

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE DOUTORADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRÓTESE DENTÁRIA**

**ROBERTO MAKOTO SUZUKI**

**TORQUE DE REMOÇÃO DE IMPLANTES LISOS E TEXTURIZADOS COM E  
SEM ESTABILIDADE PRIMÁRIA ASSOCIADOS OU NÃO AO PLASMA RICO  
EM PLAQUETAS**

**PORTO ALEGRE**

**2007**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE DOUTORADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRÓTESE DENTÁRIA**

**TORQUE DE REMOÇÃO DE IMPLANTES LISOS E TEXTURIZADOS COM E SEM ESTABILIDADE PRIMÁRIA ASSOCIADOS OU NÃO AO PLASMA RICO EM PLAQUETAS**

**ROBERTO MAKOTO SUZUKI**

**Tese a ser apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do título de Doutor em Odontologia – Área de Concentração em Prótese Dentária pela Faculdade de Odontologia da PUCRS**

**LINHA DE PESQUISA: Biomateriais em Odontologia**

**Orientador: Prof. Dr. Eduardo Rolim Teixeira**

**Porto Alegre/RS, 2007**



Aos meus pais, aos meus irmãos pela compreensão, apoio e carinho.  
À minha namorada pelas alegrias, pelo apoio e pelo seu amor.  
Aos amigos que foram fundamentais nos momentos mais difíceis da minha vida  
pessoal.



*AGRADECIMENTOS*

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao meu orientador **Prof. Dr. Eduardo Rolim Teixeira**, pela paciência, pela compreensão, pelo apoio e pela amizade nesses momentos mais difíceis de minha vida pessoal e pela oportunidade de adquirir conhecimentos que foram fundamentais para a realização deste trabalho e para as futuras realizações profissionais e pessoais. Sou muitíssimo grato.

## AGRADECIMENTOS

À mestre amiga **Maria Tereza Fasolo** pela oportunidade de conviver, pelo apoio incondicional, pelo carinho, pela amizade, por ter sido fundamental na minha vida pessoal e profissional. Sou eternamente grato.

Ao **Prof. Dr. Élio Mezzomo**, pela amizade, pelo apoio, pelas lições de vida, pela oportunidade de aprimorar profissionalmente e cientificamente.

Às **Profs. Dras. Susana M. Werner Samuel e Antonieta Lopes de Souza** pela iniciação e crescimento científico, pelo apoio, pelo carinho, pela atenção e orientações.

Aos amigos pessoais **André Simão, Cristiano Susin, Maurício Hammes, Rodrigo Teixeira de Sousa e Sérgio Duarte Andrade** pela amizade, apoio e companheirismo nos momentos mais difíceis da minha vida.

Ao amigo pessoal **Laerte Balduino Schenkel** pela amizade, pelo apoio pelo conhecimento e companheirismo nos momentos importante da minha vida.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, na pessoa do **Prof. Marcos Túlio Mazzini de Carvalho**, diretor da Faculdade de Odontologia.

À **Prof. Dra. Nilza Pereira da Costa** pela oportunidade do seu convívio sempre enriquecedor científica e pessoalmente, pela atenção, pelo carinho, pelo seu empenho no curso de pós-graduação.

À **Prof. Dra. Rosemary Shinkai** pelos ensinamentos, pelo apoio, pelo carinho, pela competência e empenho em todos os momentos.

Ao **Prof. Dr. Eduardo Gonçalves Mota e Prof. Dr. Márcio Lima Grossi**, pelos ensinamentos, pelo apoio, e pelas contribuições a esse trabalho através de suas considerações como membros da banca de qualificação.

Aos demais professores do curso de pós-graduação em Odontologia, doutorado com ênfase em Prótese Dentária pelo conhecimento, disponibilidade, competência, coerência e carinho.

Aos colegas de doutorado **Marcos Michelin Naconecy, Celso Lacroix, Alexandre Bahlis, Válber, Paulo Maccari** pelo convívio, pelo companheirismo, pela amizade, pelo apoio e pelo incentivo profissional e pessoal.

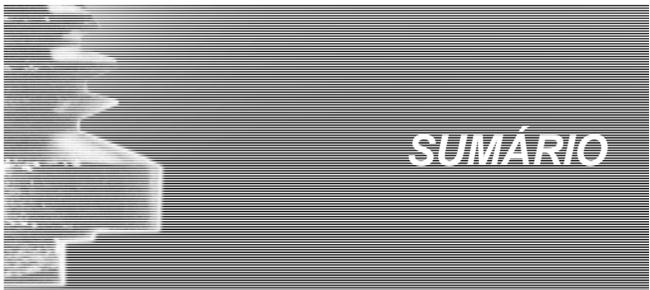
Aos colegas **Eduardo de Lima Fernandes, Ieda Levenzon Unikowski e João Paulo Ferreira** pelo auxílio na elaboração e execução desse trabalho, através de seus estudos e esclarecimentos pessoais.

À Médica Veterinária **Luisa de Macedo Braga** e ao Farmacêutico Bioquímico **Matheus Pereira Valente** pelo empenho, pela eficiência, pela amizade, pela disponibilidade e boa vontade na execução desse trabalho.

À **Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – Divisão de Produção e Experimentação Animal** pela oportunidade de realizar o experimento do presente estudo.

À empresa **Conexão Sistemas de Prótese** pelos implantes disponibilizados que foram fundamentais para a realização do presente estudo. Um especial agradecimento por tornar viável a execução do mesmo.

A todos que de forma direta ou indireta colaboraram na realização do presente trabalho.



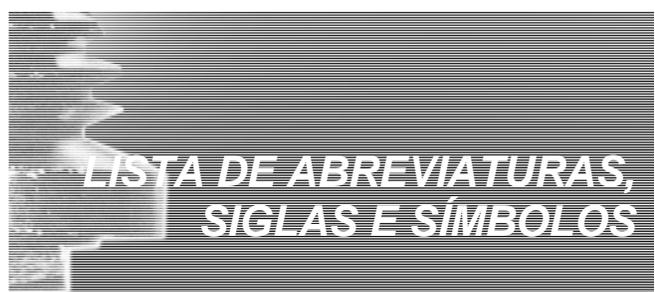
*SUMÁRIO*

## SUMÁRIO

	Páginas
<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>2- PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>26</b>
2.1- Objetivo Geral.....	27
2.2- Objetivos Específicos.....	27
<b>3- REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>28</b>
3.1- Plaquetas e os fatores de crescimento.....	29
3.2- Plasma rico em plaquetas (PRP).....	32
3.3- Osteointegração de implantes de titânio e plaquetas.....	34
3.4- Tratamento de superfície e osteointegração.....	37
3.5- