



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



CECÍLIA LUIZ PEREIRA

Cirurgiã-Dentista

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA
INTENSIDADE SOBRE O REPARO ÓSSEO AO REDOR DE
IMPLANTES DE TITÂNIO INSTALADOS SOBRE ÁREAS
TRATADAS OU NÃO COM UM SUBSTITUTO ÓSSEO:
ANÁLISE HISTOMÉTRICA EM COELHOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais.

Piracicaba – SP

2006

CECÍLIA LUIZ PEREIRA

Cirurgiã-Dentista

**INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA
INTENSIDADE SOBRE O REPARO ÓSSEO AO REDOR DE
IMPLANTES DE TITÂNIO INSTALADOS SOBRE ÁREAS
TRATADAS OU NÃO COM UM SUBSTITUTO ÓSSEO:
ANÁLISE HISTOMÉTRICA EM COELHOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais.

Orientador: Prof. Dr. Roger William Fernandes Moreira

Banca Examinadora: Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa

Prof. Dr. Paulo Roberto Muller

Prof. Dr. Roger William Fernandes Moreira

Piracicaba – SP

2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

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

P414i Pereira, Cecília Luiz.
Influência da radiação laser de baixa intensidade sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio instalados sobre áreas tratadas ou não com um substituto ósseo: análise histométrica em coelhos. / Cecília Luiz Pereira. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2006.

Orientador: Roger William Fernandes Moreira
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Lasers. 2. Fosfato de cálcio. 3. Implantes dentários.
I. Moreira, Roger William Fernandes. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

Título em inglês: Influence of low level laser irradiation on bone repair around titanium implants placed in areas treated or not with a bone substitute: histometric analysis in rabbits

Palavras-chave em inglês (Keywords): 1. Lasers. 2. Calcium phosphate. 3. Dental implants

Área de concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca examinadora: Roger William Fernandes Moreira, José Ricardo de Albergaria- Barbosa, Paulo Roberto Muller

Data da defesa: 21/02/2006



UNICAMP

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 21 de Fevereiro de 2006, considerou a candidata CECÍLIA LUIZ PEREIRA aprovada.

PROF. DR. ROGER WILLIAM FERNANDES MOREIRA

PROF. DR. PAULO ROBERTO MÜLLER

PROF. DR. JOSE RICARDO DE ALBERGARIA BARBOSA

200609441

Dedicatória

A meus pais, Léo e Elci, cujo exemplo de simplicidade e integridade me ilumina e cujo amor e apoio incondicionais servem de base para meu caminhar.

A meus irmãos Léo Filho e Mauro, pelo amor e amizade que nos une.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas**, na pessoa do diretor dessa Unidade, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho, pelas condições oferecidas para desenvolvimento deste trabalho.

À **Coordenadoria de Pós-graduação e ao curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica**, representados pelos coordenadores, Professores Pedro Luiz Rosalen e Roger William Fernandes Moreira, pelo estímulo à busca pela excelência na Pós-graduação nesta Instituição.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – Ministério da Educação)**, pela concessão da bolsa de Mestrado durante o ano de 2005.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Roger William Fernandes Moreira**, cuja incansável vontade de ensinar serve de modelo a todos nós. Por seu apoio, incentivo e participação a cada passo deste trabalho e de meu curso de mestrado, agradeço imensamente.

Ao **Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa**, pelos ensinamentos transmitidos e pela convivência agradável durante todo o curso.

Ao **Prof. Dr. Luis Augusto Passeri**, pela transmissão de valiosos ensinamentos durante o curso, além de seu constante testemunho de conhecimento e prática profissional, estimulando sempre a melhoria do grupo.

Ao **Prof. Dr. Márcio de Moraes**, cuja competência profissional e vocação docente

são complementadas pela amizade e respeito incondicional que dedica a seus alunos, colegas e pacientes.

Ao **Prof. Renato Mazzonetto**, pela transmissão de conhecimentos ao longo do curso.

Ao **Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior** e demais professores e funcionários da área de Periodontia, em especial à funcionária Mariana, pela inestimável ajuda no processamento e análise das amostras deste estudo.

Às **empresas Stryker-Leibinger, Conexão e ProLine**, pela cessão de materiais utilizados na pesquisa.

À colega **Tatiana Meulman** e ao **Prof. Dr. João Batista César Neto**, da área de Periodontia, pela colaboração na análise histométrica.

À **Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano**, pela colaboração na análise estatística deste trabalho.

Aos **Profs. Drs. Brenda P. F. de Almeida Gomes, João Batista César Neto e Renato Mazzonetto**, pelas importantes contribuições feitas no exame de qualificação.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)**, na pessoa da diretora Profa. Ângela Nunes e a todos os docentes e funcionários dessa Unidade, pelas oportunidades a mim oferecidas durante o curso de graduação. Minha gratidão especial ao meu orientador de iniciação científica, **Prof. Dr. Flávio Fernando Demarco**, e à minha tutora no grupo PET, **Profa. Dra. Ana Regina Romano**, pela confiança, estímulo, apoio e exemplo incondicionais.

Aos professores do departamento de Cirurgia, Traumatologia e Prótese Buco-maxilo-faciais da UFPel, em especial aos Profs. Drs. Marcos Antonio Torriani e Mario Sérgio Medeiros Pires, pela orientação e estímulo no primeiro contato com a especialidade.

À futura colega, **Samantha B. Cavalcanti**, aluna de graduação e bolsista de Iniciação Científica, pela ajuda e companheirismo ao longo do estudo.

Aos **colegas e amigos que participaram das cirurgias experimentais**: Alexander Sverzut, Aníbal Luna, Bento Stang, Eduardo Serena, Fabiana Seguin, Glaykon Stabile, Greison Oliveira, Joel Motta Jr., Rafael Vitti, Renato Sawasaki, Samantha Cavalcanti e Tatiana Lovato. Meu agradecimento especial pela ajuda e disponibilidade.

Ao **Dr. Orlando Paredes e equipe** da Clínica Veterinária Toca dos Bichos pela consultoria no manejo, medicação e acompanhamento dos animais.

Aos **meus colegas de turma**, Alexander Sverzut, Glaykon Stabile e Greison Oliveira, que ao longo do curso e de nossa convivência tornaram-se como irmãos para mim. Sua amizade, carinho, apoio e incentivo são muito importantes em minha caminhada, e sua ajuda no desenvolvimento deste estudo foi muito valiosa. Agradeço a vocês por tudo!

Aos meus **amigos do doutorado**, Aníbal Henrique Luna, Bernardo Brasileiro, Delson Costa, Fabrício Serra e Silva e Gustavo Farah, pela ajuda, paciência, pelo aprendizado que tive e tenho com vocês e pela amizade que compartilhamos.

Aos **amigos do Mestrado I**, Bento Stang, Eduardo Serena, Leandro Klüppel e Renato Sawasaki, pela amizade, companheirismo e pela oportunidade de

aprendermos juntos no período que aqui passamos.

Aos **amigos egressos**, André Cortez, Luciana Asprino e Petrus Gomes, pelo aprendizado que tive com vocês em meu primeiro ano de mestrado e pela amizade e carinho com que me trataram.

Às funcionárias do Centro Cirúrgico da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp, **Edilaine Cristina Mendes Felipe (Didi)**, **Daiana Tonin** e **Sueli Cristina Scarassatti da Cruz**, assim como à estagiária Cristiane Jóia, sem as quais nossas atividades clínicas não seriam possíveis.

A meus familiares distantes, especialmente minha tia Rejane Mussi, minha “segunda mãe”, e meu avô Dirceu Pereira (*in memoriam*), do qual a distância impediu minha despedida.

Aos pacientes, nossos grandes mestres, que confiam sua saúde em nossas mãos e são o objetivo final de todos os estudos.

Finalmente, agradeço a **meu namorado Aníbal Henrique Luna**. Seu amor faz com que a distância da família e de casa pareça menor, com que o cansaço diminua, com que os momentos tristes passem mais rápido e que as alegrias sejam mais especiais. Obrigada por tudo!

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	3
1. Introdução	5
2. Revisão de literatura	9
2.1 Tecido ósseo e reparo	9
2.2 Substitutos ósseos	11
2.3 Laser de baixa intensidade	15
3. Proposição	21
4. Material e métodos	22
4.1 Parecer da comissão de ética	22
4.2 Seleção e manutenção dos animais	22
4.3 Primeira fase cirúrgica	22
4.4 Segunda fase cirúrgica	25
4.5 Aplicação do laser de baixa intensidade	28
4.6 Sacrifício dos animais	30
4.7 Preparo histológico e análise histométrica	30
4.8 Análise estatística	34
5. Resultados	35
5.1 Contato ósseo direto entre osso e implante (CO)	35
5.2 Área de tecido ósseo dentro dos limites das roscas (AO)	36
6. Discussão	40
7. Conclusões	45
8. Referências	46
Anexos	52

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar histometricamente a influência do uso de um laser de baixa intensidade e de um cimento de fosfato de cálcio sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio instalados em tíbias de coelhos. Para tanto, foram utilizados 12 coelhos adultos nos quais foram preparados dois defeitos de diâmetro 3,7 mm em cada tibia. Os defeitos distais foram preenchidos com o cimento de fosfato de cálcio BoneSource¹ e os defeitos proximais não receberam tratamento. Todos os defeitos foram cobertos por membranas de colágeno absorvível ProTape². Após 6 semanas, as áreas de todos os defeitos receberam implantes de titânio. Os implantes colocados nas tíbias direitas foram então submetidos a aplicações de laser de baixa intensidade, de meio ativo GaAIs, a cada 48h do 1.º ao 13.º dia pós-operatórios, totalizando 7 sessões, enquanto que as tíbias esquerdas não receberam aplicações de laser. Após 3 e 6 semanas, foram feitos os sacrifícios (6 animais por período), e cortes não-descalcificados foram obtidos e analisados com relação ao contato direto entre osso e implante (CO) e à área de osso no interior das roscas (AO). Os resultados obtidos foram tabulados e analisados estatisticamente usando ANOVA e teste de Tukey. Para o CO apresentou um aumento significativo nos grupos laser, comparado com os grupos sem laser, nos tempos de 3 e 6 semanas ($p < 0,003$). As médias de CO foram estatisticamente semelhantes entre os grupos com e sem material, nos tempos de 3 e 6 semanas. O CO não apresentou aumento estatisticamente significativo com o tempo, comparando-se os grupos de 3 e 6 semanas. Considerando-se AO, as médias foram estatisticamente semelhantes entre os grupos com e sem material e com e sem laser, nos tempos de 3 e 6 semanas. A AO apresentou aumento estatisticamente significativo com o tempo, comparando-se os grupos de 3 e 6 semanas, independentemente do uso de laser e material ($p < 0,0001$). Não houve interação significativa entre os fatores material e laser para ambos CO e AO. Baseado nos resultados obtidos, e dentro das limitações deste estudo, conclui-se que: (1) o laser de baixa intensidade melhorou o contato

osso-implante em tíbias de coelho; (2) o material aloplástico testado proporcionou reparo ósseo ao redor dos implantes semelhante ao obtido com o coágulo.

Palavras-chave: fosfato de cálcio; lasers; implantes dentários.

¹ Stryker Co, Kalamazoo, Michigan, EUA

² Proline Biomédica, São Carlos, SP, Brasil

ABSTRACT

This study aimed to evaluate histometrically the influence of a calcium phosphate cement and a low intensity laser on bone repair around titanium implants placed in rabbit tibiae. Twelve adult rabbits were used, and two bone defects of 3.7 mm diameter were prepared in each tibia. The two distal defects were filled with BoneSource¹ calcium phosphate cement and the proximal defects did not receive any material. All defects were covered with ProTape² collagen membranes. After six weeks, the areas of all defects received titanium implants. The implants placed in the right tibiae were subjected to low intensity laser therapy (LILT) with a GaAlAs diode laser every 48h from the 1st to the 13th day postoperatively. After 3 or 6 weeks, the animals were sacrificed (6 animals per period), non-decalcified sections were obtained and analyzed for bone-to-implant contact (CO) and bone area within the implant threads (AO). The results were tabulated and analyzed statistically using ANOVA and Tukey's test. For CO, the means were statistically similar between groups with and without the material, in the periods of 3 and 6 weeks. CO presented significant increase in the laser irradiated groups, when compared with non-treated groups, in both 3 and 6 weeks periods ($p < 0.003$). CO did not increase significantly with time, when 3 and 6 weeks periods were compared. Considering AO, the means were statistically similar among groups with and without material and with and without laser, in both 3 and 6 weeks periods. The AO presented significant increase with time, when comparing 3 and 6 weeks groups, regardless the use of laser or material ($p < 0.0001$). There was no significant interaction between material and laser for both CO and AO. Based on the results, and considering the limitations of the study, it can be concluded that: (1) low intensity laser improved bone-to-implant contact in rabbit tibiae; (2) the alloplastic material promoted similar peri-implant bone repair when compared to blood cloth.

Keywords: calcium phosphate; lasers; dental implants.

¹ Stryker Co, Kalamazoo, Michigan, EUA.

