósseo.

Bergenstock *et al.* (2005) avaliaram o efeito do celecoxibe e do paracetamol, analgésico sem ação antiinflamatória, no reparo de fraturas confeccionadas no fêmur de ratos. Os animais foram tratados por dez dias após a fratura com paracetamol (60 ou 300 mg/kg) ou celecoxibe (3 ou 6 mg/kg), ou receberam apenas o veículo, todos administrados uma vez ao dia. Os resultados foram avaliados após oito semanas por meio de radiografias, teste mecânico e

exame histológico. Foi demonstrado que a proporção de falha na união na região de fratura foi significativamente maior para os animais tratados com celecoxibe, quando comparados com os demais grupos, os quais não tiveram o reparo ósseo prejudicado.

Endo *et al.* (2005) avaliaram em ratos o efeito do etodolac, inibidor seletivo de COX-2, no reparo ósseo em fraturas criadas no fêmur de ratos. O medicamento (20 mg/dia) foi administrado intraperitonealmente durante uma semana, três semanas, ou entre o sétimo e décimo quarto dia a partir do dia da fratura, de acordo com o grupo experimental. Parte dos animais recebeu placebo. Avaliações radiográficas foram realizadas semanalmente e, adicionalmente, foi feito teste mecânico no fim do experimento. Ambas as avaliações demonstraram que o etodolac prejudicou significativamente o reparo na região de fratura, quando administrado por uma ou três semanas, não havendo diferenças entre o grupo placebo e o que recebeu o etodolac entre o sétimo e décimo quarto dia de reparo. De acordo com os autores, a administração do AINES que preferencialmente inibe a COX-2 provoca prejuízo no reparo ósseo principalmente em suas fases iniciais.

Gurgel *et al.* (2005) investigaram em ratos o efeito do meloxicam, inibidor seletivo de COX-2, no reparo ósseo em defeitos de calvárias em ratos. Em seguida à confecção dos defeitos, os animais foram aleatoriamente distribuídos em um dos quatro grupos de tratamento, recebendo injeções subcutâneas diárias de: soro fisiológico por 15 dias; soro fisiológico por 45 dias; 3 mg/kg de meloxicam por 15 dias; 3 mg/kg de meloxicam por 45 dias. Medidas do preenchimento ósseo na região do defeito foram histometricamente realizadas. Os resultados demonstraram que os grupos tratados com meloxicam apresentaram uma redução significativa no reparo ósseo quando comparados com os respectivos grupos controle sem, no entanto, ter sido observada diferença entre os períodos experimentais. Deste modo, o meloxicam foi capaz de reduzir o reparo ósseo em defeitos de calvárias de ratos após sua administração contínua, sendo observado

prejuízo no processo de reparo inclusive no período mais curto de administração da droga.

Leonelli *et al.* (2006) avaliaram o efeito de um AINES com inibição específica para COX-2, rofecoxibe, e um AINES tradicional, indometacina, ambos administrados durante o período de quatro semanas, no reparo de fraturas no fêmur de ratos. Após a confecção da fratura, parte dos animais recebeu rofecoxibe (8 mg/kg/dia), parte recebeu indometacina (30 mg/kg/dia) e os demais não foram tratados com medicamento. Apesar de ambos os AINES terem reduzido o reparo das fraturas, esse prejuízo foi apenas estatisticamente significativo para o rofecoxibe. De acordo com os resultados, 64,7% das fraturas nos animais tratados com rofecoxibe não repararam, enquanto que para aqueles tratados com indometacina ou não tratados com AINES, os valores de fraturas que não repararam foram de, respectivamente, 17,6% e 0%.

Apesar de alguns estudos *in vitro* e *in vivo* mostrarem o efeito dos AINES que preferencialmente inibem a enzima COX-2 sobre o processo de reparo ósseo (Goodman *et al.*, 2002; Simon *et al.*, 2002; Endo *et al.*, 2005; Gurgel *et al.*, 2005; Leonelli *et al.*, 2006), pouca atenção tem sido direcionada à influência que tais medicamentos podem ocasionar sobre a osseointegração de implantes.

2.5 Antiinflamatórios Não Esteroidais e o Reparo Ósseo em Implantes

Pouca informação há na literatura com relação à influência dos AINES sobre o processo de reparo ósseo ao redor de implantes dentais.

Um dos poucos estudos realizados nesse contexto foi desenvolvido por Reddy *et al.* (1990), os quais examinaram o efeito da administração sistêmica de flurbiprofeno sobre o reparo ósseo subsequente à colocação de implantes dentais. Implantes de titânio foram instalados em quatro pacientes. No período pós-operatório, dois dos pacientes receberam 100 mg de flurbiprofeno, duas vezes ao

dia, durante três meses, e os outros dois pacientes não receberam o medicamento. Radiografias do pós-operatório imediato e de quatro meses após a instalação dos implantes foram analisadas por meio de subtração radiográfica. Foram analisados o ganho ou a perda óssea ao redor dos implantes. Os resultados sugeriram que o uso do flurbiprofeno está associado ao aumento da densidade óssea ao redor das roscas dos implantes. No entanto, segundo os autores, o número de pacientes utilizados no relato de caso é muito reduzido para que os resultados encontrados ofereçam relevante significância científica.

Jacobsson *et al.*, (1994) também avaliaram o efeito dos AINES no reparo ósseo ao redor de implantes. Foram utilizados 10 coelhos, os quais receberam implantes recobertos com hidroxiapatita inseridos no fêmur. Cinco animais receberam 30 mg de diclofenaco, via intramuscular, diariamente, durante uma semana após a colocação dos implantes. Os demais animais não foram submetidos à terapia com AINES, sendo utilizados como controle. As avaliações foram realizadas após o período de três semanas da colocação dos implantes, por meio de teste mecânico. Os autores concluíram que o AINES inibiu o reparo ósseo ao redor dos implantes e que esse efeito inibitório não foi neutralizado pela cobertura de hidroxiapatita presente nos implantes.

Jeffcoat *et al.* (1995) avaliaram clinicamente o efeito do flurbiprofeno na osseointegração de implantes em 29 pacientes submetidos à colocação de implantes na mandíbula. Após a cirurgia, os pacientes foram designados a receberem flurbiprofeno nas dosagens de 50 ou 100 mg/kg, duas vezes ao dia, durante o período de três meses, a partir do dia da instalação dos implantes. Parte dos pacientes não foi submetida à administração do AINES, recebendo placebo. Foram realizadas radiografias no pós-operatório imediato e após três (dia da colocação de carga protética), seis, nove e doze meses, para posterior avaliação por meio de subtração radiográfica. Os resultados demonstraram que, entre o terceiro e sexto mês, os pacientes tratados com flurbiprofeno na dose de 100 mg/kg apresentaram menor perda óssea que os demais grupos. Não foram

observadas diferenças na quantidade óssea ao redor de implantes entre os grupos nas avaliações subseqüentes.

Apesar da presença destes estudos que se propuseram avaliar os efeitos dos AINES não seletivos sobre a osseointegração de implantes (Reddy *et al.*, 1990; Jacobsson *et al.*, 1994; Jeffcoat *et al.*, 1995), não há dados na literatura com relação ao papel de AINES inibidores seletivos de COX-2 sobre o processo de reparo ao redor de implantes.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do meloxicam sobre a formação óssea ao redor de implantes de titânio colocados em tíbias de ratos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra

Foram utilizados 34 ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar, SPF), machos, pesando no início do experimento entre 250 e 350 gramas, com idade aproximada de 10 semanas, provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas.

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, com cinco animais em cada gaiola, no biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp, sob as mesmas condições ambientais, em sala climatizada ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), e com ciclo claro/escuro de 12/12 horas. Receberam, durante todo o período, ração para animais de laboratório (Purina - Nuvilab CR-1 autoclavável; Nuvital, SP, Brasil) e água “*ad libitum*”.

Todos os procedimentos foram executados de acordo com as normas éticas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram realizados após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da UNICAMP - Bioterismo da UNICAMP (CEMIB) (Protocolo nº 762-1 / ver anexo1).

4.2 Procedimento Cirúrgico

Os animais foram anestesiados, de acordo com o peso corpóreo, por meio de injeção intramuscular de solução de cloridrato de xilasina (Virbaxyl[®]2% - Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Roseira, SP, Brasil - 15 mg/kg) e ketamina (Francotar[®] - Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Roseira, SP, Brasil - 50 mg/kg).

Após anestesia, foram realizadas tricotomia e anti-sepsia local da tíbia com solução iodada (Riodeine Tópico[®]; Indústria Farmacêutica Rioquímica LTDA., São José do Rio Preto, SP, Brasil). Com uma lâmina de bisturi nº15, foi realizada uma incisão de aproximadamente 1,5 cm, proporcionando livre acesso à superfície óssea da tíbia (Figura 1-a,b). Sob irrigação constante com solução salina, utilizando-se motor elétrico, contra-ângulo redutor 16:1 (1000 rpm) e broca tipo lança, foi preparado, para a colocação dos implantes, um leito bicortical na tíbia dos animais (Figura 1-c,d), o qual apresentava dimensão final de 2 mm de diâmetro.

Foram utilizados 34 implantes de titânio comercialmente puro, do tipo osseointegrável, rosqueável, com 4,0 mm de comprimento por 2,2 mm de diâmetro (Titanium Fix[®], AS Technology Ltda., São José dos Campos, SP, Brasil) (Figura 1-e,f). Os implantes foram posicionados e rosqueados manualmente até que estivessem completamente introduzidos nas duas corticais ósseas (Figura 1-g,h). Finalmente, os tecidos foram reposicionados e suturados com pontos interrompidos de fio de mononylon 4-0 (Ethicon[®], Johnsons do Brasil S/A, São José dos Campos, SP, Brasil). Solução iodada (Riodeine Tópico[®]; Indústria Farmacêutica Rioquímica LTDA., São José do Rio Preto, SP, Brasil) foi novamente aplicada sobre a área operada.

Após a cirurgia, os animais receberam dose única de 1 mg/kg de antibiótico (Pentabiótico pequeno porte, Laboratórios Wyeth-Whitehall Ltda., São Paulo, SP, Brasil), via intramuscular. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas e em grupos de cinco animais, sem nenhuma restrição de movimentação durante todo o período experimental.