² Proline Biomédica, São Carlos, SP, Brasil

1. INTRODUÇÃO

Com o objetivo de reabilitar os pacientes que apresentam perdas dentárias, tem-se ao longo do tempo buscado desenvolver materiais e técnicas que permitam recuperar satisfatoriamente a estética e a função. As próteses dentais convencionais, usadas há mais de dois séculos, apresentam como desvantagens desgaste de tecido dentário dos dentes adjacentes, cobertura dos tecidos moles com componentes do aparelho protético, dificuldade de higienização, desconforto e mesmo prejuízos psicológicos ao paciente. Como uma alternativa às próteses convencionais, os implantes dentários foram desenvolvidos e têm sido utilizados com sucesso há mais de 40 anos. Dentre as primeiras tentativas de uso de implantes orais, figuram os implantes metálicos subperiostais e laminares. No entanto, nenhum desses implantes atingia uma ligação com o tecido ósseo ou mesmo um nível de compatibilidade biológica que permitissem resultados satisfatórios por períodos longos (Lindhe, 1997).

Em 1969, Brånemark *et al.* iniciaram a divulgação dos resultados de seus estudos de ancoragem óssea de próteses utilizando implantes de titânio, inicialmente realizados em cães, os quais constituíram a base científica para a compreensão do processo de osseointegração. Em 1977, publicaram um estudo documentando o uso dos implantes osseointegráveis em pacientes. Observava-se então que era possível a conexão direta entre o osso e a superfície do implante quando submetido à carga funcional. Esse conhecimento deu início a uma nova fase da Odontologia, na qual vários trabalhos têm buscado definir parâmetros mais eficazes para o uso dos implantes osseointegráveis.

Dentre os fatores determinantes para a possibilidade da reabilitação com implantes, estão a qualidade e a quantidade óssea do sítio a ser reabilitado. Além da reabsorção fisiológica ocorrida após as perdas dentárias, outros fatores tais como trauma, anomalias de desenvolvimento, ressecção oncológica, infecção e processos patológicos podem levar a defeitos no arcabouço ósseo, e quando diagnosticada tal deficiência, os procedimentos reconstrutivos estão indicados

(Moghadam *et al.*, 2004). Dentre os materiais utilizados, encontram-se os enxertos autógenos, homogêneos e heterogêneos, além dos materiais aloplásticos (Henry *et al.*, 1997).

Os enxertos autógenos são considerados a primeira escolha para reconstrução óssea devido às vantagens biológicas que apresentam, como a alta biocompatibilidade, por serem retirados do próprio indivíduo, e suas comprovadas propriedades de osteocondução, osteoindução e osteogênese (Becker *et al.*, 1995). No entanto, necessitam de intervenção em um sítio doador causando maior morbidade ao paciente, freqüentemente implicam em aumento de custo e tempo operatórios e ainda apresentam graus variados de reabsorção ao longo do tempo (LeGeros, 2002; Gosain, 2005). Assim sendo, alternativas reconstrutivas têm sido buscadas.

Os enxertos homogêneos, ou seja, osso de doador da mesma espécie que a do indivíduo receptor, são geralmente adquiridos em bancos de osso cadavérico humano e apresentam como desvantagens sua difícil obtenção, altos custos, além de risco de transmissão viral e imunogenicidade. Os enxertos heterogêneos por sua vez, dentre os quais destacam-se os de origem bovina, são materiais amplamente comercializados, mas que também apresentam possível risco de reações imunogênicas e diferentes índices de reabsorção do enxerto (Moghadam *et al.*, 2004).

Assim sendo, substitutos ósseos com propriedades adequadas e sem as desvantagens dos enxertos têm sido buscados através de diversos estudos. Dentre os materiais testados estão os metais, polímeros, corais, fosfato de cálcio de origem natural ou sintética, vidros bioativos e associações. Dentre esses, o grupo do fosfato de cálcio é o que apresenta mais semelhança com as propriedades e composição do componente mineral ósseo. Nesse grupo encontram-se os cimentos de fosfato de cálcio (LeGeros, 2002), que têm sido amplamente estudados na área de saúde para o reparo de defeitos ósseos, especialmente nas áreas de neurocirurgia, ortopedia, cirurgia plástica e, menos comumente, na odontologia (Shimazaki & Mooney, 1985; Burr *et al.*, 1993; Lu *et*

al., 1997; Dickson *et al.*, 2002; LeGeros, 2002; Peltola *et al.*, 2003; Cancian *et al.*, 2004; Magee *et al.*, 2004). Tendo em vista que a deficiência óssea impossibilitando a instalação de implantes é um quadro freqüente, e que sua correção está dentre os procedimentos reconstrutivos mais realizados em cirurgia buco-maxilo-facial, a literatura ainda carece de estudos avaliando histometricamente o uso desses cimentos com posterior instalação de implantes de titânio.

Estima-se que os implantes dentais atinjam atualmente taxas de sucesso próximas de 95%. Os trabalhos de Albrektsson *et al.* (1988) e Adell *et al.* (1990), confirmaram esses altos índices de sucesso a longo prazo com a utilização de implantes osseointegráveis no tratamento de pacientes totalmente edêntulos. No entanto, falhas no tratamento com implantes continuam a existir, especialmente em áreas de pobre qualidade ou quantidade óssea, como por exemplo a região posterior da maxila em muitos pacientes. Mordenfeld *et al.* em 2004 publicaram estudo retrospectivo avaliando 52 pacientes reabilitados com 78 implantes em regiões posteriores, e acharam uma taxa de sobrevivência de 78,3% na maxila e 94,5% nos implantes que foram instalados na mandíbula. Assim sendo, técnicas que beneficiem o processo de reparo após a instalação de implantes têm sido buscadas, especialmente visando um melhor prognóstico em áreas cujas características ósseas não sejam ideais. Uma aceleração no processo de osseointegração também traria benefícios ao permitir que se submetesse o implante a carga em um período menor, reduzindo o tempo de tratamento. Dentre as técnicas atualmente discutidas para favorecimento do reparo ósseo e, conseqüentemente, da osseointegração está a laserterapia de baixa intensidade, também conhecida pela nomenclatura em língua inglesa LILT (*low intensity laser therapy*), LLLT (*low level laser therapy*) ou LPL (*low power laser*).

O laser terapêutico de baixa intensidade tem sido preconizado como um estimulador do reparo tecidual. Diversos trabalhos investigando suas propriedades têm sido publicados desde o advento do laser, em meados da década de 60. Dentre as utilidades clínicas desta técnica, têm sido relatado sucesso em

diferentes situações, tais como lesões em tecidos moles bucais como aftas, herpes simples e mucosites (Wong & Wilder-Smith, 2002), pós-operatório imediato em cirurgia oral menor (Myers & McDaniel, 1991) e mesmo no reparo pulpar quando do tratamento conservador da polpa (Jayawardena *et al.*, 2001). Esse recurso terapêutico também tem sido recomendado como um estimulador do reparo ósseo e da osseointegração, o que indicaria seu uso quando da colocação de implantes (Guzzardella *et al.*, 2003).

Dentre os benefícios atribuídos ao laser de baixa intensidade em implantes estão a aceleração do processo de reparo, diminuição de dor e edema pós-operatórios e potencial bactericida (Shibli *et al.*, 2003). Dortbudak *et al.* (2000) obtiveram um efeito de estimulação celular quando aplicando o laser diretamente sobre osteoblastos *in vitro*. Pinheiro *et al.* (2003) demonstraram efeitos positivos usando laser de baixa intensidade em regiões receptoras de diferentes tipos de enxerto, com e sem o uso de membranas. Arnabat-Dominguez *et al.* (2003) obtiveram bons resultados usando o laser de érbio (Er-YAG) em estudo piloto com 20 pacientes que haviam recebido implantes. Guzzardella *et al.* (2003) demonstraram melhor osseointegração com o uso de laserterapia pós-operatória em implantes cerâmicos. No entanto, poucos estudos comparativos estão disponíveis na literatura avaliando através de histometria a osseointegração de implantes de titânio submetidos a laserterapia, especialmente quando utilizados sobre área previamente tratada com substitutos ósseos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Tecido ósseo e reparo

O osso é um tipo especializado de tecido conjuntivo de sustentação, cujas principais funções orgânicas são o suporte estrutural e a reserva de minerais. É um tecido extremamente dinâmico, com intenso metabolismo de cálcio, e seus processos de reparação e remodelação estão presentes durante toda a vida. Sua composição micro-estrutural pode ser dividida em: células ósseas, uma fase orgânica constituída de colágeno e outras proteínas e que corresponde a aproximadamente 35% de seu volume, e uma fase inorgânica ou mineral, correspondente aos outros 65% do volume (Junqueira & Carneiro, 1999). O alto grau de integração e orientação dos componentes orgânicos e minerais do osso são os responsáveis por sua resistência mecânica .

As células ósseas são os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, e são responsáveis por todos os processos de formação, reabsorção, reparação e remodelação do tecido ósseo. Os eventos de formação óssea envolvem a mineralização de proteínas da matriz extracelular, a qual é produzida pelos osteoblastos. Os osteoblastos que ficam acondicionados no interior da matriz mineralizada, ocupando lacunas, tornam-se os osteócitos, que se comunicam com células adjacentes e fontes nutritivas por projeções citoplasmáticas localizadas em canalículos através da matriz mineralizada. Os osteoclastos, por sua vez, são células multinucleadas portadoras de grande quantidade de enzimas digestivas, que estão presentes na superfície das trabéculas ósseas e participam dos processos de remodelação óssea e regulação dos níveis plasmáticos de cálcio (Junqueira & Carneiro, 1999).

A fase inorgânica do osso consiste de plaquetas de mineral, de formato irregular, com dimensões aproximadas de 30 a 45 nm de comprimento e 5 nm de largura, que se depositam ao longo das fibrilas colágenas, paralelamente entre si. A sua composição básica é de hidroxiapatita de cálcio $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, embora

outras fases não apatíticas como o carbonato de cálcio, dolomita, bruxita, fosfato de cálcio amorfo e fosfato octacálcico sejam também encontradas. Os poros do osso variam de 1 a 100 μm no osso cortical e de 200 a 400 μm no osso medular, e influenciam a difusão de nutrientes, migração e expressão celular e mudanças morfológicas no osso, necessárias para sua formação e reparo (LeGeros, 2002).

Qualquer lesão que altere a hemostasia do tecido ósseo, como fraturas, interrupção do suprimento sanguíneo ou mesmo a instalação de implantes, desencadeia a liberação de fatores de crescimento que irão ativar a regeneração óssea local pela ação dos osteoblastos. No entanto, alguns fatores são necessários para que o reparo ósseo ocorra de forma satisfatória, e dentre eles destaca-se a vascularização local. A vascularização no interior do osso compacto é proveniente de continuações dos envoltórios ósseos perióstio e endóstio. Além disso, esses envoltórios detêm potencial osteogênico, fazendo com que os mesmos participem das atividades de remodelação óssea. Assim sendo, tratamentos que beneficiem a vascularização e a atividade celular ósseas, tais como as irradiações com laser de baixa intensidade, são constantemente estudados visando melhorar o processo de reparo.

Sabendo-se da importância do conhecimento do processo de reparo ósseo para os estudos da osseointegração de implantes, Roberts *et al.*, em 1987, realizaram uma comparação do processo de reparo ósseo em humanos, cães e coelhos. Concluíram que o reparo do osso cortical em coelhos é três vezes mais rápido que no homem, ou seja, ao final de 6 semanas o ciclo completo de remodelação foi realizado. Estudos dessa natureza colaboram para definir os protocolos experimentais que permitam uma correlação adequada entre estudos em modelos animais e a prática clínica, ainda que dentro das limitações, amplamente discutidas, que são inerentes aos estudos laboratoriais.

2.2. Substitutos ósseos

É amplamente aceito na literatura que os enxertos autógenos são a primeira escolha para reconstrução em áreas com deficiências ósseas. Esses enxertos são considerados o padrão ideal devido a sua excelente biocompatibilidade e por suas características de osteocondução, osteoindução e osteogênese (Becker *et al.*, 1995). Entende-se como osteogênese a capacidade do enxerto de, contendo células ósseas viáveis, realizar formação de tecido ósseo. A osteoindução acontece usualmente quando o enxerto contém substâncias desencadeantes da diferenciação celular e formação óssea, especialmente proteínas morfogenéticas ósseas. A osteocondução é a capacidade do enxerto ou material aloplástico de servir como um arcabouço para guiar a formação óssea. Os enxertos autógenos, no entanto, necessitam de intervenção em um sítio doador, causando maior morbidade ao paciente. Geralmente o custo e tempo operatórios são aumentados, especialmente em casos em que áreas extra-bucais são necessárias (LeGeros, 2002; Gosain, 2005). Assim sendo, alternativas a esses enxertos têm sido buscadas.

Os enxertos homólogos, ou seja, osso obtido de doador da mesma espécie que a do indivíduo receptor, são geralmente adquiridos em bancos de osso, mas alguns países têm-nos disponíveis no mercado, nas formas de osso humano descalcificado, congelado e seco e de osso humano mineralizado, congelado e seco. O osso mineralizado possui propriedade osteocondutora enquanto que o desmineralizado pode possuir também propriedade osteoindutora, a qual, no entanto, pode ser perdida caso haja falha no processamento do material ou níveis baixos de proteínas indutoras no enxerto (Cruz, 2004). Esses materiais são de difícil obtenção no Brasil, têm altos custos de processamento e apresentam risco de transmissão viral e imunogenicidade.