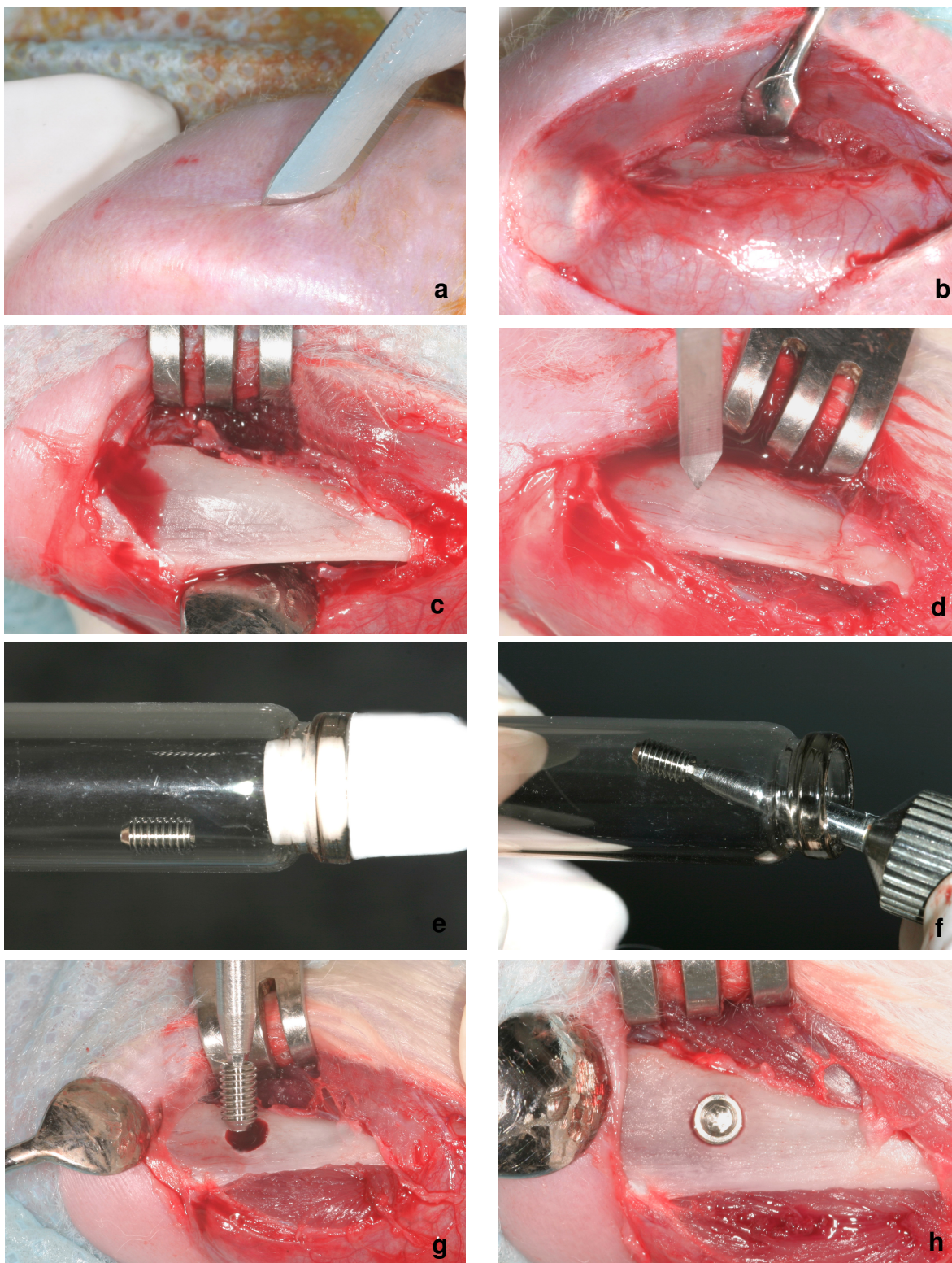


Figura 1 - Incisão (a), acesso à superfície da tíbia (b) e exposição (c). Início da confecção do leito bicortical com broca tipo lança (d). Manuseio do implante para a colocação no leito (e) (f). Implante posicionado para ser rosqueado manualmente (g) e introduzido nas duas corticais ósseas (h).

4.3 Constituição dos Grupos

Após a colocação dos implantes, os animais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos:

- **Controle (Solução Salina Estéril) (n=17):** Foi administrado, via subcutânea, solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% esterilizada (Glicolabor® - Indústria Farmacêutica – São Paulo/Brasil) no volume de 1 ml/kg de peso, diariamente, durante 60 dias.
- **Teste (Meloxicam) (n=17):** Foi administrado, via subcutânea, meloxicam (Movatec®, Boehringer Ingelheim do Brasil Química e Farmacêutica Ltda., Itapeverica da Serra, SP, Brasil) (Figura 2) na dosagem de 3 mg/kg de peso (Bezerra *et al.*, 2000; Gurgel *et al.*, 2004; 2005), diariamente, durante 60 dias.



Figura 2 - Meloxicam (Movatec® - Boehringer Ingelheim do Brasil, São Paulo, SP).

4.4 Processamento Histológico

Após 60 dias da colocação dos implantes, os animais foram anestesiados, conforme descrito para colocação dos implantes, e submetidos à perfusão cardíaca com a utilização de formol a 4% em tampão fosfato (pH 7,2-7,4). As tíbias foram removidas e seccionadas em blocos contendo os implantes, que foram colocados em formol neutro tamponados a 4% por 24 horas. Após o processo de fixação e posterior lavagem em água destilada, os espécimes foram desidratados em uma série de solução de álcool etílico (60-100%), sob constante agitação.

Em seguida, as peças foram submetidas à infiltração plástica com soluções gradativas contendo glicolmetacrilato (Technovit 7200 VLC; Heraeus Kulzer GmbH, Werrheim, Alemanha) e álcool etílico, finalizando com duas infiltrações de glicometacrilato puro, sob constante agitação. Ao término da infiltração, os blocos foram incluídos em metilmetacrilato puro e foi realizada polimerização da resina. Os blocos foram removidos dos moldes e montados em lâmina acrílica (Technovit 4000 - Heraeus Kulzer GmbH, Werrheim, Alemanha).

Por meio da utilização de um sistema de corte (Exakt – Cutting System, Apparatebau GmbH, Hamburgo, Alemanha), segundo técnica descrita por Donath & Breuner (1982), foi realizado um corte preliminar e obtida uma secção de 300-500µm de espessura. Esta secção foi submetida a um sistema de microdesgaste (Exakt – Micro Grinding System[®], Apparatebau GmbH, Hamburg, Alemanha), resultando em uma secção de aproximadamente 20 a 30 µm de espessura, representando uma lâmina por implante dental. As secções obtidas foram então fixadas em lâminas e coradas com coloração de Azul de Toluidina a 1%. Posteriormente, as lamínulas foram posicionadas, coladas com resina e polimerizadas, a fim de que, então, fosse realizada a análise histométrica.

4.5 Análise Histométrica

Cada lâmina contendo uma secção do implante e tecido duro não descalcificado circundante foi observada em microscópio de luz (Câmara digital MC 80 DX® - Microscópio Axioskop 2 plus® - (Zeiss, Jena, Germany), por um examinador previamente calibrado.

Sem que o examinador soubesse a qual grupo pertenciam os espécimes e por meio de um programa de análise de imagens (Image-Pro®; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA), foram avaliados os seguintes parâmetros, nos lados esquerdo e direito de cada implante (César-Neto *et al.*, 2003; Duarte *et al.*, 2003a; 2003b; Nociti Jr *et al.*, 2002a; 2002b; 2002c):

1) CD: Extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante, dada pela porcentagem calculada dividindo-se o comprimento de contato pelo comprimento total das roscas (Figura 3).

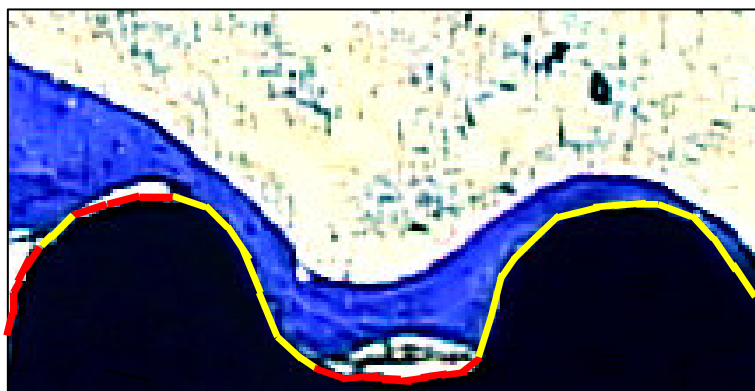


Figura 3 - Representação da mensuração do parâmetro CD. Tracejados amarelos e vermelhos representam, respectivamente, presença e ausência de tecido ósseo em contato direto com o implante.

2) PR: preenchimento do tecido ósseo dentro dos limites das roscas de cada implante, dada pela porcentagem relativa à área de tecido ósseo presente pela área total de todas as roscas (Figura 4).

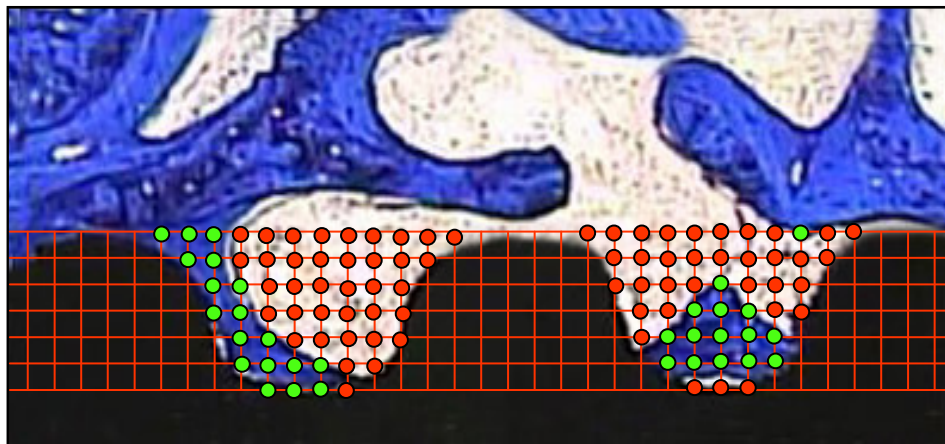


Figura 4 – Representação da mensuração do parâmetro PR. Pontos verdes e vermelhos representam, respectivamente, presença e ausência de tecido ósseo na região dentro das roscas do implante.

3) OA: Porcentagem de tecido ósseo na região adjacente às roscas (500 μ m lateralmente à superfície do implante), dada pela porcentagem relativa à área de tecido ósseo presente pela área total da região lateral ao implante (Figuras 5 e 6).

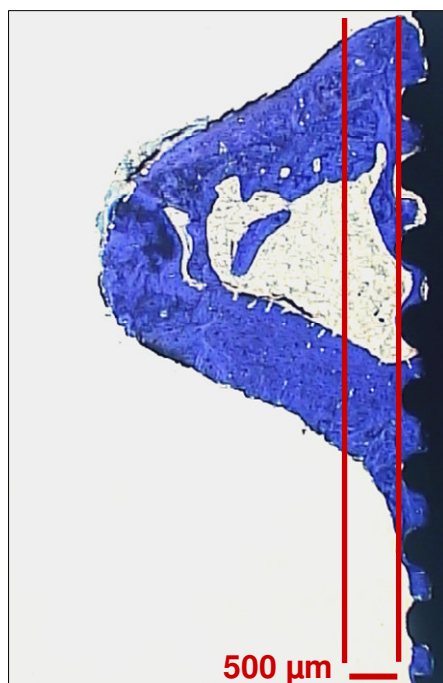


Figura 5 – Representação da região de 500 μ m lateralmente ao implante utilizada para a mensuração do parâmetro OA.

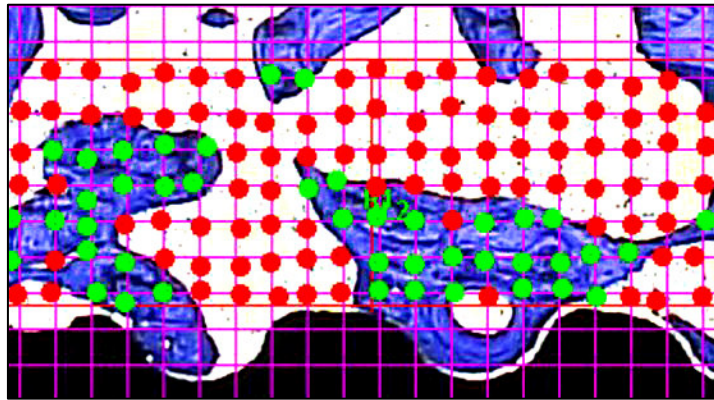


Figura 6 – Representação da mensuração do parâmetro OA. Pontos verdes e vermelhos representam, respectivamente, presença e ausência de tecido ósseo na região de 500 μm lateralmente à superfície do implante.

Os dados foram obtidos separadamente para região cortical (A) e região medular (B), para a subsequente análise estatística (Figura 7).

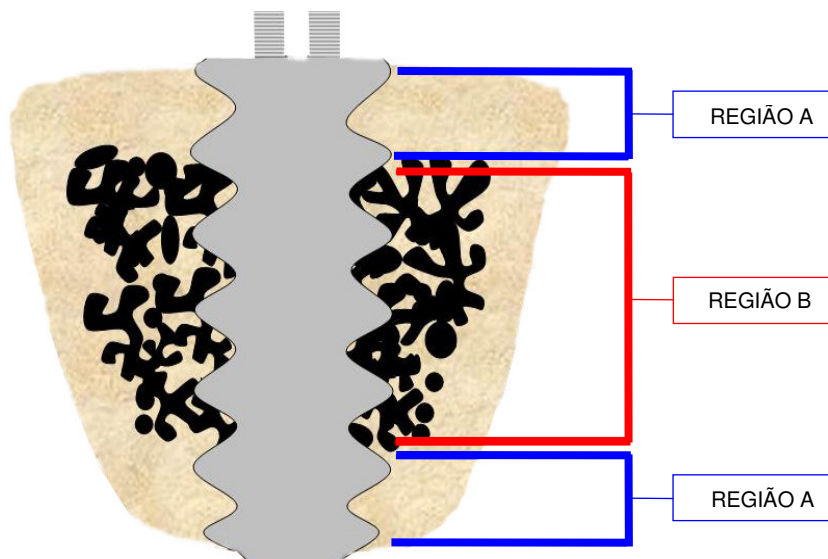


Figura 7 - Desenho esquemático representando o osso cortical (região A) e o osso medular (região B).

Fonte: Adaptado de Nociti *et al.*, 2002b.

4.6 Análise Estatística

Uma vez obtidos os dados de cada implante (CD, PR e OA, das regiões cortical e medular), médias representativas de cada animal foram obtidas e comparadas estatisticamente entre os grupos, com o auxílio do teste não paramétrico de Mann-Whitney ($\alpha= 5\%$).

5. RESULTADOS

Foram incluídos no estudo, inicialmente, 34 animais. Porém, um animal do grupo controle morreu após a cirurgia de colocação do implante e duas amostras do grupo controle foram perdidas durante o processamento laboratorial. Desta forma, ao final do presente estudo, foram incluídos para análise estatística 17 animais do grupo teste e 14 animais do grupo controle.

As comparações intergrupo demonstraram que o meloxicam interferiu negativamente no reparo ósseo ao redor dos implantes de titânio, tanto no osso cortical quanto no osso medular. Para a região A (osso cortical), diferenças estatisticamente significantes foram observadas com relação à porcentagem de contato osso implante (CD), porcentagem de preenchimento do tecido ósseo dentro dos limites das roscas (PR) e porcentagem de osso adjacente às roscas (OA) entre os grupos controle e teste ($p < 0,05$). Além disso, para a região B (osso medular), a análise dos dados mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos em todos os parâmetros analisados (CD, PR e OA) ($p < 0,05$) (Tabelas 1-3).

Tabela 1 - Média e desvio padrão da porcentagem de contato ósseo direto com a superfície do implante (CD) nas regiões A e B.

Grupos	Região A	Região B
Controle	47,01 ± 10,48 A	30,76 ± 13,80 A
Teste	35,93 ± 12,25 B	16,86 ± 11,48 B

Médias seguidas por letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($\alpha = 0,05$) dentro de cada coluna por meio do Teste Mann Whitney.

Tabela 2 - Média e desvio padrão da porcentagem de preenchimento do tecido ósseo dentro dos limites das roscas do implante (PR) nas regiões A e B.

Grupos	Região A	Região B
Controle	86,42 ± 3,66 A	34,83 ± 8,18 A
Teste	61,58 ± 12,09 B	25,66 ± 9,16 B

Médias seguidas por letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($\alpha=0,05$) dentro de cada coluna por meio do Teste Mann Whitney.

Tabela 3 - Média e desvio padrão da porcentagem de tecido ósseo na região adjacente às roscas (OA), em uma região de 500 μ m lateralmente à superfície do implante, nas regiões A e B.

Grupos	Região A	Região B
Controle	96,86 ± 0,96 A	15,76 ± 7,05 A
Teste	91,06 ± 3,05 B	7,73 ± 4,61 B

Médias seguidas por letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($\alpha=0,05$) dentro de cada coluna por meio do Teste Mann Whitney.

As fotomicrografias ilustram histologicamente os resultados obtidos e confirmam as observações encontradas na análise histométrica, mostrando no grupo controle maior porcentagem de contato osso-implante, maior preenchimento ósseo dentro das roscas e maior porcentagem de tecido ósseo na área adjecante às roscas (Figura 8). No grupo teste, as fotomicrografias são caracterizadas por menor contato osso-implante, menor preenchimento ósseo dentro das roscas e menor porcentagem de osso na área adjecante às roscas (Figura 9).

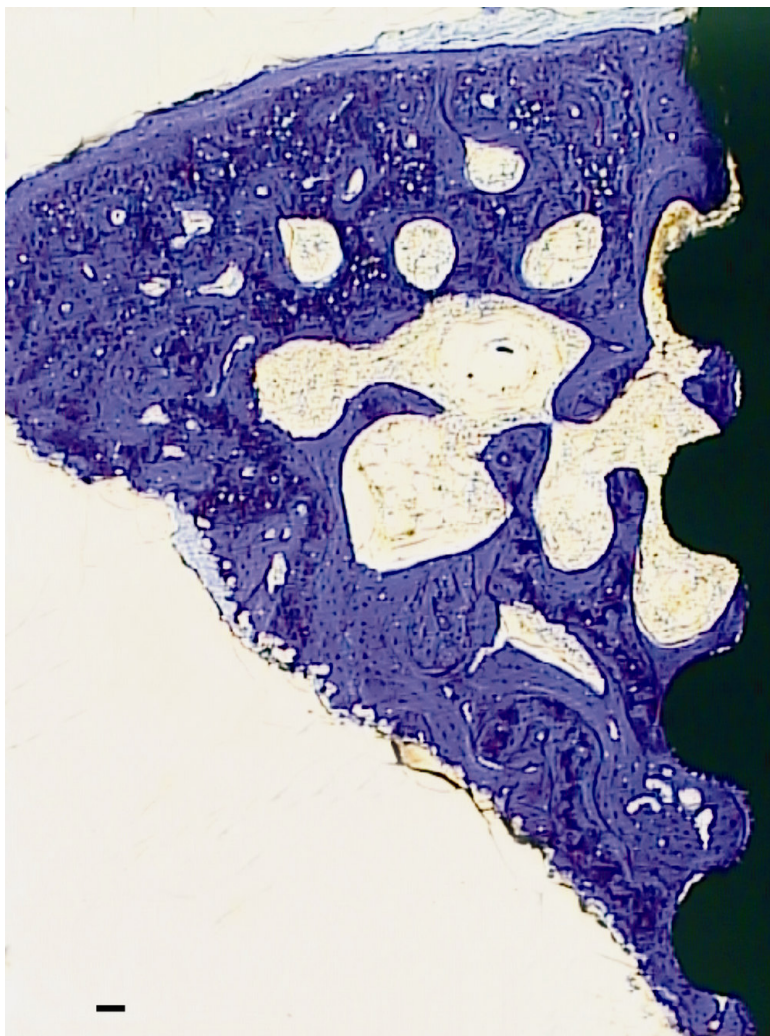


Figura 8 - Fotomicrografia ilustrando o aspecto histológico observado dentro dos limites das roscas e na área adjacente à superfície do implante no grupo controle. Observar osso medular e cortical. (Azul de Toluidina; Magnificação Original X 12,5; barra=0,125mm).