Os enxertos heterólogos, dentre os quais destacam-se os de origem bovina, são materiais amplamente comercializados. Os enxertos heterólogos mais comuns são produzidos a partir de osso bovino cortical ou medular. A matriz

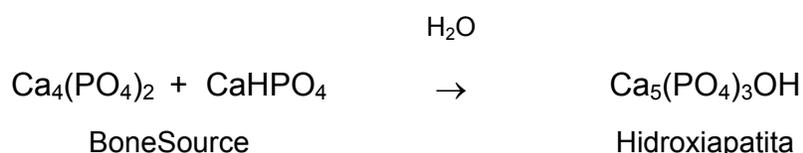
orgânica é desproteïnizada, descalcificada e depois desidratada pelo processo de liofilização, que impede a desnaturação das proteínas. A matriz inorgânica de osso bovino é produzida a partir de osso cortical ou esponjoso, e cont m apatita carbonatada em sua composição química (Cruz, 2004). No entanto, esses enxertos também apresentam possível risco de contaminação do indivíduo receptor, reações imunogênicas e reabsorção com perda do enxerto (Moghadam *et al.*, 2004)

Assim sendo, a necessidade de substitutos ósseos com propriedades semelhantes ao osso, mas sem as desvantagens dos enxertos previamente citados, ocasionou o desenvolvimento comercial e experimental de uma variedade de materiais para reparo, substituição ou aumento do tecido ósseo. Este grupo de materiais inclui metais, polímeros, corais, fosfato de cálcio de origem natural (proveniente de corais ou osso bovino) ou sint tica, vidros bioativos (compostos   base de sílica) e compostos de polímero associado a fosfato de cálcio. Dentre esses, o grupo que mais se aproxima das propriedades e composição do mineral ósseo é o do fosfato de cálcio, o qual inclui a hidroxiapatita de cálcio, o fosfato tricálcico e os cimentos de fosfato de cálcio (CFC) (LeGeros, 2002).

Sardinha (2001) avaliou histologicamente o comportamento do polímero de mamona, do osso humano desmineralizado e do sulfato de cálcio quando usados como biomateriais associados a implantes de titânio. Utilizou uma amostra de 10 coelhos, os quais receberam 4 implantes em suas tíbias, sendo um instalado em leito preenchido com cada material experimental, e outro sem material (controle). A análise histológica em microscopia óptica mostrou neoformação óssea e vascular sem reação inflamatória de corpo estranho em todos os grupos, concluindo que os materiais aloplásticos e enxerto liofilizado utilizados são compatíveis com o processo de regeneração óssea. Rabelo (2001), em um estudo desenvolvido com implantes inseridos em tíbias de coelhos, encontrou resultados semelhantes com a utilização do vidro bioativo, quando comparado com o grupo controle coágulo.

O conceito base para o desenvolvimento dos CFC foi introduzido em 1982, por Le Geros *et al.* (1982), sendo que esses materiais são constituídos de um componente sólido e outro líquido. O componente sólido pode ser fosfato de cálcio puro ou uma associação de fosfato de cálcio com outros compostos cálcicos. O componente líquido pode ser inorgânico, como ácido sulfúrico ou ácido fosfórico, orgânico, como ácido láctico ou ácido tartárico, ou então soluções de fosfato de sódio.

O CFC BoneSource foi lançado no mercado há aproximadamente dez anos, sendo preconizado pelo fabricante para reconstruções craniofaciais e tem sido amplamente estudado e utilizado principalmente como material de reconstrução craniana. É composto de uma mistura de fosfato tetracálcico e fosfato dicálcico anidro, em uma proporção de 73%:27%. Uma reação isotérmica de presa entre o fosfato tetracálcico e o fosfato dicálcico anidro, com incorporação de água, resulta na formação de hidroxiapatita microporosa reabsorvível, como explicitado pela fórmula química abaixo.



O material apresenta-se comercialmente como pó e solução de fosfato de sódio, acondicionados em embalagem estéril, os quais são manipulados de forma a obter uma pasta que pode ser adaptada à região a ser reconstruída, a qual resulta, após período de 5 a 10 minutos, em um implante sólido. Após 4 a 6 horas, a reação química que resulta na formação de hidroxiapatita está completa. Segundo o fabricante, o material pode ser manipulado com água destilada estéril ao invés da solução de fosfato de sódio quando se desejar uma reação mais lenta e, portanto, maior tempo de trabalho.

A propriedade atribuída aos CFC é a de osteocondutividade, ou seja, a capacidade de formar um arcabouço e suportar crescimento ósseo em seu interior: o desenvolvimento de células osteoprogenitoras e a formação óssea. Para

tanto, o material deve apresentar uma composição química e uma geometria de partículas adequadas. Os materiais com essas características osteocondutivas, como a hidroxiapatita e o fosfato beta-tricálcico, permitem a ligação, proliferação, migração e a expressão fenotípica das células ósseas, levando a uma aposição direta de osso sobre o material (LeGeros, 2002; Rupprecht, 2003).

Segundo Piecuch (1982), a hidroxiapatita quando implantada em tecido mole não tem a propriedade osteoindutora, e seus poros são preenchidos por tecido conjuntivo, embora geralmente não ocorra nenhuma resposta inflamatória. Alguns autores, no entanto, sugerem que os materiais aloplásticos são também osteoindutores, embora a maior parte da literatura considere que sua atividade limita-se à osteocondução. Gosain *et al.* (2002) avaliaram compostos de hidroxiapatita, sendo um CFC, colocados em envoltórios de tecido mole em ovelhas, e observaram formação óssea. Os autores consideraram como osteoindução a capacidade do biomaterial de iniciar a osteogênese sem o crescimento ósseo sobre o implante.

Os estudos utilizando CFC demonstram taxas de substituição do material por osso que variam de aproximadamente 5% até 50%. As variações podem ser atribuídas a diferenças nas metodologias de avaliação utilizadas nos estudos, como a dificuldade de visualização do material quando utilizado preparo histológico de rotina, em contraposição, por exemplo, a técnicas de microscopia eletrônica onde material e osso são facilmente diferenciados (Gosain *et al.*, 2005).

Uma das vantagens dos CFC, e que leva com essa classe de materiais seja crescentemente utilizada para reconstruções cranianas, é a possibilidade de adaptação do material, ou seja, não é necessário a construção prévia de um protótipo, como acontece nos casos de implantes metálicos. Uma vez aplicado sobre a superfície óssea, o cimento pode ser livremente moldado e após a presa atinge a consistência final. Rupprecht *et al.* (2003), em um estudo utilizando o CFC BoneSource para reconstrução de defeitos ósseos de vários tamanhos em ossos frontais de miniporcos, observou que o material mostrou-se adequado para utilização em defeitos de 15x25mm, no entanto observando um colapso do

material em defeitos maiores devido a pouca estabilidade. A análise histométrica mostrou que o material foi progressivamente substituído por tecido ósseo, reduzindo de 75% o material nos defeitos após 12 semanas para apenas 10% após 40 semanas, demonstrando uma boa compatibilidade do cimento. Em contrapartida, Gosain *et al.* (2005), analisando comparativamente blocos de osso autógeno, três compostos cerâmicos e um CFC usados para aumento de contorno facial em ovelhas, observaram pouca substituição do CFC (aproximadamente 5%), quando comparado com os demais grupos e com a literatura disponível, e concluíram que futuros estudos devem buscar formas de melhorar as propriedades do CFC visando uma maior substituição do material por osso.

2.3. Laser de baixa intensidade

Teorias postuladas por Einstein em meados de 1917, afirmando que a emissão de luz por um átomo pode ser estimulada pela própria radiação incidente, estimularam o desenvolvimento de técnicas para amplificação da luz. Townes, Prokhorov & Basov, na década de 50, desenvolveram um sistema de MASER (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation), que posteriormente lhes renderia um prêmio Nobel (Tuboy, 2002). Em 1960, tentando estender a técnica do MASER para o espectro de luz visível, o pesquisador Theodore Maiman publicou o relato da utilização de um aparelho de laser de rubi, tornando-se o precursor da tecnologia laser atualmente conhecida (Blay, 2001; Tuboy, 2002).

O termo *laser* é um acrônimo da expressão em língua inglesa *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, que pode ser traduzida como amplificação de luz por emissão estimulada de radiação. É uma radiação eletromagnética que difere de uma luz branca comum por possuir um único comprimento de onda, com ondas propagando-se coerentemente no espaço e no tempo, carregando altas concentrações de energia. Essas características conferem à radiação laser possibilidades variadas de interação com os tecidos

vivos, desde efeitos terapêuticos (laser em baixa intensidade) até efeitos de corte cirúrgico (laser de alta intensidade) (Castilho Filho, 2003).

Os lasers são compostos basicamente de três partes: meio ativo, cavidade óptica e fonte de excitação. O meio ativo é o material onde ocorre a ação laser, e determina o tipo de laser e o comprimento de onda emitido. Pode ser gasoso, sólido ou líquido. Dentre os gasosos, destacam-se os lasers de hélio-neônio, gás carbônico, argônio, hélio-cádmio, nitrogênio e o Excimer laser (mistura de gases nobres e halogênios). Como meios sólidos, temos toda a família de lasers YAG (Yttrium-Aluminium-Garnet), associados a outras substâncias, como o neodímio (Nd:YAG), érbio (Er:YAG); os lasers de rubi; e os lasers de meios ativos sólidos semicondutores, que incluem todos os lasers de diodo gálio-arseneto (GaAs) e arseneto de gálio-alumínio (GaAlAs), dentre outros. Por fim, temos os meios líquidos, que são corantes orgânicos dissolvidos em solventes, sendo a rodamina o mais comumente utilizado.

Para que ocorra a ação laser, é necessário que as moléculas do meio ativo recebam energia. No caso dos lasers de diodo, a energia elétrica é utilizada. Essa energia promove uma excitação das moléculas do meio ativo, e esse processo é chamado de bombeamento do laser. Ao retornarem ao estado de repouso, a diferença de energia é liberada na forma de fótons (luz). A emissão de fótons por um átomo estimula a liberação de fótons iguais a ele por outros átomos, na chamada emissão estimulada. Esse processo é repetido várias vezes no interior da cavidade óptica, que utiliza um sistema de espelhos semitransparentes que retém a maior parte da energia, mas libera alguns fótons que formam o feixe laser que sai do aparelho (Tuboy, 2002).

A maior parte dos efeitos clínicos e biológicos da radiação laser de baixa intensidade se devem a sua monocromaticidade, ou seja, há um aproveitamento total da luz emitida. Essa energia pode interagir com os tecidos de quatro formas: reflexão, transmissão, absorção ou espalhamento. Dentre elas, a que permite ação do laser sobre os tecidos é a absorção, ou seja, uma interação da matéria com o fóton, transformando a energia radiante em outras formas de energia.

Portanto, é necessária a utilização de lasers com penetração adequada para alcançar a região onde o efeito bioestimulador é desejado (Castilho Filho, 2003).

A utilização dos lasers para bioestimulação de tecido ósseo ainda é bastante incipiente, se comparada à sua larga utilização em tecidos moles por diversas áreas da Medicina e Odontologia. No entanto, alguns estudos se propuseram a avaliar o efeito das radiações laser nesse tecido, utilizando diferentes metodologias. Trelles e Mayayo (1987), realizaram um estudo em fraturas induzidas manualmente em tíbias de ratos. O grupo teste era irradiado por laser de HeNe, de comprimento de onda 632 nm, com energia incidente de 2,4 J/cm², em laser com potência de 4 mW. As aplicações eram repetidas a cada 48h, durante 10 minutos, em total de 12 sessões. Verificaram-se em análise eletromicroscópica diminuição do processo inflamatório, aumento na vascularização e aceleração da regeneração óssea, com um aumento no número de trabéculas ósseas.

Takeda *et al.* (1988) analisaram o efeito de laser de diodo de comprimento de onda 904nm aplicado em alvéolos de ratos pós-exodontia. Usando uma densidade de energia de 20 J/cm², observaram maior proliferação de fibroblastos, formação de matriz óssea mais avançada e maior abundância de trabeculado ósseo nos animais irradiados.

O laser de Arseneto de gálio-alumínio (GaAlAs) possui uma penetração tecidual elevada, principalmente porque a água e a hemoglobina oferecem um baixo coeficiente de absorção para ele; também é sabido que a hidroxiapatita demonstra absorção desse tipo de radiação. Yamagishi (1994) observou uma penetração de aproximadamente 50% da radiação de um laser de diodo em profundidade de 1 cm em osso mandibular de bovinos, com uma potência de 60mW, sugerindo que esses lasers podem ser utilizados como bioestimuladores em tecido ósseo.

Dörtbudak *et al.* (2000), testando a influência de um laser de diodo de 690 nm com dosagem de 2,4 J, aplicaram a radiação sobre culturas celulares de osteoblastos provenientes de medula de ratos, observando a formação de osso *in*

vitro. Constataram que todas as culturas irradiadas com laser apresentaram maior formação óssea que as não irradiadas, independente dos períodos de tempo, concluindo que o efeito bioestimulador do laser sobre o tecido ósseo é promissor para melhoria da osseointegração de implantes dentais.

Blay (2001) avaliou o processo de osseointegração de implantes de titânio instalados em tíbias de coelho, submetidos a aplicações de lasers na faixa do infravermelho (830 nm) e na faixa da luz visível (680 nm). O autor utilizou 30 coelhos, divididos em 3 grupos – um controle e dois grupos teste. Foram realizadas 10 sessões de irradiação, a cada 48h, com densidade de energia de 4 J/cm² por ponto, em dois pontos de cada lado das tíbias. Após 3 e 6 semanas, foram realizados testes de frequência de ressonância e de torque de remoção dos implantes, obtendo-se resultados estatisticamente superiores com os implantes irradiados para os dois testes, com os dois comprimentos de onda, sugerindo que a aplicação de radiação laser favorece o processo de osseointegração dos implantes de titânio.

Kucerová *et al.* (2000), usando um laser de diodo aplicado após exodontias em 150 pacientes, avaliaram a resposta subjetiva dos pacientes ao tratamento, a densidade radiográfica dos alvéolos e os níveis de imunoglobulina A e albumina na saliva, comparando os resultados com pacientes não-irradiados. Observaram melhores resultados com o laser com relação à resposta dos pacientes e aos níveis de proteínas salivares, mas não obtiveram diferença estatística quanto à densidade óssea.

Dörtbudak *et al.* (2002), avaliaram histomorfometricamente a influência do laser sobre a viabilidade celular e reabsorção óssea no leito implantar, no pós-operatório imediato da instalação de implantes de titânio em crista ilíaca de 5 macacos. Cada animal recebeu 4 implantes em cada crista ilíaca, sendo que um dos lados era irradiado com laser de baixa intensidade, no comprimento de onda de 690 nm durante 1 minuto, totalizando 6 J, em aplicação única imediatamente após a perfuração e colocação dos implantes. Após 5 dias, as peças foram removidas e analisadas quanto à presença de osteócitos viáveis e à área de

reabsorção óssea. Constatou-se que a reabsorção nos espécimes irradiados não mostrou diferenças significantes em relação ao grupo controle, mas que o número de células viáveis foi maior no grupo irradiado, sugerindo que a irradiação com laser de baixa intensidade imediatamente após o preparo do leito implantar pode beneficiar o reparo ósseo.

Castilho Filho (2003), avaliando o torque de remoção em implantes instalados nas tíbias de 33 coelhos submetidos a irradiação com laser de diodo, com comprimento de onda de 780 nm, com densidade de energia de $7,5 \text{ J/cm}^2$, com aplicações realizadas a cada 48h, totalizando 7 sessões, observou aumento significativo nos valores de torque de remoção nos períodos de 21 e 42 dias, concluindo que a irradiação com laser beneficiou o processo de osseointegração dos implantes.

Em estudo publicado em 2003, Guzzardella *et al.* avaliaram a microdureza óssea e contato ósseo osso-implante através de histometria. Os implantes foram instalados em ambos os fêmures de 12 coelhos, sendo que uma das patas foi irradiada com laser de diodo de GaAIs, com comprimento de onda de 780 nm, emissão pulsante, por 5 dias consecutivos após a instalação dos implantes. Nos sacrifícios em 3 e 6 semanas, diferenças estatisticamente significantes foram encontradas para microdureza e para a análise histométrica do contato ósseo, sugerindo que a irradiação com laser promoveu melhora na interface osso-implante.

Em uma tentativa de elucidar a atuação da radiação laser de baixa intensidade em nível molecular, Hamajima *et al.* (2003) avaliaram o efeito dessa radiação na expressão do gene regulador da produção de osteoglicina, que é um dos fatores osteoindutores presentes na matriz óssea, cartilagem e tecidos conjuntivos, responsável por regular a proliferação, diferenciação e adesão celulares juntamente com outros fatores de crescimento. Em períodos de 2 a 4 horas após a irradiação laser de células osteoblásticas de calvária de ratos, observaram um aumento de 1,5 a 2 vezes na expressão gênica avaliada através de reação em cadeia da polimerase (PCR) quando comparados a grupos controle,

sugerindo que o aumento na expressão do gene da osteoglicina nos períodos iniciais de proliferação dos osteoblastos pode ser um dos fatores importantes na bioestimulação da formação óssea.

Khadra *et al.* (2004), em um estudo experimental em coelhos, analisaram o efeito da terapia laser de baixa intensidade sobre o reparo ósseo ao redor de implantes. Os autores instalaram dois implantes de titânio em cada uma das tíbias de doze coelhos, e irradiaram metade dos animais com laser de diodo GaAIs, imediatamente após a cirurgia e nos 10 dias pós-operatórios, diariamente. Após 8 semanas, avaliaram a tensão para remoção de 44 implantes, analisaram histomorfometricamente 4 implantes e realizaram a quantificação de cálcio e fósforo encontrados na superfície dos implantes após o teste de remoção. Encontraram que as forças para remoção dos implantes foram significativamente maiores nos implantes irradiados, e que o contato osso-implante dos implantes irradiados foi maior que o do grupo controle, assim como a quantidade de cálcio e fósforo encontradas.

Khadra *et al.* (2005) avaliaram o efeito da terapia laser sobre a adesão, proliferação, diferenciação e produção de fatores de crescimento de células osteoblásticas humanas. Os autores irradiaram células osteoblásticas mandibulares humanas com laser de diodo GaAIs com dosagens de 1,5 a 3 J/cm², e então semearam as culturas sobre implantes de titânio, utilizando culturas não-irradiadas como controles. Observaram que a terapia laser aumentou significativamente a adesão, proliferação, diferenciação celular e produção de TGF- β_1 , sugerindo que a irradiação laser pode atuar como modulador da atividade dos tecidos circundantes ao implante de titânio.

3. PROPOSIÇÃO

Foi propósito deste estudo avaliar histometricamente em tíbias de coelho, de forma comparativa:

1. a influência da radiação laser de baixa intensidade sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio, instalados em áreas tratadas ou não com um substituto ósseo;
2. a influência da aplicação de um substituto ósseo (cimento de fosfato de cálcio) sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Parecer da comissão de ética

Previamente ao início da fase experimental, o projeto deste trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, registrado sob número de protocolo 688-2 (Anexo).

4.2. Seleção e manutenção dos animais

Para realização deste estudo, foram utilizados 12 coelhos adultos, da raça Nova Zelândia, fêmeas, com peso variando entre 3,5 e 4,5 kg. Durante a realização do estudo, os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp, sob as mesmas condições ambientais durante todo o estudo, em gaiolas individuais e recebendo ração e água *ad libitum*.

4.3. Primeira fase cirúrgica

4.3.1. Medicação pré-operatória e anestesia

Os animais receberam, 30 minutos antes do procedimento, injeção intramuscular de 80.000 UI/kg peso de benzilpenicilina benzatina (Benzetacil[®], Eurofarma Laboratórios, São Paulo, SP, Brasil) e 3 mg/kg peso de cetoprofeno (Ketofen 10%[®], Merial Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil). Quinze minutos antes da anestesia, uma injeção subcutânea de sulfato de atropina 10% em uma dose de 0,08 mg/kg foi realizada com objetivo de prevenir bradicardia durante a anestesia (Wyeth Laboratórios, Itapevi, SP, Brasil). A indução anestésica foi realizada através da via intramuscular, pela injeção de 30 mg/kg de ketamina (Dopalen[®], Vetbrands Saúde Animal, Jacareí, SP, Brasil) e 6mg/kg de xilazina (Rompun[®], Bayer SA, São Paulo, SP, Brasil). Foi realizada infiltração de aproximadamente 0,6 ml de anestésico local cloridrato de lidocaína 2% com

adrenalina 1:100.000 na região da pata a ser operada (Alphacaine[®], DFL, São Paulo, SP, Brasil) para efeito de hemostasia local.

4.3.2. Realização dos defeitos ósseos

Após a anestesia, foi realizada tricotomia das patas traseiras, bilateralmente, e antisepsia das regiões com solução alcoólica de polivinilpirrolidona iodo a 10% (Riodeine tintura, Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil) . O campo operatório foi isolado através da aposição de campos esterilizados descartáveis.

Foi então realizada uma incisão de aproximadamente 4 cm na face medial da pata traseira, usando lâmina de bisturi nº 15 montada em um cabo nº 3, envolvendo os planos pele e tecido subcutâneo, plano muscular e periósteo, o qual foi descolado e mantido afastado (Figura 1).

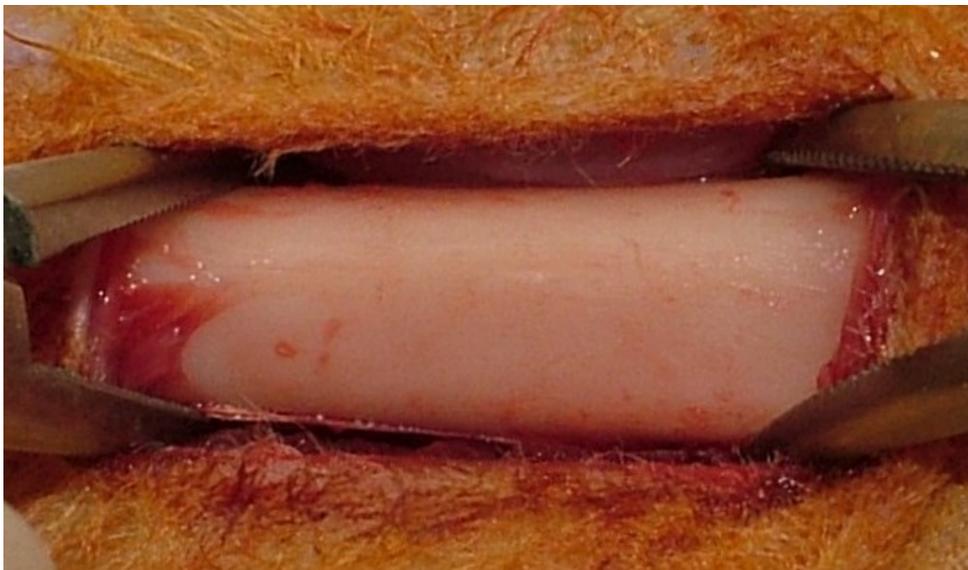


Figura 1: acesso cirúrgico e exposição da tíbia para confecção dos defeitos

Foram então realizadas em cada tíbia dois defeitos ósseos cilíndricos, de 3,7 mm de diâmetro por aproximadamente 7 mm de profundidade cada um, com 10 mm de distância entre si, utilizando brocas do sistema Conexão (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, SP, Brasil) em baixa rotação refrigerada. Os defeitos distais foram preenchidos com o substituto ósseo BoneSource (Stryker

Co., Kalamazoo, Michigan, EUA) (Figura 2), o qual foi manipulado e aplicado segundo as instruções do fabricante (Figura 3). O material utilizado em todos os animais foi proveniente do mesmo lote (EB504 – BS 04293A), o qual encontrava-se dentro do prazo de validade. Os defeitos proximais não receberam material, sendo preenchidos apenas por coágulo sangüíneo, servindo como controle. Os dois defeitos foram cobertos com membranas de colágeno absorvível Pro-Tape® (Proline Biomédica, São Carlos, SP, Brasil). A sutura foi então realizada em dois planos teciduais, utilizando fio de sutura de nylon 4-0 (Ethicon, Johnson&Johnson, São Paulo, SP, Brasil).



Figura 2: cimento de fosfato de cálcio utilizado: (A) embalagem externa do produto; (B) aspecto do invólucro plástico estéril contendo o material.

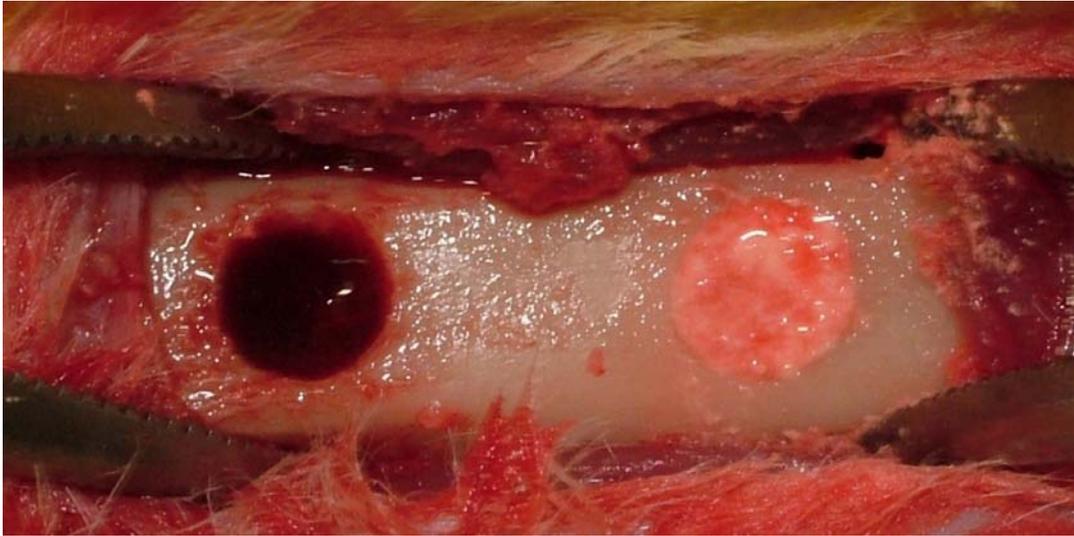


Figura 3: cimento de fosfato de cálcio aplicado no defeito distal (à direita) e coágulo sanguíneo no defeito proximal (à esquerda).

Os procedimentos acima descritos foram realizados de forma idêntica nas tíbias esquerda e direita do animal, na mesma sessão.

4.4. Segunda fase cirúrgica

Após um período de seis semanas da primeira fase cirúrgica, os animais foram medicados, anestesiados e o preparo do campo cirúrgico foi realizado da mesma forma que descrito no item 4.3.1

4.4.1. Procedimento Cirúrgico

Os acessos cirúrgicos nas faces mediais das patas traseiras foram realizados da mesma forma que descrito previamente. Após o descolamento, os limites dos defeitos podiam ser então observados e os locais para instalação dos implantes definidos (Figura 4).