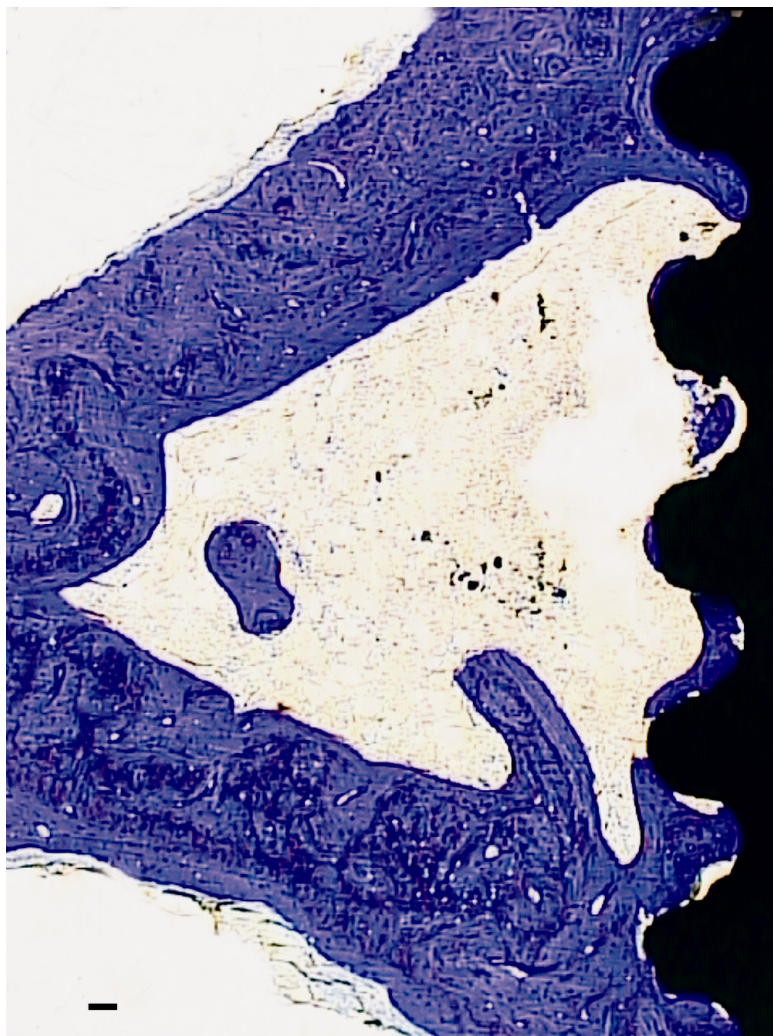


Figura 9 - Fotomicrografia ilustrando o aspecto histológico observado dentro dos limites das roscas e na área adjacente à superfície do implante no grupo teste. Observar osso medular e cortical. (Azul de Toluidina; Magnificação Original X 12,5; barra=0,125mm).

6. DISCUSSÃO

Embora muitos estudos tenham observado efeitos negativos no metabolismo do tecido ósseo e prejuízo no reparo do mesmo após o uso de inibidores seletivos de COX-2 (Simon *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2002; Gurgel *et al.*, 2005) não há informações com relação ao efeito de inibidores seletivos de COX-2 sobre o reparo ósseo ao redor de implantes. Adicionalmente, há limitadas informações referentes ao efeito de AINES não seletivos sobre a osseointegração de implantes (Reddy *et al.*, 1990; Jacobsson *et al.*, 1994; Jeffcoat *et al.*, 1995). Desta forma, o presente estudo se propôs a avaliar o efeito de um inibidor seletivo de COX-2, o meloxicam, sobre a formação óssea ao redor de implantes em ratos.

De acordo com os resultados, o meloxicam prejudicou a formação óssea ao redor dos implantes ($p < 0,05$). Os dados observados no presente estudo podem ser explicados por alguns mecanismos que demonstram como os inibidores da enzima COX-2 podem agir sobre o processo de reparo ósseo.

Segundo Zhang *et al.* (2002), esta enzima é responsável pelo controle de importantes fatores de transcrição, tais como cbfa-1 (core binding factor alpha 1), também chamado Runx2 (Runt-related gene 2), e osterix, os quais são requeridos no processo de diferenciação osteoblástica e formação óssea. O cbfa-1, um membro da família Runx dos fatores de transcrição, está envolvido na regulação de genes específicos da osteoblastogênese, controlando, por exemplo, a produção de osteocalcina, colágeno tipo I, osteopontina e sialoproteína óssea (Ducy *et al.*, 1997; Komori *et al.*, 1997; Harada *et al.*, 1999). Além disso, a presença desse fator de transcrição é essencial na produção de osteoblastos, já que estudos demonstraram que camundongos nocautes para cbfa-1 não são capazes de produzir células osteoblásticas (Ducy *et al.*, 1997; Komori *et al.*, 1997). Osterix é um outro fator de transcrição o qual também tem grande importância no processo de formação óssea (Nakashima *et al.*, 2002). Semelhantemente ao que ocorre com animais que não expressam cbfa-1 (Ducy *et al.*, 1997; Komori *et al.*,

1997), camundongos nocautes para osterix apresentam falta de osteoblastos, além de não ativarem importantes marcadores ligados à osteoblastogênese, tais como osteopontina, osteocalcina e sialoproteína óssea, havendo persistência de células mesenquimais indiferenciadas (Nakashima *et al.*, 2002). O fenótipo observado nos camundongos nocautes para osterix é semelhante ao observado em animais nocautes para cbfa-1 (Komori *et al.*, 1997). No entanto, nos camundongos nocautes para osterix, o fator de transcrição cbfa-1 apresenta expressão normal e sem alterações, enquanto que não pode ser observada expressão de osterix nos camundongos nocautes para cbfa-1, sugerindo que osterix dependa da presença de cbfa-1 (Komori *et al.*, 1997). De acordo com os estudos de Zhang *et al.* (2002), a COX-2 tem importante ação no controle destes fatores de transcrição, não exercendo papel crítico neste processo a enzima COX-1. Deste modo, a redução da expressão de cbfa-1 e osterix pode contribuir para o prejuízo no processo de reparo ósseo (Nakashima *et al.*, 2002), como observado no presente estudo.

Outro importante aspecto que pode explicar o efeito negativo do meloxicam sobre o reparo ósseo é o fato de haver uma interação entre os metabólitos da COX-2 e as BMPs no processo de reparo do tecido ósseo. Determinadas BMPs, tais como BMP-2, BMP-4 e BMP-7, não somente estimulam a diferenciação osteoblástica de células osteoprogenitoras, como também transdiferenciam células mesenquimais não osteogênicas em células da linhagem osteoblástica (Katagiri *et al.*, 1994; Yamaguchi *et al.*, 1996; 2000). De maneira geral, a COX-2 é induzida nas fases iniciais do processo de reparo ósseo e produz aumentadas quantidades de PGE₂. As PGE₂, por sua vez, podem induzir à produção de BMPs e/ou cooperar com as BMPs para que seja elevada a expressão de cbfa-1 e osterix (Nakashima *et al.*, 2002; Paralkar *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2002; Yagi *et al.*, 2003).

Adicionalmente, parece existir uma interação sinérgica entre cbfa-1 e BMP-2 para que a diferenciação osteoblástica seja estimulada, tanto *in vitro* como *in vivo* (Yang *et al.*, 2003). Estudos sugerem também que a BMP-2 pode induzir a

expressão de osterix independentemente de cbfa-1 (Celil & Campbell *et al.*, 2005), embora osterix tenha sido sugerido como dependente do fator de transcrição cbfa-1 (Nakashima *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003a; Lee *et al.*, 2003b).

Outros estudos têm relatado mecanismos alternativos que podem agir independente de, ou em paralelo ao cbfa-1, durante a progressão da linhagem osteoblástica (Kato *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2003; Jadowiec *et al.*, 2004). De acordo com estes autores, além do cbfa-1, outros componentes são necessários para regular a expressão de osterix durante a osteoblastogênese e, adicionalmente, os estudos sugerem que mecanismos independentes de cbfa-1/osterix devam ainda ser elucidados.

Arikawa *et al.* (2004) observaram recentemente que células tronco mesenquimais humanas constitutivamente expressavam COX-2, e que a inibição da síntese de PGE₂ por NS-398, um inibidor seletivo de COX-2, suprimia a expressão de BMP-2. Tais observações sugerem que a PGE₂, endogenamente produzida por COX-2, seja essencial para a adequada expressão de BMP-2. Concordando com esta observação, Takiguchi *et al.* (1999) demonstraram que a PGE₂ aumenta a diferenciação osteoblástica mediada por BMP-2 em células humanas do ligamento periodontal. Adicionalmente, a enzima COX-2 parece ser necessária para ocorra a máxima osteogênese na presença de BMP-2 e a complementação de BMP-2 à COX-2, *in vitro*, suporta a possibilidade de que os eventos associados às BMPs possam ser dependentes de metabólitos da COX (Zhang *et al.*, 2002).

Deste modo, de acordo com os mecanismos discutidos, a COX-2 regula fatores de transcrição associados à osteogênese e controla a diferenciação osteoblástica. Portanto, a redução no processo osteoblastogênico pode ser uma hipótese para explicar os resultados obtidos no presente estudo.

A presente investigação demonstrou a influência negativa do uso crônico do meloxicam na formação óssea ao redor de implantes de titânio. No entanto, algumas considerações importantes devem ser feitas com relação às observações obtidas neste estudo.

O meloxicam tem sido descrito como um importante medicamento empregado no tratamento de osteoartrite e artite reumatóide e tem sido utilizado cronicamente para aliviar sintomas associados a estas doenças (Noble & Balfour, 1996; Lemmel *et al.*, 1997; Vidal *et al.*, 2001). Desta maneira, as observações obtidas neste estudo podem sugerir que em casos de pacientes que utilizam drogas inibidoras de COX-2 diariamente, por longos períodos, deve-se ter cautela no momento da escolha do tratamento protético reabilitador, sendo que alternativas convencionais, diferentes de próteses implanto-suportadas, devem ser cuidadosamente consideradas. Porém, no presente estudo, a administração do medicamento iniciou-se no dia da colocação dos implantes, não refletindo o cenário clínico de pacientes que fazem uso destas drogas cronicamente, os quais podem estar sendo previamente tratados com esta terapia medicamentosa há meses ou anos. Deste modo, há necessidade de estudos que avaliem o papel do uso do meloxicam previamente à colocação de implantes.

Adicionalmente, os AINES inibidores seletivos de COX-2 são também utilizados por períodos curtos de administração para o tratamento de dores e inflamações agudas e como medicação pós-operatória. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, não pode ser sugerido que a utilização de AINES inibidores de COX-2 deva ser evitada no período pós-operatório imediato em pacientes submetidos à colocação de implantes dentais, já que os dados apresentados neste estudo referem-se à administração diária do medicamento por um período extenso (60 dias). No entanto, Dekel *et al.* (1981) mostraram que altos níveis de PGs foram obtidos entre o terceiro e décimo quarto dia de reparo em fraturas de tíbias de ratos. De acordo com os mesmos autores, a expressão de COX-2 apresentou-se maior durante as duas primeiras semanas de reparo, demonstrando o papel desta enzima e de seus metabólitos durante os períodos iniciais do processo de reparo ósseo. Gerstenfeld *et al.* (2003) também mostraram que a produção de COX-2 apresentou picos de elevação durante os primeiros quatorze dias de reparo, retornando aos níveis basais após o vigésimo primeiro dia. Além disso, Ho *et al.* (1999) mostraram em cultura de osteoblastos de ratos

que a atividade de fosfatase alcalina e a síntese de colágeno tipo I, importantes componentes no processo de formação óssea, são estimuladas por PGE₂ nos dez primeiros dias do processo de osteogênese, mas não após o décimo quinto e vigésimo dia de formação óssea. Esses achados indicam que nas duas primeiras semanas de reparo a atividade osteogênica é mais intensa devido à elevada produção e atividade de COX-2, conseqüentemente, havendo maiores níveis de PGs, importantes no processo de formação óssea (Yazdi *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 2002). Confirmando essas observações, Gurgel *et al.* (2005) verificaram que o uso do meloxicam interferiu negativamente sobre o processo de reparo ósseo em defeitos confeccionados em calvárias de ratos, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre os animais que receberam a droga por 15 ou 45 dias. De acordo com os resultados, autores sugeriram que a utilização do meloxicam nos primeiros dias de reparo apresentou maior prejuízo sobre o processo de formação óssea, não exercendo efeitos negativos adicionais significantes no período subsequente. Considerando essas observações, é necessário ainda investigar se resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo seriam encontrados caso os animais recebessem meloxicam por períodos mais curtos de tempo, já que os primeiros dias de reparo parecem ser os mais importantes para adequada atividade osteogênica.