Figura 4: aspecto da tíbia na exposição após 6 semanas

Prosseguiu-se então o preparo das perfurações com fresas cirúrgicas (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, SP, Brasil), usadas em ordem crescente de diâmetro, montadas em contra-ângulo redutor 16:1 (NSK E16R, Kakanishi Dental MFG Co., Japan), acoplado a um motor elétrico com mostrador de velocidade (BLM 500, VK Driller Equipamentos Elétricos, São Paulo SP, Brasil). A velocidade utilizada foi de 1500 rotações por minuto, e todas as perfurações foram realizadas sob abundante irrigação externa com solução de cloreto de sódio a 0,9%. Após a realização do leito implantar, um implante de titânio cilíndrico auto-rosqueante de dimensões 3,3mm (diâmetro) x 6,0mm (comprimento), de superfície usinada (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, SP, Brasil), era removido da embalagem e inserido utilizando o dispositivo plástico fornecido pelo fabricante, para evitar contato com a superfície do mesmo. Após estabilização inicial do implante, uma chave tipo catraca com torquímetro manual foi usada para rosquear o mesmo até a inserção completa do parafuso no osso, e o parafuso de cobertura foi então inserido. Cada tíbia recebeu dois implantes, resultando em quatro implantes por animal (Figura 5).

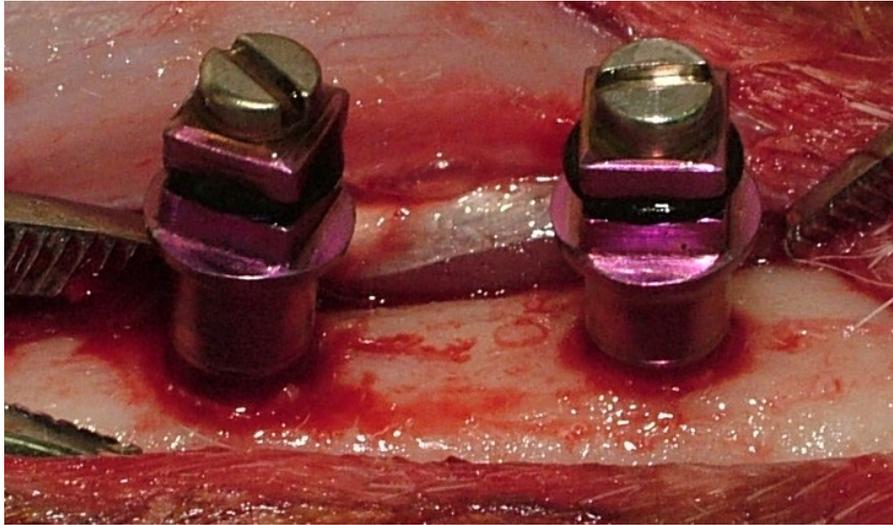


Figura 5: implantes após a instalação em uma das tíbias

Após finalização da colocação do implante e limpeza das feridas, os planos teciduais muscular e cutâneo foram suturados em posição utilizando fio de sutura de nylon 4-0.

Os implantes foram divididos nos seguintes grupos experimentais (n=6) (Figura 6):

- Grupo 1: implante instalado sobre área de coágulo, sem irradiação com laser, com sacrifício após 3 semanas;
- Grupo 2: implante instalado sobre área tratada com cimento de fosfato de cálcio, sem irradiação com laser, com sacrifício após 3 semanas;
- Grupo 3: implante instalado sobre área de coágulo, irradiado com laser, com sacrifício após 3 semanas;
- Grupo 4: implante instalado sobre área tratada com cimento de fosfato de cálcio, irradiado com laser, com sacrifício após 3 semanas;
- Grupo 5: implante instalado sobre área de coágulo, sem irradiação com laser, com sacrifício após 6 semanas;
- Grupo 6: implante instalado sobre área tratada com cimento de fosfato de cálcio, sem irradiação com laser, com sacrifício após 6 semanas;
- Grupo 7: implante instalado sobre área de coágulo, irradiado com laser,

com sacrifício após 6 semanas;

- Grupo 8: implante instalado sobre área tratada com cimento de fosfato de cálcio, irradiado com laser, com sacrifício após 6 semanas.

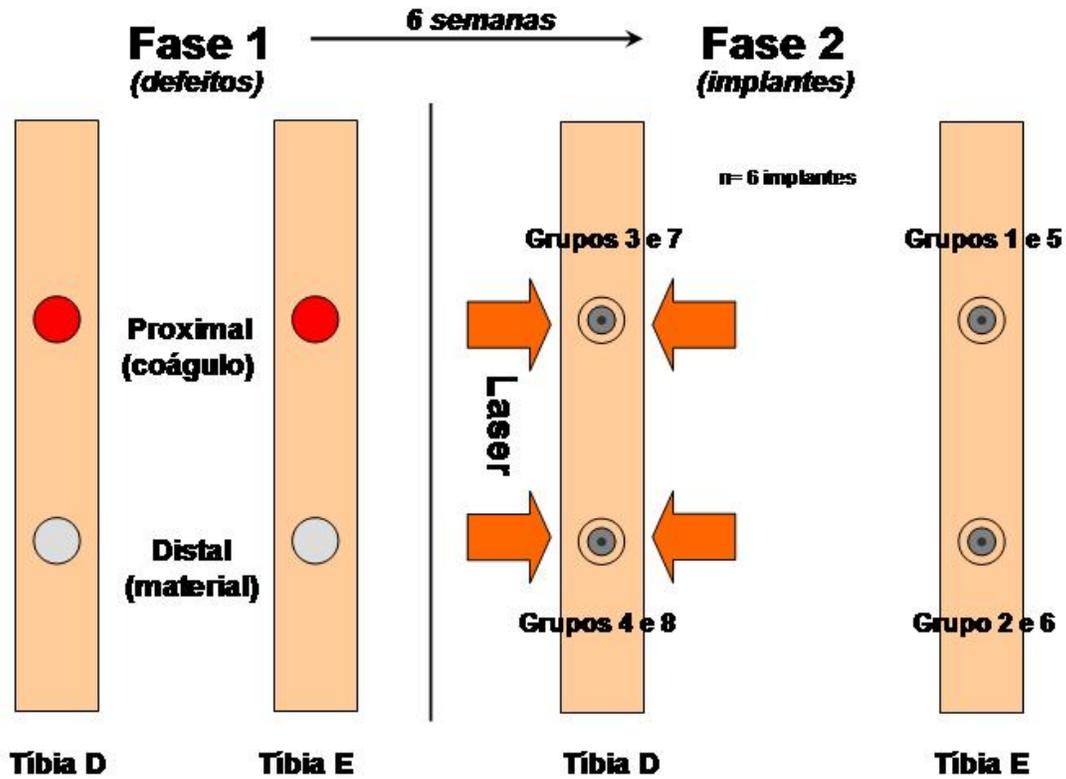


Figura 6: representação esquemática dos tratamentos e grupos experimentais.

4.5. Aplicação do laser de baixa intensidade

Após o procedimento cirúrgico, com o animal ainda sob anestesia, foi realizada a primeira aplicação do laser na área da tíbia direita correspondente aos implantes dos grupos 3, 4, 7 e 8. As aplicações eram repetidas a cada 48h, totalizando 7 aplicações do período imediato a instalação dos implantes ao 13º dia

pós-operatório. O equipamento utilizado para irradiação foi um laser de meio ativo semiconductor arseneto de gálio-alumínio (GaAlAs), modelo Twin Laser (MM Optics Ltda., São Carlos, SP, Brasil), com comprimento de onda de 780 nm (infravermelho), utilizando os seguintes parâmetros: emissão contínua, com fluência de 7,5 J/cm² por ponto, durante 10 s sobre cada ponto, em um total de 7 pontos irradiados (protocolo adaptado de Castilho Filho, 2003). A potência máxima do aparelho é de 70mW, e ele foi aferido pelo fabricante antes e após a realização das aplicações (Anexo). A localização dos implantes podia ser determinada por palpação da área, devido aos parafusos de cobertura instalados. O esquema de pontos utilizado pode ser observado na Figura 7, tomando como referência o longo eixo dos implantes. As aplicações eram realizadas sem a necessidade de anestesia dos animais, sempre pelo mesmo operador, com auxiliar que fazia a contenção do animal em posição. O operador e o auxiliar utilizaram óculos de proteção específicos para o comprimento de onda utilizado durante todas as aplicações.

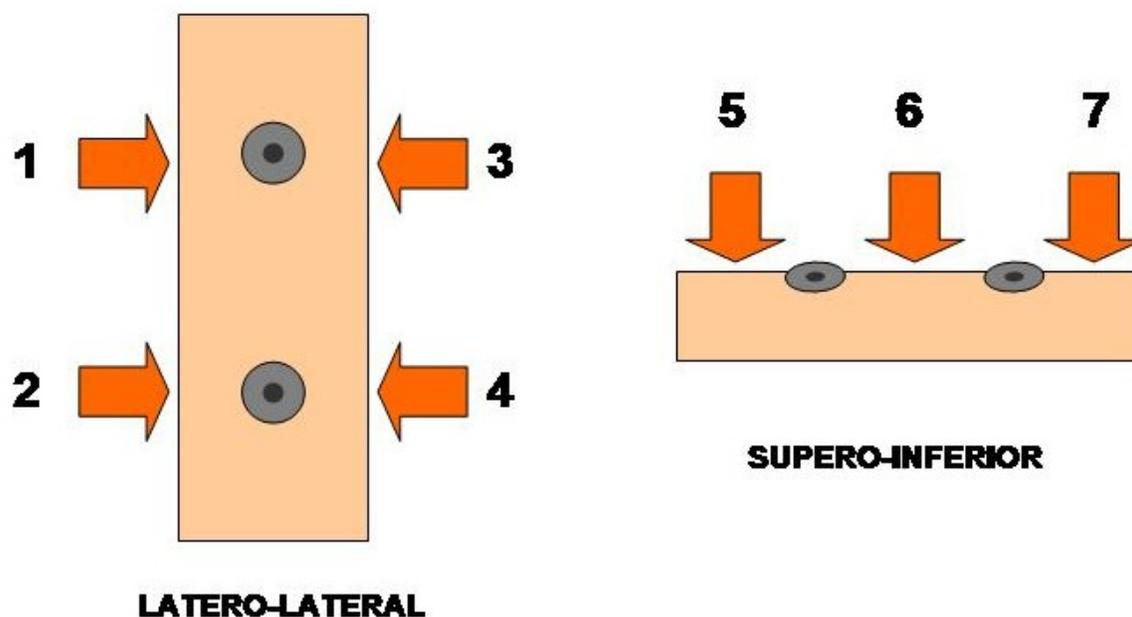


Figura 7: esquema ilustrativo da aplicação do laser em 7 pontos (protocolo adaptado de Castilho Filho (2003).

As tíbias esquerdas, onde se localizavam os implantes dos grupos 1, 2, 5 e 6, não receberam aplicação do laser, servindo, portanto, como controle para esta variável.

4.6. Sacrifício dos animais

Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos, correspondentes aos dois períodos de sacrifício: o primeiro grupo, constituído de 6 animais, foi sacrificado ao completar o período de 3 semanas de colocação dos implantes; o segundo grupo de 6 animais foi sacrificado 6 semanas após a colocação dos implantes. O sacrifício foi realizado através de overdose endovenosa de pentobarbital.

4.7. Preparo histológico e análise histométrica

Os blocos ósseos contendo os implantes foram removidos através de osteotomia realizada com brocas tronco-cônicas nº 701 (KG Sorensen, Alphaville, SP, Brasil), sob irrigação abundante com solução de cloreto de sódio a 0,9%, deixando-se uma margem de aproximadamente 5mm de distância de cada lado da área do implante. As amostras foram então fixadas em formalina neutra tamponada a 4%. Após fixação e lavagem, os blocos foram desidratados em álcool etílico sob constante agitação.

Os blocos foram submetidos a infiltração plástica com misturas gradativas de glicolmetacrilato (Technovit 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Alemanha) e álcool etílico, finalizando com infiltrações de glicolmetacrilato puro, e foi realizada a fotopolimerização da resina.

Os blocos foram então removidos do molde e montados em uma lâmina acrílica (Technovit 4000, Kulzer, Wehrheim, Alemanha). Através de um sistema de corte (Exakt Cutting and Grinding system, Apparatebau GmbH, Hamburgo, Alemanha) foi realizado um corte preliminar de aproximadamente 300 a 500 μm , o

qual foi submetido a microdesgaste resultando em uma secção de aproximadamente 20 a 30 μm , a qual foi corada com solução de azul de toluidina para a avaliação histométrica.

Padronizou-se a região de interesse como a região das roscas inseridas em osso cortical, o que correspondeu na maioria dos implantes às três roscas mais superficiais (Figura 8).

Após captura das imagens, com o auxílio de um programa para análise de imagens (Image Pro[®], Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA), os seguintes parâmetros foram avaliados:

1. **CO**: extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante, em porcentagem (Figura 9).
2. **AO**: área do tecido ósseo dentro dos limites das roscas de cada implante, em porcentagem (Figura 10).

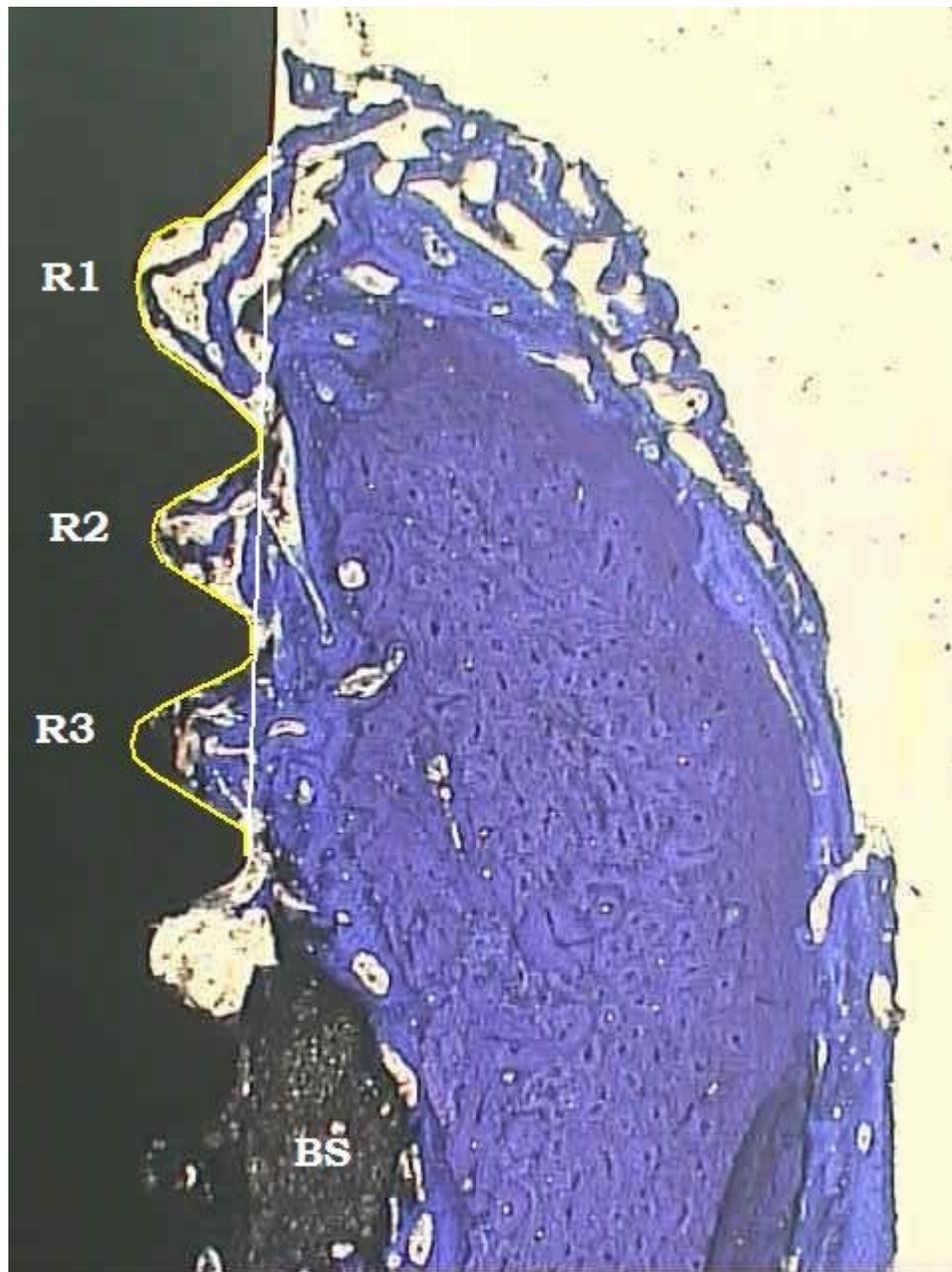


Figura 8: região de interesse para análise de contato ósseo (CO; esquematizado em amarelo) e área de osso dentro das roscas (AO; delimitada em branco). Observa-se remanescente de material (BS). R1, R2 e R3: primeira, segunda e terceira roscas. Aumento 2,5x.

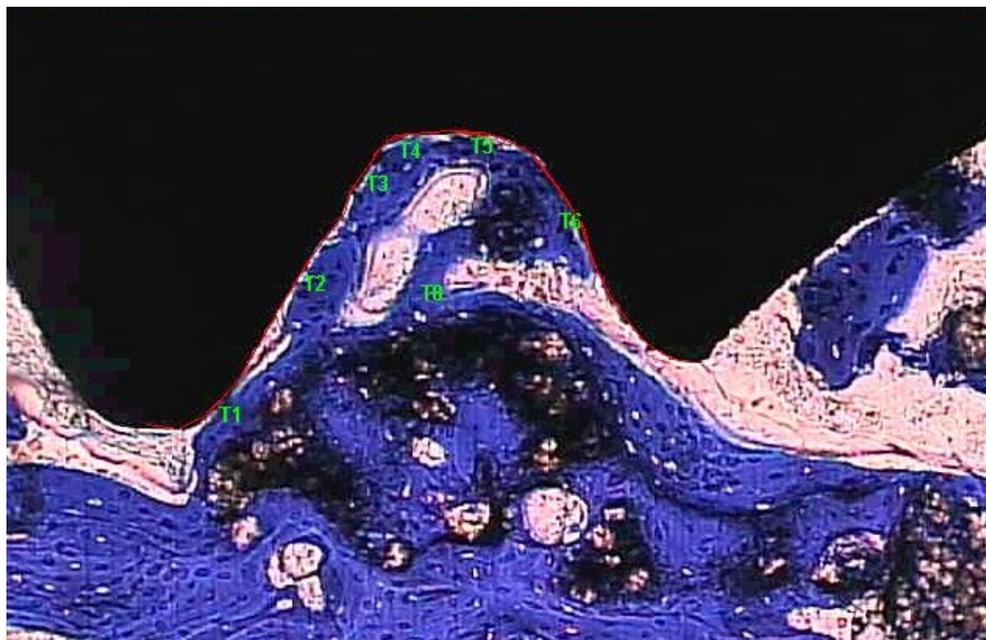


Figura 9: exemplo das medidas para análise de CO realizada em uma rosca de implante do grupo 4. As linhas T1 a T6 representam as regiões de contato ósseo. T8 representa a extensão total da rosca (Aumento 10x).

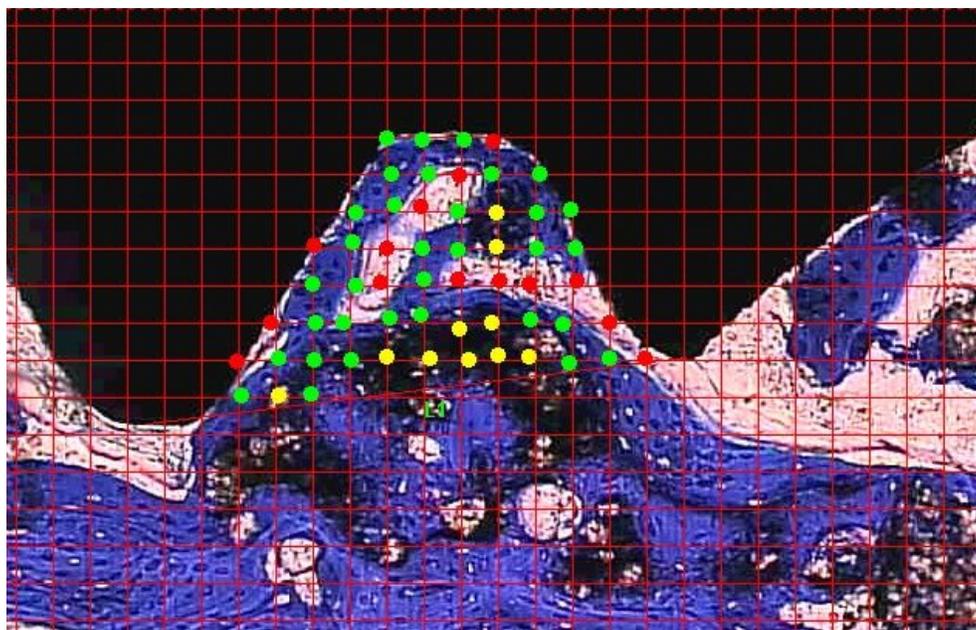


Figura 10: exemplo da análise de AO realizada na mesma rosca da Figura 8. Os pontos marcados em verde representam preenchimento por osso. Os pontos vermelhos e amarelos representam ausência de osso e remanescente de material, respectivamente (Aumento de 10x).

As medidas foram realizadas rosca a rosca, em imagens capturadas sob aumento de 10x. Todas as medidas foram realizadas por um único avaliador, e foram feitas de forma cega, ou seja, o avaliador desconhecia os tratamentos e grupos dos espécimes analisados. Os dados obtidos foram então tabulados para análise estatística.

4.8. Análise estatística

Os dados referentes a todos os implantes foram separados conforme os grupos e analisados utilizando a metodologia estatística ANOVA (análise de variância) e teste de Tukey, considerando-se o nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS

Durante a realização do estudo, não foram observadas fraturas de tíbias em nenhum dos animais.

5.1. Contato ósseo direto entre osso e implante (CO)

Os resultados referentes às médias de contato encontradas em todos os períodos e seus desvios padrão estão mostrados na tabela 1.

Tabela 1: médias de porcentagem de contato ósseo (desvio padrão) de acordo com períodos e tratamentos

Período	Laser	Material	
		Não	Sim
3 semanas	Não	32,5Aa ($\pm 6,97$)	32,3Aa ($\pm 6,33$)
	Sim	35,9Ab ($\pm 11,58$)	45,2Ab ($\pm 11,08$)
6 semanas	Não	29,3Aa ($\pm 6,78$)	24,9Aa ($\pm 10,91$)
	Sim	37,1Ab ($\pm 6,67$)	35,5Ab ($\pm 9,90$)

Médias seguidas de letras diferentes (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical dentro de cada tempo) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$)

Não foi observada interação significativa entre os fatores laser, material e tempo ($p > 0,05$) para o contato ósseo.

As médias de contato ósseo, quando comparando-se os grupos com material e sem material, foram estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$), tanto no período de 3 quanto de 6 semanas.

Analisando os grupos tratados com laser, observou-se aumento

estatisticamente significativa ($p < 0,003$) nas médias de contato ósseo quando comparados com os grupos que não receberam laser, nos dois períodos de sacrifício.

Ao compararem-se os grupos de 3 e 6 semanas, não se observou um aumento estatisticamente do contato ósseo com o tempo ($p = 0,09$).

5.2. Área do tecido ósseo dentro dos limites das roscas (AO)

Os resultados referentes às médias das porcentagens de área encontradas em todos os períodos e seus desvios padrão estão mostrados na tabela 2.

Tabela 2: médias da porcentagem de área de osso no interior das roscas (desvio padrão) de acordo com períodos e tratamentos

Período	Laser	Material	
		Não	Sim
3 semanas	Não	59,2 Aa ($\pm 10,32$)	57,1 Aa ($\pm 5,38$)
	Sim	63,4 Aa ($\pm 11,23$)	65,0 Aa ($\pm 9,89$)
6 semanas	Não	69,2 Aa ($\pm 10,05$)	76,5 Aa ($\pm 3,08$)
	Sim	74,0 Aa ($\pm 6,44$)	77,2 Aa ($\pm 2,13$)

Médias seguidas de letras iguais (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical dentro de cada tempo) não diferem entre si pela ANOVA ($p > 0,05$)

Não foi observada interação significativa entre os fatores laser, material e tempo ($p = 0,41$) para a área de osso nas roscas.

As médias foram estatisticamente semelhantes entre os grupos com e sem material ($p = 0,29$) e com e sem laser ($p = 0,07$), tanto no período de 3 como

no de 6 semanas.

A área do tecido ósseo dentro dos limites das roscas apresentou aumento estatisticamente significativo com o tempo, comparando-se os grupos de 3 e 6 semanas, independentemente do uso do laser e do material ($p < 0,0001$).

Em vários implantes dos grupos que receberam o CFC, pôde-se observar a permanência de material, especialmente nos grupos de sacrifício de 3 semanas. A porcentagem de material achado nas roscas variou de 0 a 7,1% da área interna das roscas dos implantes dos grupos que receberam material. A presença de material durante a análise de área óssea no interior das roscas, foi considerada como ausência de tecido ósseo.

Na maior parte dos implantes, pôde-se observar o limite entre osso cortical neoformado e o osso maduro, confirmando o posicionamento correto dos implantes em relação à localização dos defeitos ósseos (Figura 11).

As figuras 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19 ilustram implantes dos grupos 1 a 8, respectivamente.

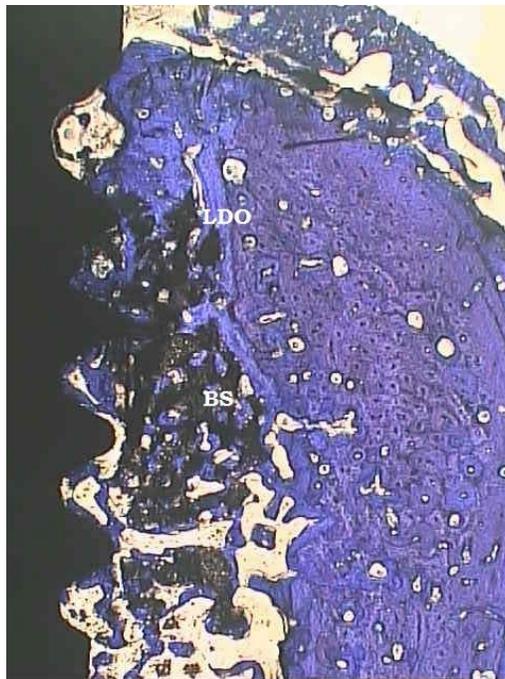


Figura 11: espécime do grupo 4, aumento de 2.5x. Observar limite entre defeito ósseo e o osso maduro (LDO). Remanescentes de material (BS) podem ser vistos.