Adicionalmente, é ainda necessário estudar se melhores resultados seriam obtidos caso fossem utilizados implantes com superfície tratada. Os eventos iniciais no processo de reparo ósseo ao redor de implantes podem determinar a falha ou o sucesso dos mesmos e tais eventos podem ser afetados pelas propriedades da superfície dos implantes (Schwartz & Boyan, 1994). A rugosidade, energia de superfície e composição química inerentes à superfície dos mesmos podem influenciar a resposta celular na interface osso-implante e, portanto, afetar positivamente a taxa e qualidade de formação de tecido ósseo (Deligianni *et al.*, 2001). A modificação de superfícies de implantes por meio de inúmeras técnicas, tais como jateamentos de partículas, condicionamentos ácidos, combinação desses, entre outros, vem sendo investigada e estudos *in vitro* e *in*

vivo têm demonstrado resultados promissores com a utilização de implantes com diferentes tratamentos de superfície (Buser *et al.*, 1991; Wennerberg *et al.*, 1995).

Dentro deste contexto, estudos têm sugerido que as superfícies modificadas podem diminuir o tempo necessário para a colocação dos implantes em função (Roccuzzo *et al.*, 2001; Bornstein *et al.*, 2003) e que o tratamento superficial dos implantes pode melhorar o prognóstico para implantes inseridos em determinadas circunstâncias que promovem alterações, tanto locais quanto sistêmicas, como em áreas com tecido ósseo de menor densidade (Roccuzzo *et al.*, 2002), em regiões de reconstrução óssea e áreas de osso regenerado (Lima *et al.*, 2003; Casati, 2006), na presença de osso tipo IV (Lazzara *et al.*, 1999; Weng *et al.*, 2003), em portadores de diabetes (Morris *et al.*, 2000; Kumar *et al.*, 2002) e na presença do fumo (Morris *et al.*, 2000). Deste modo, uma vez que o presente estudo evidenciou que o uso crônico do meloxicam interfere negativamente sobre o processo de reparo ósseo, seria interessante que fosse investigado se um implante com superfície tratada melhoraria os resultados encontrados.

É importante ainda ressaltar que, no presente estudo, a mensuração da estabilidade do implante, importante parâmetro associado à avaliação da osseointegração, não foi realizada. Tal medida poderia determinar a integração do implante ou estimar o tempo para uma possível reabilitação ou ainda determinar o quanto a qualidade óssea do leito poderia influenciar nesta estabilidade (Morris *et al.*, 2003). Instrumentos como o Periotest® e a Análise da Frequência de Ressonância podem ser valiosos para se avaliar a estabilidade durante várias fases do tratamento, inclusive após a colocação de carga, por detectar mudanças no complexo osso-implante (Meredith *et al.*, 1997; Morris *et al.*, 2003). A avaliação da estabilidade não pode ser avaliada por meio de análises histológicas e histométricas, pois estas fornecem informações apenas da quantidade e qualidade óssea da região peri-implantar, além de utilizarem somente uma lâmina por animal. A avaliação da resistência à remoção por torque também seria uma informação importante para que fosse mensurado o grau de osseointegração ao redor do implante e o quanto o tratamento com meloxicam reduziu esses valores.

No entanto, a metodologia empregada no presente estudo não permitiria a sua utilização em razão da perda do implante após a aplicação do torque para a sua remoção, inviabilizando a avaliação histométrica.

Outro importante aspecto a ser considerado é que os implantes do presente estudo não receberam carga e, deste modo, não pode ser estimada a verdadeira implicação clínica da redução do reparo ósseo após os implantes receberem carga por um determinado período de tempo, mimetizando o que ocorre clinicamente.

Adicionalmente, há ainda necessidade da realização de mais estudos a fim de que seja investigado se um tempo maior de reparo antes da colocação de carga sobre os implantes poderia reduzir o efeito negativo do meloxicam sobre o processo de reparo ósseo, no caso de pacientes que utilizam tais medicamentos por longos períodos.

Além disso, deve-se ressaltar que o presente estudo utilizou um modelo animal para a realização da investigação proposta, bem como foi feito em prévios estudos que objetivaram avaliar a interferência de diversos fatores sobre o processo de osseointegração (Nociti *et al.*, 2002a; 2002b; 2002c; Duarte *et al.*, 2003a; 2003b). Apesar disso, tal modelo pode não mimetizar ou reproduzir os eventos que ocorrem em humanos e, deste modo, mais investigações devem ser consideradas para avaliar se os efeitos prejudiciais promovidos pelo meloxicam ao redor de implantes observados no presente estudo são clinicamente relevantes.

Deste modo, mais estudos são necessários para investigar a verdadeira relevância clínica da utilização crônica do meloxicam sobre o processo de reparo ósseo ao redor de implantes. Adicionalmente, estudos clínicos controlados longitudinais e randomizados em humanos são também necessários para que seja determinado se o uso em longo prazo de inibidores seletivos de COX-2 pode, de fato, representar um prejuízo para pacientes candidatos à reabilitação com implantes dentais.

7. CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, concluiu-se que a administração contínua de 3 mg/kg/dia de meloxicam influencia negativamente a formação óssea ao redor de implantes de titânio inseridos em tíbias de ratos, tanto no osso cortical quanto no osso medular.

REFERÊNCIAS*

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg.* 1981; 10(6): 387-416.
2. Akman S, Gogus A, Sener N, Bilgic B, Aksoy B, Seckin F. Effect of diclofenac sodium on union of tibial fractures in rats. *Adv Ther.* 2002; 19(3): 119-5.
3. Allen HL, Wase A, Bear WT. Indomethacin and aspirin: effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on the rate of fracture repair in the rat. *Acta Orthop Scand.* 1980; 51(4):595-600.
4. Altman RD, Latta LL, Keer R, Renfree K, Hornicek FJ, Banovac K. Effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on fracture healing: a laboratory study in rats. *J Orthop Trauma.* 1995; 9(5): 392-400.
5. Arikawa T, Omura K, Morita I. Regulation of bone morphogenetic protein-2 expression by endogenous prostaglandin E2 in human mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol.* 2004; 200(3):400-6.
6. August M, Chung K, Chang Y, Glowacki J. Influence of Estrogen Status on Endosseous Implant Osseointegration. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001; 59(11): 1285-9.
7. Bain CA, Moy PK. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. *Int J Oral Maxillofac Implant* 1993; 8: 609-15.
8. Balshi TJ, Wolfinger GJ. Management of the posterior maxilla in the compromised patient: historical, current, and future perspectives. *Periodontol* 2000. 2003; 33: 67-81.
9. Bergemdal B. Prosthetic habilitation of a young patient with hypohidrotic ectodermal dysplasia and oligodontia: a case report of 20 years of treatment. *Int J Prosthodont.* 2001; 14(5): 471-9.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

10. Bergenstock M, Min W, Simon AM, Sabatino C, O'Connor JP. A comparison between the effects of acetaminophen and celecoxib on bone fracture healing in rats. *J Orthop Trauma*. 2005; 19(10): 717-23.
11. Bezerra MM, de Lima V, Alencar VB, Vieira IB, Brito GA, Ribeiro RA, *et al*. Selective cyclooxygenase-2 inhibitor prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2000; 71(6): 1009-14.
12. Binon PP. Thirteen-year follow-up of a mandibular implant-supported fixed complete denture in a patient with Sjogren's syndrome: a clinical report. *J Prosthet Dent*. 2005; 94(5): 409-13.
13. Bornstein MM, Lussi A, Schmid B, Belser UC, Buser D. Early loading of nonsubmerged titanium implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: 3-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003; 18(5):659-66.
14. Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intraosseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1969; 3(2): 81-100.
15. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res*. 1991; 25(7): 889-902.
16. Casati MZ. Efeito do plasma rico em plaquetas na regeneração óssea guiada e do tratamento de superfície de implantes na terapia de defeitos ósseos periimplantares. Estudo histométrico em cães. [Tese de Livre Docência]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2006.
17. Celil AB, Campbell PG. BMP-2 and insulin-like growth factor-I mediate Osterix (Osx) expression in human mesenchymal stem cells via the MAPK and protein kinase D signaling pathways. *J Biol Chem*. 2005; 280(36): 31353-9.
18. César-Neto JB, Duarte PM, Sallum EA, Barbieri D, Moreno Jr. H, Nociti Jr. FH. A comparative study on the effect of nicotine administration and cigarette smoke

inhalation on bone healing around titanium implants. J Periodontol. 2003; 74(10): 1454-9.

19.César-Neto JB, Benatti BB, Sallum EA, Sallum AW, Nociti FHJr. Bone filling around titanium implants may benefit from smoking cessation: a histologic study in rats. J Periodontol. 2005; 76:1476-81.

20.Chakraborty I, Das SK, Wang J, Dey SK. Developmental expression of the cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. J Mol Endocrinol. 1996; 16(2): 107-22.

21.Chan CC, Boyce S, Brideau C, Charleson S, Cromlish W, Ethier D, *et al.* Rofecoxib [Vioxx, MK-0966; 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: a potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. Pharmacological and biochemical profiles. J Pharmacol Exp Ther. 1999; 290(2): 551-60.

22.Cheng SL, Shao JS, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA. MSX2 promotes osteogenesis and suppresses adipogenic differentiation of multipotent mesenchymal progenitors. J Biol Chem. 2003; 278(46): 45969-77.

23.Chu FC, Deng FL, Siu AS, Chow TW. Implant-tissue supported, magnet-retained mandibular overdenture for an edentulous patient with Parkinson's disease: a clinical report. J Prosthet Dent. 2004; 91(3): 219-22.

24.Colmaneti A, Pereira KF, Chopard RP. New bone formation in the female rabbit tibia. Bras Oral Res. 2004; 18(3): 224-7.

25.Dannhardt G, Kiefer W. Cyclooxygenase inhibitors--current status and future prospects. Eur J Med Chem. 2001; 36(2): 109-26.

26.Dao TT, Anderson JD, Zarb GA. Is osteoporosis a risk factor for osseointegration of dental implants? Int J Oral Maxillofac Implants. 1993; 8(2): 137-44.