Figura 12: espécime do grupo 1, aumento de 10x. Observar poucas áreas de contato ósseo.

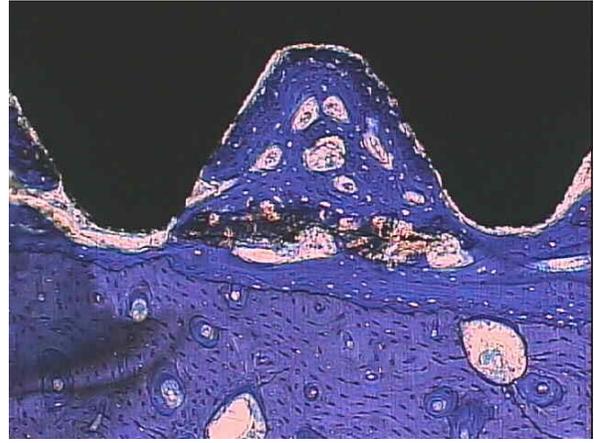


Figura 13: espécime do grupo 2, aumento de 10x. Observar poucas áreas de contato ósseo e remanescente de material próximo ao implante.

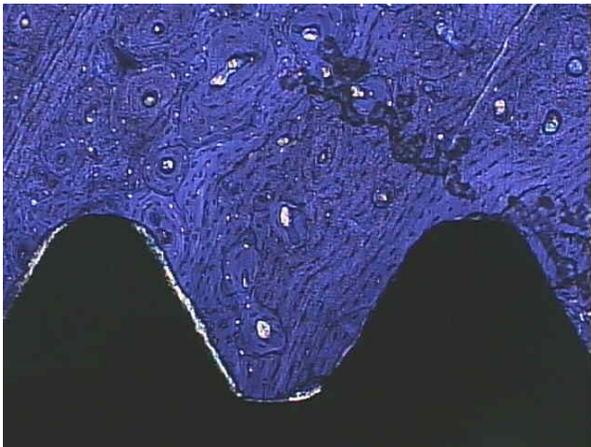


Figura 14: espécime do grupo 3, aumento de 10x. Observar áreas de contato ósseo.

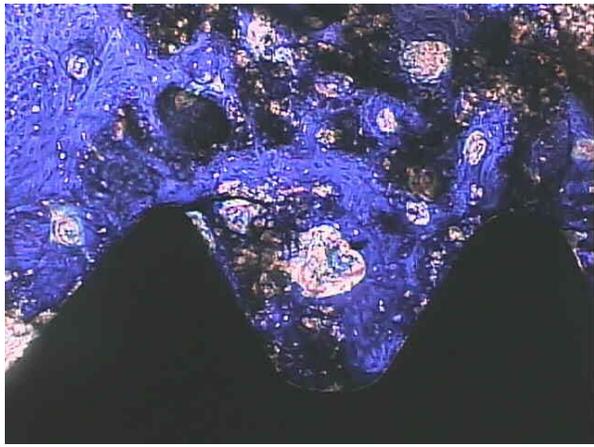


Figura 15: espécime do grupo 4, aumento de 10x. Observar áreas de contato ósseo e remanescente de material.

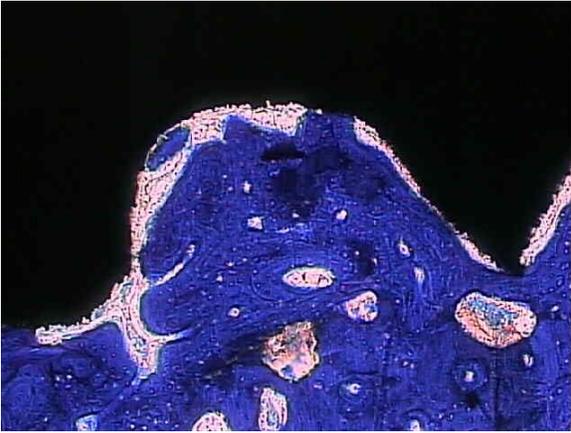


Figura 16: espécime do grupo 5, aumento de 10x. Observar poucas áreas de contato ósseo.

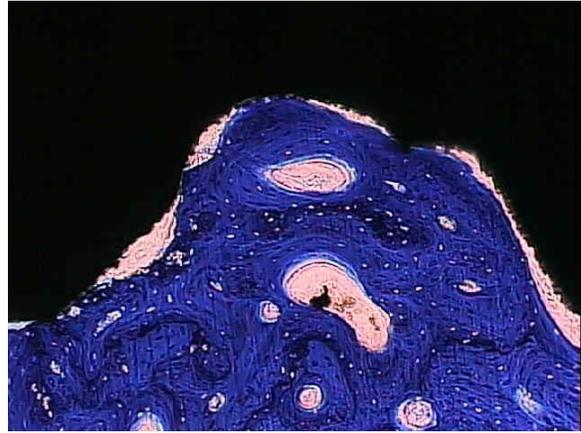


Figura 17: espécime do grupo 6, aumento de 10x. Não se observa remanescente de material neste espécime.

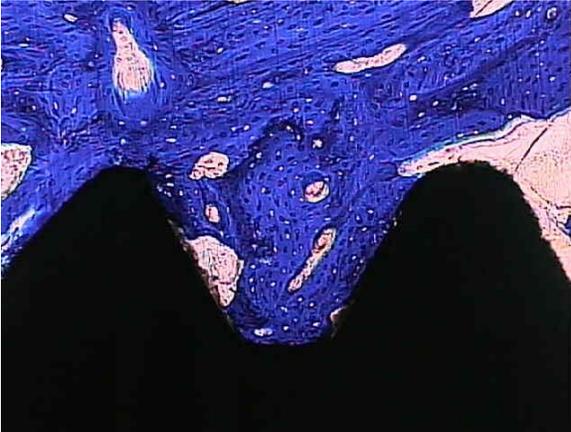


Figura 18: espécime do grupo 7, aumento de 10x. Áreas de contato ósseo.

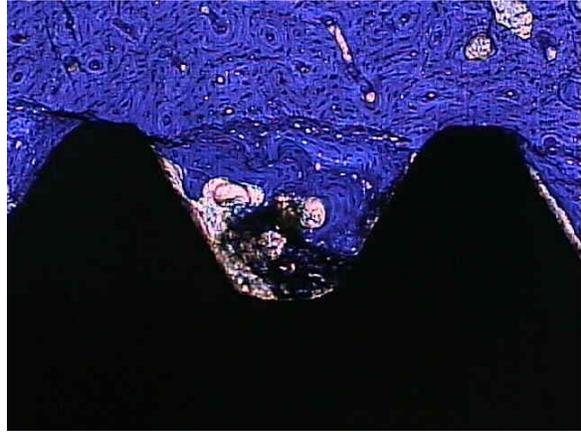


Figura 19: espécime do grupo 8, aumento de 10x. Observar grande extensão de contato ósseo e remanescente de material no interior da rosca.

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, buscou-se avaliar o reparo ósseo ao redor de implantes instalados em tíbias de coelho, avaliando a influência de um laser de baixa intensidade sobre o reparo ósseo ao redor desses implantes, os quais foram colocados sobre região de defeitos previamente tratados com um substituto ósseo (cimento de fosfato de cálcio) ou sobre defeitos preenchidos apenas com coágulo..

O protocolo de irradiação laser utilizado foi adaptado de Castilho Filho (2003), o qual utilizou o laser de GaAIs no comprimento de onda de 780 nm para irradiar implantes instalados em tíbias de coelho, realizando aplicações a cada 48h totalizando 7 aplicações. No entanto, esse autor instalou um implante por tíbia, e portanto realizava a irradiação em apenas 4 pontos. No presente estudo, por tratar-se de 2 implantes em cada tíbia, o protocolo foi modificado para 7 aplicações, permitindo assim que os dois implantes recebessem irradiações de forma semelhante.

Os grupos irradiados com laser de baixa intensidade demonstraram médias de contato direto entre osso e implante estatisticamente superiores aos grupos não irradiados, independentemente do tempo de sacrifício ($p < 0,003$). Esses dados vão ao encontro de diversos trabalhos na literatura que afirmam ser a radiação laser um fator estimulador do processo de integração, atuando na proliferação, diferenciação e adesão celulares.

Blay (2001) e Castilho-Filho (2003), utilizando análises de torque de remoção, constataram aumento significativo da integração entre implante e tecido ósseo, refletindo-se nos valores de torque, quando utilizaram irradiação com laser de GaAIs em protocolos de aplicação semelhantes ao utilizado no presente estudo, sendo que o aparelho utilizado foi de mesmo modelo, de fabricação nacional. Tal fato pode sugerir uma perspectiva de popularização do uso do laser de baixa intensidade no país, devido a uma redução no custo de aquisição do equipamento, quando comparado aos equipamentos importados.

Guzzardella *et al.* (2003), usando análise histométrica, achou

resultados semelhantes ao do presente estudo quando avaliando implantes instalados em coelhos. Os estudos de Khadra *et al.* (2004; 2005), utilizando também o laser de GaAIs, obtiveram resultados significativamente superiores nos grupos irradiados, analisando diversos parâmetros, como torque de remoção, histometria, volume de mineral ósseo e presença de fatores de crescimento. Esses resultados corroboram os achados do presente estudo, em que o aumento do contato ósseo foi observado nos dois tempos de sacrifício. Tais achados sugerem que o laser de baixa intensidade pode ser uma alternativa eficaz e não-invasiva para obtenção de uma melhor qualidade de reparo ósseo após a instalação de implantes de titânio, especialmente em casos clínicos em que algum fator sistêmico ou local possa dificultar a osseointegração, como por exemplo o tabagismo ou uma pobre qualidade óssea.

As tíbias de coelhos tem sido amplamente utilizadas em estudos *in vivo* de reparo ósseo em implantes de titânio, sendo que vários trabalhos na literatura utilizam essa metodologia (Blay, 2001; Rabelo, 2001; Sardinha, 2001; Castilho Filho, 2003; Khadra, 2004). No entanto, estudos que avaliem histometricamente a utilização de substitutos ósseos previamente a instalação dos implantes são pouco disponíveis.

O modelo experimental utilizado contou com a realização de defeitos ósseos de 3,7 mm, os quais não constituem defeitos críticos considerando-se o reparo ósseo do coelho. No entanto, ao contrário dos estudos realizados em calota craniana desses animais, a tíbia possui um diâmetro reduzido, que não permite a realização de grandes defeitos. Em piloto realizado previamente, tentou-se realizar defeitos de 4,3 mm, obtendo-se fratura das tíbias dos animais.

Após a realização de defeitos de 3,7 mm, foi feita a instalação de implantes de 3,3 mm de diâmetro, ou seja, com uma diferença de diâmetros de 0,4 mm. No entanto, durante a segunda fase cirúrgica, no momento da instalação dos implantes, podia-se observar os contornos dos dois defeitos, como evidenciado na figura 4. As perfurações e a inserção dos implantes eram realizadas no centro do defeito, para que a maior extensão possível das roscas ficasse em contato com o

conteúdo do defeito previamente realizado, fosse ele osso neoformado ou remanescente de material. Outro fator que provavelmente diminuiu a possibilidade de influência de uma inserção incorreta do implante foi a análise realizada, que considerou as roscas mais superficiais do implante, pois as mesmas seriam as menos afetadas em caso de uma inserção do implante em eixo incorreto. As imagens da análise histométrica permitiram também, na maior parte dos implantes, a visualização nítida do limite entre o osso neoformado após a confecção dos defeitos no primeiro procedimento cirúrgico e o osso nativo.

As médias de contato ósseo e de área de osso nas roscas não apresentaram diferenças estatisticamente significantes com ou sem o uso do material ($p > 0,05$). Assim sendo, pode-se considerar que o material aloplástico testado demonstrou, nas condições do estudo, uma atividade osteocondutora satisfatória, permitindo que o reparo ósseo peri-implantar nas regiões onde foi previamente aplicado fosse semelhante ao de regiões cujo defeito foi preenchido apenas por coágulo. Este material é preconizado pelo fabricante para utilização em neurocirurgia, sendo que a utilização como material reconstrutivo para posterior reabilitação com implantes não se encontra dentro das indicações do mesmo. Resultados que demonstrem um bom desempenho dos CFC quando usados em associação com implantes osseointegrados podem estimular o desenvolvimento por parte dos fabricantes de novos materiais, ou mesmo de modificações nos materiais existentes que os tornem mais adequados à utilização em procedimentos reconstrutivos intrabucais.