27.de Andrade ED; Ranali J; Volpato, MC. Uso de medicamento na prevenção do controle e da dor. In: de Andrade ED, organizador. Terapêutica Medicamentosa em Odontologia. São Paulo; Editora Artes Médicas, Divisão Odontológica; 2000, p. 45-64.

28. de Bruyn H, Collaert B. The effect of smoking on early implant failure. Clin Oral Implants Res. 1994 ;5(4): 260-4.
29. Deligianni DD, Katsala N, Ladas S, Sotiropoulou D, Amedee J, Missirlis YF. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption. Biomaterials 2001; 22(11): 1241-51.
30. Dequeker J, Hawkey C, Kahan A, Steinbruck K, Alegre C, Baumelou E, *et al.* Improvement in gastrointestinal tolerability of the selective COX-2 inhibitor, meloxicam, compared with piroxicam: Results of the Safety and Efficacy Large Scale Evaluation of COX Inhibiting Therapies (SELECT) trial in osteoarthritis. Br J Rheumatol. 1998; 37(9): 946-1.
31. Dekel S, Lenthall G, Francis MJ. Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture. An experimental study in rabbits. J Bone Joint Surg Br. 1981; 63: 185-9.
32. Donath K, Breuner GA. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue. J Oral Pathol. 1982; 11: 318-6.
33. Duarte PM, César Neto JB, Gonçalves PF, Sallum EA, Nociti Jr., FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants. A histometric study in rats. Implant Dentistry. 2003a; 12: 340-5.
34. Duarte PM, César Neto JB, Sallum AW, Sallum EA, Nociti Jr., FH. Effect of estrogen and calcitonin therapies on bone density in a lateral area adjacent to implants in the tibiae of ovariectomized rats. J Periodontol. 2003b; 74(11): 1618-24.
35. Duarte PM, Gonçalves PF, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. Age-related and surgically induced estrogen deficiencies may differently affect bone around titanium implants in rats. J Periodontol. 2005; 76: 1496-501.
36. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. Cell 1997; 89: 747-54.
37. Duncan RL, Turner CH. Mechanotransduction and the functional response of bone to mechanical strain. Calcif Tissue Int. 1995; 57: 344-58.

38. Emery, P. Clinical implications of selective cyclooxygenase-2 inhibitor. *Scand J Rheumatol.* 1996; 102 Suppl 1: 23-8.
39. Endo K, Sairyo K, Komatsubara S, Sasa T, Egawa H, Ogawa T, *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibitor delays fracture healing in rats. *Acta Orthop.* 2005; 76(4): 470-4.
40. Engelhardt G, Homma D, Schlegel K, Utzman R, Schnitzler C. Antiinflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favorable gastrointestinal tolerance. *Inflamm Res.* 1995; 44: 423-33.
41. Engelhardt G, Bogel R, Schnitzer C, Utzmann R. Meloxicam: influence on arachidonic acid metabolism. Part 1. In vitro findings. *Biochem Pharmacol.* 1996a; 51(1): 21-8.
42. Engelhardt G, Bogel R, Schnitzler C, Utzmann R. Meloxicam: influence on arachidonic acid metabolism. Part II. In vivo findings. *Biochem Pharmacol.* 1996b; 51(1): 29-38.
43. Engesaeter LB, Sudmann B, Sudmann E. Fracture healing in rats inhibited by locally administered indomethacin. *Acta Orthop Scand.* 1992; 63(3): 330-3.
44. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological Factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II) Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci.* 1998; 106(3): 721-64.
45. Farzad P, Andersson L, Nyberg J. Dental implant treatment in diabetic patients. *Implant Dent.* 2002; 11(3): 262-7.
46. Feloutzis A, Lang NP, Tonetti MS, Bürgin W, Brägger U, Buser D, *et al.* IL-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population. *Clin. Oral Impl. Res.* 2003; 14: 10-17.
47. Fini M, Giavaresi G, Rimondini L, Giardino R. Titanium alloy osseointegration in cancellous and cortical bone of ovariectomized animals: Histomorphometric and bone hardness measurements. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002; 17(1): 28-37.

48. Fiorellini JP, Chen PK, Nevins M, Nevins ML. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. . Int J Periodontics Restorative Dent. 2000; 20(4): 366-73.
49. Forwood MR. Inducible cyclo-oxygenase (COX-2) mediates the induction of bone formation by mechanical loading in vivo. J Bone Miner Res 1996; 11:1688-93.
50. Friberg B, Jemt T, Lekholm U. Early failures in 4641 consecutively placed Branemark dental implants: a study from stage one surgery to the connection of the complete prostheses. Int J Oral and Maxillofac Implants. 1991; 6: 142-6.
51. Friberg B. Treatment with dental implants in patients with severe osteoporosis: A case report. Int J Periodontics Restorative Dent. 1994; 14(4): 348-53.
52. Fries JF, Williams CA, Bloch DA. The relative toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. Arthritis Rheum. 1991; 34(11): 1353-60.
53. Fujimoto T, Niimi A, Nakai H, Ueda M. Osseointegrated implants in a patient with osteoporosis: A case report. Int J Oral Maxillofac Implants. 1996; 11: 539-42.
54. Garavito RM, DeWitt DL. The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. Biochim Biophys Acta. 1999; 1441(2-3): 278-87.
55. Gerstenfeld LC, Thiede M, Seibert K, Mielke C, Phippard D, Svarg B, *et al.* Differential inhibition of fracture healing by non-selective and cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. J Orthop Res. 2003; 21(4):670-5.
56. Giannoudis PV, MacDonald D, Matthews SJ, Smith RM, Furlong J, De Bôer P. Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs. J Bone Joint Surg Br. 2001; 83(5): 655-8.
57. Gierse JK, Hauser SD, Creely DP, Koboldt C, Rangwala SH, Isakson PC. *et al.* Expression and selective inhibition of the constitutive and inducible forms of human cyclo-oxygenase. Biochem J. 1995; 305: 479-84.
58. Gibbs CH, Mahan PE, Mauderli A, Lundeen HC, Walsh EK. Limits of human bite strength. J Prosthet Dent. 1986; 56(2): 226-9.

59. Giordano V, Giordano M, Knackfuss IG, Apfel MI, Gomes RD. Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae. *Injury* 2003; 34(2): 85-94.
60. Goodman S, Ma T, Trindade M, Ikenoue T, Matsuura I, Wong N, *et al.* COX-2 selective NSAID decreases bone ingrowth in vivo. *J Orthop Res.* 2002; 20(6): 1164-9.
61. Gorman LM, Lambert PM, Morris HF, Ochi S, Winkler S. The effect of smoking on implant survival at second-stage surgery: DICRG Interim Report No. 5. Dental Implant Clinical Research Group. *Implant Dent.* 1994; 3(3): 165-8.
62. Gurgel BCV, Duarte PM, Nociti FH Jr, Sallum EA, Casati MZ, Sallum AW, *et al.* Impact of an anti-inflammatory therapy and its withdrawal on the progression of experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2004; 75(12): 1613-8.
63. Gurgel BCV, Ribeiro FV, Silva MAD, Nociti Junior FH, Sallum AW, Sallum EA, *et al.* Selective COX-2 inhibitor reduces bone healing in bone defects. *Pesqui Odontol Bras.* 2005; 19(4): 312-6.
64. Haas R, Haimbock W, Mailath G, Watzek G. The relationship of smoking on peri-implant tissue: a retrospective study. *J Prosthet Dent.* 1996; 76(6): 592-6.
65. Haas SE. Implant-supported, long-span fixed partial denture for a scleroderma patient: a clinical report. *J Prosthet Dent.* 2002; 87(2): 136-9.
66. Hagberg C. Assessment of bite force: a review. *J Craniomandib Disord.* 1987; 1(3): 162-9.
67. Hara T, Hayashi K, Nakashima Y, Kanemaru T, Iwamoto Y. The Effect of Hydroxyapatite coating on the bonding of bone to titanium implants in the femora of ovariectomised rats. *J Bone Joint Surg Br.* 1999; 81(4): 705-9.
68. Harada H, Tagashira S, Fujiwara M, Ogawa S, Katsumata T, Yamaguchi A, *et al.* Cbfa1 isoforms exert functional differences in osteoblast differentiation. *J Biol Chem* 1999; 274(11): 6972-8.
69. Hawkey C, Kahan A, Steinbruck K, Alegre C, Baumelou E, Be´gaud B, *et al.* Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared to diclofenac in osteoarthritis patients. *Br J Rheumatol.* 1998; 37(9): 937-45.

70. Heckmann SM, Heckmann JG, Weber HP. Clinical outcomes of three Parkinson's disease patients treated with mandibular implant overdentures. *Clin Oral Implants Res.* 2000; 11(6): 566-71.
71. Ho ML, Chang JK, Chuang LY, Hsu HK, Wang GJ. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandins on osteoblastic functions. *Biochem Pharmacol.* 1999; 58(6): 983-90.
72. Ho ML, Chang JK, Qang GJ. Antiinflammatory drug effects on bone repair and remodeling in rabbits. *Clin Orthop.* 1995 (313): 270-8.
73. Ho ML, Chang JK, Wang GJ. Effects of ketorolac on bone repair: A radiographic study in modeled demineralized bone matrix grafted rabbits. *Pharmacology.* 1998; 57(3): 148-59.
74. Hutton JE, Heath MR, Chai JY, Hutton JE, Heath MR, Chai JY, *et al.* Factors related to success and failure rates at 3-year follow-up in a multicenter study of overdentures supported by Branemark implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1995; 10(1): 33-42.
75. Jacobsson SA, Djerf K, Ivarsson I, Wahlstrom O. Effect of diclofenac on fixation of hydroxyapatite-coated implants. An experimental study. *J Bone Joint Surg Br* 1994; 76(5): 831-3.
76. Jadowiec J, Koch H, Zhang X, Campbell PG, Seyedain M, Sfeir C. Phosphoryn regulates the gene expression and differentiation of NIH3T3, MC3T3-E1, and human mesenchymal stem cells via the integrin/MAPK signaling pathway. *J Biol Chem.* 2004; 279(51): 53323-30.
77. Jaffin RA., Berman C L. The Excessive Loss of branemark fixtures in type IV bone: A 5-year analysis. *J Periodontol.* 1991; 62(1): 2-4.
78. Jeffcoat MK, Reddy MS, Wang IC, Meuninghoff LA, Farmer JB, Koth DL. The effect of systemic flurbiprofen on bone supporting dental implants. *J Am Dent Assoc.* 1995; 126(3): 305-11.
79. Jemt T, Johansson J. Implant treatment in the edentulous maxillae: a 15-year follow-up study on 76 consecutive patients provided with fixed prostheses. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2006; 8(2): 61-9.

80. Jones JD, Lupori J, Van Sickels JE, Gardner W. A 5-year comparison of hydroxyapatite-coated titanium plasma-sprayed and titanium plasma-sprayed cylinder dental implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999; 87(6): 649-52.
81. Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, Goodacre CJ. Effects of smoking on implant success in grafted maxillary sinuses. *J Prosthet Dent.* 1999; 82(3): 307-11.
82. Karoussis IK, Müller S, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJA, Brägger U, Lang NP. Association between periodontal and peri-implant conditions: a 10-year prospective study. *Clin Oral Impl Res.* 2004; 15(1): 1-7.
83. Katagiri T, Yamaguchi A, Komaki M, Abe E, Takahashi N, Ikeda T, *et al.* Bone morphogenetic protein-2 converts the differentiation pathway of C2C12 myoblasts into the osteoblast lineage. *J Cell Biol.* 1994; 127(6 Pt 1): 1755-66.
84. Kato M, Patel MS, Levasseur R, Lobov I, Chang BH, Glass DA 2nd, *et al.* Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol.* 2002; 157(2): 303-14.
85. Kawaguchi H, Pilbeam CC, Harrison JR, Raisz LG. The role of prostaglandins in the regulation of bone metabolism. *Clin Orthop Relat Res.* 1995; 313: 36-46.
86. Kearns G, Sharma A, Perrott D, Schmidt B, Kaban L, Vargervik K. Placement of endosseous implants in children and adolescents with hereditary ectodermal dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999; 88(1): 5-10.
87. Keller JC, Trancik TM, Young FA, St Mary E. Effects of indomethacin on bone ingrowth. *J Orthop Res.* 1989; 7(1): 28-34.
88. Keller J, Klammer A, Bak B, Suder P. Effect of local prostaglandin E2 on fracture callus in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 1993; 64(1): 59-63.
89. Klein-Nulend J, Burger EH, Semeins CM, Raisz LG, Pilbeam CC. Pulsating fluid flow stimulates prostaglandin release and inducible prostaglandin G/H synthase mRNA expression in primary mouse bone cells. *J Bone Miner Res.* 1997; 12(1): 45-51.

90. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, *et al.* Targeted disruption of *cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; 89(5): 755-64.
91. Kopman JA, Kim DM, Rahman SS, Arandia JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Modulating the effects of diabetes on osseointegration with aminoguanidine and doxycycline. *J Periodontol.* 2005; 76(4): 614-20.
92. Kumar A, Jaffin RA, Berman C. The effect of smoking on achieving osseointegration of surface-modified implants: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002; 17(6): 816-9.
93. Kwon PT, Rahman SS, Kim DM, Kopman JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Maintenance of osseointegration utilizing insulin therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol.* 2005; 76(4): 621-6.
94. Lambert PM, Morris HF, Ochi S. Positive effect of surgical experience with implants on second-stage implant survival. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55 (12 Suppl 5): 12-8.
95. Lambert PM, Morris HF, Ochi S. The influence of smoking on 3-year clinical success of osseointegrated dental implants. *Ann Periodontol.* 2000; 5: 79-89.
96. Lara PM. Os eicosanóides nos processos inflamatórios. In: Fascículo de atualização farmacológica da inflamação. Bios Comunicação e Editora Ltda, 1998.
97. Layton D, Hughes K, Harris S, Shakir SA. Comparison of the incidence rates of selected gastrointestinal events reported for patients prescribed celecoxib and meloxicam in general practice in England using prescription-event monitoring (PEM) data. *Rheumatology (Oxford).* 2003; 42(11):1332-41.
98. Lazzara RJ, Testori T, Trisi P, Porter SS, Weinstein RL. A human histological analysis of osseotites and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *Int J Periodontics and Restorative Dent.* 1999; 19: 117-29.
99. Lee MH, Kim YJ, Kim HJ, Park HD, Kang AR, Kyung HM, *et al.* BMP-2-induced Runx2 expression is mediated by Dlx5, and TGF-beta 1 opposes the BMP-2-induced osteoblast differentiation by suppression of Dlx5 expression. *J Biol Chem.* 2003a; 278:34387-94.

100. Lee MH, Kwon TG, Park HS, Wozney JM, Ryoo HM. BMP-2-induced Osterix expression is mediated by Dlx5 but is independent of Runx2. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003b; 309: 689-94.
101. Lee SH, Soyoola E, Chanmugam P, Hart S, Sun W, Zhong H, *et al.* Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J Biol Chem.* 1992; 267(36): 25934-8.
102. Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation in Branemark *et al.* (Eds) *Tissue integrated prosthesis: Osseointegration in clinical dentistry.* Quintessence, 1985: 109-199.
103. Lemmel EM, Bolten W, Burgos-Vargas R, Platt P, Nissila M, Sahlberg D, *et al.* Efficacy and safety of meloxicam in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 1997; 24(2): 282-90.
104. Lemons JE, Laskin DM, Roberts WE, Tarnow DP, Shipman CJr., Packzkowsky C. *et al.* Changes in patient screening for a clinical study of dental implants after increased awareness of tobacco use as risk factor. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55(12 Suppl 5): 72-75.
105. Leonelli SM, Goldberg BA, Safanda J, Bagwe MR, Sethuratnam S, King SJ. Effects of a cyclooxygenase-2 inhibitor (rofecoxib) on bone healing. *Am J Orthop.* 2006; 35(2): 79-84.
106. Lima AL, Fuchs-Wehrle AM, Lang NP, Hammerle CH, Liberti E, Pompeu E, *et al.* Surface characteristics of implants influence their bone integration after simultaneous placement of implant and GBR membrane. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14(6): 669-79.
107. Lindholm TS, Tornkvist H. Inhibitory effect on bone formation and calcification exerted by the anti-inflammatory drug ibuprofen. An experimental study on adult rat with fracture. *Scand J Rheumatol.* 1981; 10(1): 38-42.
108. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. Clinical results and marginal bone loss. *Clin Oral Implants Res.* 1996; 7(4): 329-36. Erratum in: *Clin Oral Implants Res.* 1997; 8(4): 342.

109. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. Association between marginal bone loss around osseointegrated mandibular implants and smoking habits: A 10-year follow-up study. *J Dent Res* 1997; 76: 1667-74.
110. Lugero GG, De Falco Caparbo V, Guzzo ML, Konig BJr., Jorgetti V. Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. *Implant Dent*. 2000; 9(4): 303-9.
111. Marnett L, Kalgatkakar AM. Cyclooxygenase 2 inhibitors: Discovery and the future. *Trends Pharmacol Sci*. 1999; 20(11): 465-9.
112. Martin GJ Jr, Boden SD, Titus L. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 overcomes the inhibitory effect of ketorolac, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), on posterolateral lumbar intertransverse process spine fusion. *Spine*. 1999; 24(21): 2188-93.
113. Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT, Hauser SD, Leahy KM, Smith WG, *et al*. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91(8): 3228-32.
114. Massagué J. The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol*. 1999; 6: 597-641.
115. Matthews SJ. Biological activity of bone morphogenetic proteins (BMP's). *Injury*. 2005; 36 Suppl 3: S34-7.
116. McCracken M, Lemons JE, Rahemtulla F, Prince CW, Feldman D. Bone response to titanium alloy implants placed in diabetic rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000; 15(3): 345-54.
117. McDermott NE, ChuangSK, Woo VV, Dodson TB. Complications of dental implants: identification, frequency, and associated risk factors. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003; 18(6): 848-55.
118. Meredith N, Book K, Friberg B, Jemt T, Sennerby L. Resonance frequency measurements of implant stability in vivo. A cross-sectional and longitudinal study of resonance frequency measurements on implants in the edentulous and partially dentate maxilla. *Clin Oral Implants Res*. 1997; 8(3): 226-33.

119. Merickse-Stern R, Aerni D, Geering AH, Buser D. Long-term evaluation of non-submerged hollow cylinder implants. Clinical and radiographic results. Clin Oral Implants Res. 2001; 12(3): 252-9.
120. Minsk L., Polson AM. Dental implant outcomes in postmenopausal women undergoing hormone replacement. Compend Contin Educ Dent. 1998; 19(9): 859-62.
121. Mitchell JÁ, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993; 90(24): 11693-7.
122. Mitchell JA, Evans TW. Cyclooxygenase-2 as a therapeutic target. Inflamm Res. 1998; 47 Suppl 2: S88-92.
123. Mombelli A, Cionca N. Systemic diseases affecting osseointegration therapy. Clin Oral Implants Res. 2006; 17 Suppl 2: 97-103.
124. Morham SG, Langenbach R, Loftin CD, Tiano HF, Vouloumanos N, Jennette JC *et al.* Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. Cell 1995; 83(3): 473-82.
125. Morris Hf, Manz MC, Tarolli JH. Success of multiple endosseous dental implant designs to second-stage surgery across study sites. J Oral Maxillofac Surg. 1997; 55(12 Suppl 5): 76-82.
126. Morris HF, Ochi S, Crum P, Orenstein I, Plezia R. Bone density: its influence on implant stability after uncovering. J Oral Implantol. 2003, 29(6): 263-9.
127. Morris HF, Ochi S, Winkler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes: placement to 36 months. Ann Periodontol. 2000; 5(1): 157-65.
128. Motohashi M, Shirota T, Tokugawa Y, Ohno K, Michi K, Yamaguchi A. Bone reactions around hydroxyapatite-coated implants in ovariectomized rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1999; 87(2): 145-52.
129. Moy PK, Medina D, Shetty V, Aghaloo TL. Dental implant failure rates and associated risk factors. Int J Oral Maxillofac Implants. 2005; 20(4): 569-77.

130. Naert I, Koutsikakis G, Duyck J, Quirynen M, Jacobs R, Van Steenberghe D. Biologic outcome of single-implant restorations as tooth replacements: A long-term follow-up study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2000; 2(4): 209-18.
131. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR, *et al*. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell* 2002; 108: 17-29.
132. Narai S., Nagahata S. Effects of alendronate on removal torque of implants in rats with induced osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003; 18(2): 218-23.
133. Needleman P, Turk J, Jakschik BA, Morrison AR, Lefkowitz JB. Arachidonic acid metabolism. *Annu Rev Biochem*. 1986; 55: 69-102.
134. Nevins ML, Karimbux NY, Weber HP, Giannobile WV, Fiorellini JP. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998; 13(5): 620-9.
135. Noble S, Balfour JA. Meloxicam: new drug profile. *Drugs* 1996; 51(3): 424-30.
136. Nociti Jr. FH, César Neto JB, Carvalho MD, Sallum EA. Bone density around titanium implants may be influenced by intermittent cigarette smoke inhalation: A histometric study in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002a; 17(3): 347-52.
137. Nociti Jr., FH, César Neto JB, Carvalho MD, Sallum EA, Sallum AW. Intermittent cigarette smoke inhalation may affect bone volume around titanium implants in rats. *J Periodontol*. 2002b; 73(9): 982-8.
138. Nociti Jr., FH, Sallum AW, Sallum EA, Duarte PM. Effect of estrogen replacement and calcitonin therapies on bone around titanium implants placed in ovariectomized rats: A Histometric Study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002c; 17: 786-92.
139. Norrdin RW, Shih MS. Systemic effects of prostaglandin E2 on vertebral trabecular remodeling in beagles used in a healing study. *Calcif Tissue Int*. 1988; 42(6): 363-8.
140. Obeid G, Zhang X, Wang X. Effect of ibuprofen on the healing and remodeling of bone and articular cartilage in the rabbit temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg*. 1992; 50(8): 843-9.