Diversos trabalhos na literatura, tais como o de Gosain *et al.* (2005), ao utilizarem os cimentos de fosfato de cálcio em reparo de defeitos ósseos, observam que, além da presença de remanescentes do material por períodos longos, a proliferação óssea sobre o material inicia-se das bordas para o interior do arcabouço do cimento. Assim sendo, freqüentemente encontra-se regiões de tecido ósseo com um centro de material remanescente. É importante confrontar esses dados com a situação clínica que nosso estudo objetiva esclarecer, ou seja, a instalação de implantes de titânio, pois sabemos que, durante a preparação do

leito implantar, a região central da área tratada com o material será removida pela seqüência progressiva de brocas, ao contrário de outras situações de utilização do material como por exemplo as reconstruções de calota craniana, as quais exigem uma uniformidade ou, minimamente, uma previsibilidade do padrão de formação óssea. No presente estudo, no entanto, pode-se constatar uma diminuição da porcentagem de material presente no período de 6 semanas, quando comparado com o período de 3 semanas, sugerindo que o material foi parcialmente substituído ao longo do tempo.

Os CFC foram criados, como já citado previamente, com o objetivo de reconstruírem-se áreas como a calota craniana, caracteristicamente livres de cargas funcionais, em contraste com as áreas reabilitadas por implantes dentais, as quais são constantemente submetidas a esforços mastigatórios (LeGeros, 2002). Esta reflexão deve ser levada em conta, por exemplo, na seleção dos casos clínicos em que o substituto ósseo seria usado. Situações em que o material não sofresse carga funcional, especialmente durante os períodos iniciais de reparo, tais como os levantamentos de seio maxilar em que haja um remanescente de osso nativo para suportar as forças incidentes sobre o implante, seriam ideais para o início das investigações desses materiais para uso em implantodontia bucal (Serra e Silva, 2005). A realização de estudos clínicos que possam testar esses materiais em regiões receptoras de implantes dentais é necessária para que se possa avaliar de forma precisa a sua aplicabilidade.

Quando os períodos de sacrifício foram comparados, o CO não mostrou diferenças significativas com o aumento do tempo, independentemente da utilização de material ou de laser. Tal observação encontra relação com os princípios de carga precoce, amplamente discutidos na área de implantodontia, pois observou-se que, embora a formação óssea continuasse, como evidenciado pelos valores de AO que aumentaram significativamente com o tempo, o contato ósseo final para um período de reparo estimado de 6 semanas no coelho já havia sido conseguido no período de 3 semanas, independente do uso do material e do laser.

Os dados obtidos em nosso estudo, considerando-se as limitações inerentes aos estudos em modelos animais, indicam a necessidade de futuros estudos laboratoriais e clínicos que possam colaborar na completa elucidação dos fatores relacionados à utilização dos lasers de baixa intensidade como bioestimuladores do processo de reparo ósseo ao redor de implantes de titânio e à aplicação clínica dos cimentos de fosfato de cálcio como material de reconstrução prévia à instalação de implantes de titânio.

7. CONCLUSÕES

7.1.. A aplicação da radiação laser de baixa intensidade mostrou-se eficiente para aumentar o contato ósseo de implantes de titânio inseridos em tíbias de coelho, instalados em áreas tratadas ou não com um substituto ósseo.

7.2. No modelo experimental utilizado, o substituto ósseo utilizado (cimento de fosfato de cálcio) apresentou comportamento semelhante ao grupo coágulo, tanto para o contato ósseo quanto para a área de osso no interior das roscas.

8. REFERÊNCIAS

1. Albrektsson T, Dahl E, Enbom L, Engevall S, Engquist B, Eriksson AR *et al.* Osseointegrated oral implants: A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobel-Pharma implants. **J Periodontol.** 1988; 59(5):287-96.
2. Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. A longterm follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1990; 5(4): 347-59.
3. Argento MA. **Estudo de poli ácidos lácticos, ET, complexados à hidroxiapatita ou matriz de proteína óssea: in vitro, em ratos e humanos** [tese]. Campinas: Unicamp/IB; 2004.
4. Arnabat-Dominguez J, Espana-Tost AJ, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Erbium:YAG laser application in the second phase of implant surgery: a pilot study in 20 patients. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 2003; 18(1): 104-12.
5. Becker W, Schenk R, Higuchi K, Lekholm U, Becker BE. Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1995; 10(2): 143-154.
6. Blay A. **Efeitos da radiação laser em baixa intensidade no mecanismo de osseointegração de implantes: estudo “in vivo”** [dissertação]. São Paulo: USP/FO; 2001.
7. Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intraosseus anchorage of dental prostheses I – experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg.** 1969; 3(3): 81-100.
8. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallén O *et al.* Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. **Scand J Plast Reconstr Surg,** 1977; 11:1-132 (Suppl 16).

9. Burr DB, Mori S, Boyd RD, Sun TC, Blaha JD, Lane L *et al.* Histomorphometric assessment of the mechanisms for rapid ingrowth of bone to HA/TCP coated implants. **J Biomed Mater Res.** 1993; 27(5):645-53.
10. Buzza EP. **Avaliação histológica e biomecânica da ação da eletroterapia sobre o processo de reparo ósseo junto a implantes de titânio inseridos em tíbias de coelhos** [tese]. Piracicaba: Unicamp/FOP; 1999.
11. Cancian DC, Hochuli-Vieira E, Marcantonio RA, Garcia Junior IR. Utilization of autogenous bone, bioactive glasses, and calcium phosphate cement in surgical mandibular bone defects in *Cebus apella* monkeys. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 2004;19(1):73-9.
12. Castilho Filho T. **Avaliação biomecânica da ação da radiação laser em baixa intensidade no processo de osseointegração de implantes de titânio inseridos em tíbia de coelhos** [dissertação]. São Paulo: USP/FO; 2003.
13. Cruz GA. **Microscopia eletrônica de varredura e microanálise de raio x aplicada ao estudo de substitutos ósseos** [dissertação]. Piracicaba: Unicamp/FOP; 2004.
14. Dickson KF, Friedman J, Buchholz JG, Flandry FD. The use of BoneSource hydroxyapatite cement for traumatic metaphyseal bone void filling. **J Trauma.** 2002;53(6):1103-8.
15. Dortbudak O, Haas R, Mallath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. **Clin Oral Implants Res.** 2000; 11(6): 540-5.
16. Dortbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. **Clin Oral Implants Res.** 2002; 13(3):288-92.
17. Freitas IGF. **Ação do laser de HeNe na osteogênese** [tese]. Campinas: Unicamp/FEEC; 2001

18. Gosain AK, Song L, Riordan P, Amarante MT, Nagy PG, Wilson CR *et al.* Part I: a one-year study of osteoinduction in hydroxyapatite-derived biomaterials in an adult sheep model. **Plast Reconstr Surg.** 2002; 109 (2);619-30.
19. Gosain AK, Riordan PA, Song L, Amarante MT, Kalantarian B, Nagy PG *et al.* A 1-year study of hydroxyapatite-derived biomaterials in an adult sheep model: III. Comparison with autogenous bone graft for facial augmentation. **Plast Reconstr Surg** 2005; 116(4): 1044-52.
20. Guzzardella GA, Torricelli P, Nicoli-Aldini N, Giardino R. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an *in vivo* comparative study. **Clin Oral Implants Res.** 2003; 14(2): 226-32.
21. Hamajima S, Hiratsuka K, Kiyama-Kishikawa M, Tagawa T, Kawahara M, Ohta M *et al.* Effect of low-level laser irradiation on osteogenic gene expression in osteoblasts. **Lasers Med Sci.** 2003; 18 (2): 78-82.
22. Henry PJ, Tan AE, Leavy J, Johansson CB, Albrektsson T. Tissue regeneration in bony defects adjacent to immediately loaded titanium implants placed into extraction sockets: a study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 1997; 12(6): 758-66.
23. Jayawardena JA, Kato J, Moriya K, Takagi Y. Pulpal response to exposure with Er:YAG laser. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2001; 91(2); 222-9.
24. Junqueira LC, Carneiro J. **Histologia básica.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1999. 390p.
25. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: na experimental study in rabbits. **Clin Oral Implants Res.** 2004; 15(3): 325-32.
26. Khadra M, Lyngstadaas SP, Haanaes HR, Mustafa K. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human

- osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. **Biomaterials**. 2005; 26(17): 3503-9.
27. Kucerová H, Dostalová T, Himmlová L, Bartová J, Mazánek J. Low-level laser therapy after molar extraction. **J Clin Laser Med Surg**. 2000; 18(6):309-15.
 28. LeGeros RZ, Chohayeb A, Shulman A. Apatitic CaP: possible restorative materials. **J Dent Res**. 1982; 61: 343. Abstract.
 29. LeGeros RZ. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clin Orthoped Related Res**, 2002; (395): 81-98.
 30. Lindhe J. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1997. 720p.
 31. Lu JX, Gallur A, Flautre B, Anselme K, Descamps M, Thierry B *et al*. Comparative study of tissue reactions to calcium phosphate ceramics among cancellous, cortical, and medullar bone sites in rabbits. **J Biomed Mater Res**. 1998; 42(3):357-67.
 32. Magee WP Jr, Ajkay N, Freda N, Rosenblum RS. Use of fast-setting hydroxyapatite cement for secondary craniofacial contouring. **Plast Reconstr Surg**. 2004; 114(2):289-97.
 33. Moghadam HG, Sándor GK, Holmes HH, Clokie CM. Histo-morphometric evaluation of bone regeneration using allogeneic and alloplastic bone substitutes. **J Oral Maxillofac Surg**. 2004; 62(2): 202-13.
 34. Mordenfeld MH, Johansson A, Hedin M, Billstrom C, Fyrberg KA. A retrospective clinical study of wide-diameter implants used in posterior edentulous areas. **Int J Oral Maxillofac Implants**. 2004;19(3):387-92.
 35. Myers TD, McDaniel JD. The pulsed Nd:YAG dental laser: review of clinical applications. **J Calif Dent Assoc**. 1991; 19(11): 25-30.
 36. Peltola MJ, Aitasalo KM, Suonpaa JT, Yli-Urpo A, Laippala PJ, Forsback AP. Frontal sinus and skull bone defect obliteration with three synthetic bioactive materials. A comparative study. **J Biomed Mater Res**. 2003; 66B(1):364-72.

37. Piecuch JF. Extraskelatal implantation of a porous hydroxyapatite ceramic. **J Dent Res.** 1982; 61(12): 1458-60.
38. Pinheiro AL, Limeira Junior FA, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA *et al.* Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. **J Clin Laser Med Sur.** 2003; 21(5): 301-6.
39. Rabelo LRS. **Estudo comparativo de materiais de preenchimento ósseo sobre o processo de regeneração óssea guiada em defeitos perimplantares. Análise histológica e histométrica em fêmur de coelhos** [tese]. Piracicaba: Unicamp/FOP; 2001.
40. Roberts E. Bone physiology and metabolism. **J Calif Dent Assoc.** 1987; 15(10): 54-61.
41. Rupprecht S, Merten HA, Kessler P, Wiltfang J. Hydroxyapatite cement (BoneSource) for repair of critical sized calvarian defects--an experimental study. **J Craniomaxillofac Surg.** 2003; 31(3):149-53.
42. Sardinha SCS. **Efeito de três tipos de substitutos ósseos sobre a osseointegração primária de implantes endósseos. Avaliação histológica em tíbias de coelhos** [tese]. Piracicaba: Unicamp/FOP; 2001.
43. Serra e Silva FM. **Avaliação clínica e histológica da eficácia de enxerto heterógeno orgânico bovino associado à proteína óssea morfogenética de embrião bovino em cirurgia de levantamento de seio maxilar** [dissertação]. Piracicaba: Unicamp/FOP; 2005.
44. Shibli JA, Martins MC, Theodoro LH, Lotufo RF, Garcia VG, Marcantonio EJ. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. **J Oral Sci.** 2003; 45(1): 17-23.
45. Shimazaki K, Mooney V. Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute. **J Orthop Res.** 1985; 3(3):301-10.
46. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. **Int J Oral Maxillofac Surg.** 1988; 17(6): 388-91.

47. Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low power laser. **Laser Surg Med**. 1987; 7(1): 36-45.
48. Tuboy AM. **A física do laser: uma breve introdução**. São Carlos: Bons Negócios; 2002.
49. Wong SF, Wilder-Smith P. Pilot study of laser effects on oral mucositis in patients receiving chemotherapy. **Cancer J**. 2002; 8(3): 247-54.
50. Yamagishi H, Shinohara C, Saito S, Sasaki H, Kanegae H, Shibasaki Y. A basic study on the use of penetrative sensitivity on living tissue. **J Jpn Soc Laser Dent**. 1994; 5(1): 13-22.

ANEXOS



**Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP**

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 688-2, sobre "ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS REALIZADOS SOBRE SUBSTITUTO ÓSSEO SUBMETIDO A LASERTERAPIA" sob a responsabilidade de Prof. Dr. Roger William Fernandes Moreira / Cecília Luiz Pereira 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 05 de Agosto de 2004.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 688-2, entitled "HISTOMORPHOMETRIC ANALYSIS OF OSSEOINTEGRATED IMPLANTS REFORMED ON BONE SUBSTITUTE SUBJECTED TO LASER THERAPY", 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 August 5, 2004.

Prof. Dra. Liana Verinaud
Presidente

Campinas, 05 e Agosto de 2004.

Fátima Alonso
Secretária

São Carlos, 06 de Outubro de 2005.

Prezado Cliente,

Venho por meio desta carta informar que o seguinte equipamento modelo **Twin Laser Odonto Completo** de número de série **T1113**, está conforme os padrões estabelecidos pela empresa.

Foram realizados os seguintes testes:

- Funcionamento – Tem como objetivo avaliar o funcionamento geral do equipamento sendo eles: botões e programa.
- Potência – Tem como objetivo verificar se a potência fornecida pelo equipamento está dentro da tolerância estipulada.



André Marini
MM Optics Ltda