141. Oczakir C, Balmer S, Mericske-Stern R. Implant-prosthetic treatment for special care patients: a case series study. *Int J Prosthodont*. 2005; 18(5): 383-9.
142. Okada Y, Lorenzo JA, Freeman AM. Prostaglandin G/H synthase-2 is required for maximal formation of osteoclast-like cells in culture. *J Clin Invest*. 2000; 105(6): 823-32.
143. O'Sullivan MG, Huggins EM Jr, Meade EA, DeWitt DL, McCall CE. Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 in alveolar macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992; 187(2): 1123-7.
144. Pairet M, van Ryn H, Schierok H, Mauz A, Trummlitz G, Engelhardt G. Differential inhibition of cyclooxygenase-1 and -2 by meloxicam and 49-isomer. *Inflamm Res*. 1998; 47(6):270-6.
145. Pan J, Shiota T, Ohno K, Michi K. Effect of ovariectomy on bone remodeling adjacent to hydroxyapatite-coated implants in the tibia of mature rats. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000; 58(8): 877-82.
146. Paralkar VM, Grasser WA, Mansolf AL, Baumann AP, Owen TA, Smock SL, *et al*. Regulation of BMP-7 expression by retinoic acid and prostaglandin E(2). *J Cell Physiol*. 2002; 190(2): 207-17.
147. Patrignani P, Panara MR, Sciulli MG, Santini G, Renda G, Patrono C. Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Physiol Pharmacol*. 1997; 48(4): 623-31.
148. Payne JB, Reinhardt RA, Nummikoski PV, Dunning DG, Patil KD. The association of cigarette smoking with alveolar bone loss in postmenopausal females. *J Clin Periodontol*. 2000; 27(9): 658-64.
149. Penning TD, Talley JJ, Bertenshaw SR, Carter JS, Collins PW, Docter S, *et al*. Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib). *J Med Chem*. 1997; 40(9): 1347-65.

150. Pilbeam CC, Fall PM, Alander CB, Raisz LG. Differential effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on constitutive and inducible prostaglandin G/H synthase in cultured bone cells. *J Bone Miner Res.* 1997; 12(8): 1198-203.
151. Qi M-C, Hu ZJ, Du ZJ, Yang JH, Liu M, Li XM. Oestrogen replacement therapy promotes bone healing around dental implants in osteoporotic rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 33: 279-85.
152. Rapuri PB, Gallacher JC, Balhorn KE, Ryschon KL. Smoking and bone metabolism in elderly women. *Bone* 2000; 27(3): 429-36.
153. Reddy MS, Jeffcoat MK, Richardson RC. Assessment of adjunctive flurbiprofen therapy in root-form implant healing with digital subtraction radiography. *Journal Oral Implantol.* 1990; 16(4): 272-6.
154. Riendeau D, Percival MD, Boyce S, Briedeau C, Charleson S, Cromlish W, *et al.* Biochemical and pharmacological profile of a tetrasubstituted furanone as a highly selective COX-2 inhibitor. *Br J Pharmacol.* 1997; 121: 105–17.
155. Roccuzzo M, Bunino M, Prioglio F, Bianchi SD. Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: a prospective split-mouth comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12(6): 572-8.
156. Roccuzzo M, Wilson TG. A prospective study evaluating a protocol for 6 weeks' loading of SLA implants in the posterior maxilla. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13(5): 502-7.
157. Salvi GE, Williams RC, Offenbacher S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as adjuncts in the management of periodontal diseases and peri-implantitis. *Curr Opin Periodontol.* 1997; 4: 51-8.
158. Sato Y, Arai N, Negishi A, Ohya K. Expression of cyclooxygenase genes and involvement of endogenous prostaglandin during osteogenesis in the rat tibial bone marrow cavity. *J Med Dent Sci.* 1997; 44(4): 81-92.
159. Schwartz Z, Boyan BD. Underlying mechanisms at the bone biomaterial interface. *J Cell Biochem.* 1994; 56(3): 340-7.

160. Schwartz JI, Chan CC, Mukhopadhyay S, McBride KJ, Jones TM, Adcock S, *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibition by rofecoxib reverses naturally occurring fever in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1999; 65(6): 653-60.
161. Schwartz Z, Goultschin J, Dean DD, Boyan B. Mechanisms of alveolar bone destruction in periodontitis. *Periodontology* 2000. 1997; 14: 158-72.
162. Schwartz Z, Nasazky E, Boyan BD. Surface microtopography regulates osteointegration: the role of implant surface microtopography in osteointegration. *Alpha Omegan.* 2005; 98(2): 9-19.
163. Seymour RA, Heasman PA. Drugs and the periodontium. *J Clin Periodontol.* 1988; 15(1): 1-16.
164. Simon AM, Manigrasso MB, O' Connor JP. Cyclooxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *J Bone Miner Res.* 2002; 17(6): 977-8.
165. Suponitzky I, Weinreb M. Differential effects of systemic prostaglandin E2 on bone mass in rat long bones and calvariae. *J Endocrinol.* 1998; 156(1): 51-7.
166. Takiguchi T, Kobayashi M, Nagashima C, Yamaguchi A, Nishihara T, Hasegawa K. Effect of prostaglandin E2 on recombinant human bone morphogenetic protein-2-stimulated osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 1999; 34(7): 431-6.
167. Talley JJ, Brown DL, Carter JS, Graneto MJ, Koboldt CM, Masferrer JL, *et al.* 4-[5-Methyl-3-phenylisoxazol-4-yl]- benzenesulfonamide, valdecoxib: a potent and selective inhibitor of COX-2. *J Med Chem.* 2000 ;43(5): 775-7.
168. Turck D, Roth W, Busch U. A review of the clinical pharmacokinetics of meloxicam. *Br J Rheumatol.* 1996; 35 Suppl 1: 13-6.
169. Van Steenberghe D, Quirynen M, Molly L, Jacobs R. Impact of systemic diseases and medication on osseointegration. *Periodontol* 2000. 2003; 33: 163-71.
170. Van Steenberghe D, Jacobs R, Desnyder M, Maffei G, Quirynen M. The relative impact of local and endogenous patient-related factors on implant failure up to the abutment stage. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13(6): 617-22.
171. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998; 38: 97-120.

172. Vane JR, Botting RM. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res*. 1995; 44: 1-10.
173. Vehemente VA, Chuang SK, Daher S, Muftu A, Dodson TB. Risk factors affecting dental implant survival. *J Oral Implantol*. 2002; 28(2): 74-81.
174. Vidal L, Kneer W, Baturone M, Sigmund R. Meloxicam in acute episodes of soft-tissue rheumatism of the shoulder. *Inflamm Res*. 2001; 50 Suppl 1: S24-9.
175. Xie WL, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991; 88(7): 2692-6.
176. Wadleigh DJ, Herschman HR. Transcriptional regulation of the cyclooxygenase-2 gene by diverse ligands in murine osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999; 264(3): 865-70.
177. Wallace RH. The relationship between cigarette smoking and dental implant failure. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 2000; 8(3): 103-6.
178. Weinreb M, Suponitzky I, Keila S. Systemic administration of an anabolic dose of PGE2 in young rats increases the osteogenic capacity of bone marrow. *Bone* 1997; 20(6): 521-6.
179. Weissmann G. The eicosanoids of asthma. *N Engl J Med*. 1983; 308(8): 454-6.
180. Weng D, Hoffmeyer M, Hürzeler MB, Richter E-J. The Osseotite vs. machined surface in poor bone quality. A study in dogs. *Clin Oral Implant Res*. 2003; 14(6): 703-8.
181. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Krol JJ. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res*. 1995; 6(1): 24-30.
182. Whittle BJ, Vane JR. A biochemical basis for the gastrointestinal toxicity of non-steroid antirheumatoid drugs. *Arch Toxicol Suppl*. 1984; 7: 315-22.
183. Yagi K, Tsuji K, Nifuji A, Shinomiya K, Nakashima K, DeCrombrughe B, *et al*. Bone morphogenetic protein-2 enhances osterix gene expression in chondrocytes. *J Cell Biochem*. 2003; 88(6): 1077-83.

184. Yamaguchi A, Komori T, Suda T. Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. *Endocr Rev.* 2000; 21(4): 393-411.
185. Yamaguchi A, Ishizuya T, Kintou N, Wada Y, Katagiri T, Wozney JM, *et al.* Effects of BMP-2, BMP-4, and BMP-6 on osteoblastic differentiation of bone marrow-derived stromal cell lines, ST2 and MC3T3-G2/PA6. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 220(2): 366-71.
186. Yamazaki M, Shirota T, Tokugawa Y, Motohashi M, Ohno K, Michi K, *et al.* Bone reactions to titanium screw implants in ovariectomized animals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999; 87(4): 411-8.
187. Yang S, Wei D, Wang D, Phimpilai M, Krebsbach PH, Franceschi RT. In vitro and in vivo synergistic interactions between the Runx2/Cbfa1 transcription factor and bone morphogenetic protein-2 in stimulating osteoblast differentiation. *J Bone Miner Res.* 2003; 18(4): 705-15.
188. Yazdi M, Cheung DT, Cobble S, Nimni ME, Schonfeld SE. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on demineralized bone-induced bone formation. *J Periodont Res.* 1992; 27(1): 28-33.
189. Zarb GA, Schmitt A. The longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated dental implants: the Toronto study. Part I: Surgical results. *J Prosthet Dent.* 1990; 63(4):451-7.
190. Zhang X, Schqarz EM, Young DA, Puzas JE, Rosier RN, O'Keefe RJ. Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *J Clin Invest.* 2002; 109: 1405-15.

Anexos
Anexo 1



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 762-1, sobre "EFEITO DO MELOXICAM SOBRE O REPARO ÓSSEO AO REDOR DE IMPLANTES DE TITÂNIO" sob a responsabilidade de Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati / Fernanda Vieira Ribeiro está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 17 de fevereiro de 2005.

C E R T I F I C A T E

We certify that the protocol nº 762-1, entitled "EFFECT OF MELOXICAM ON BONE REPAIR AROUND TITANIUM IMPLANTS", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on February 17, 2005.

Campinas, 17 de fevereiro de 2005.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP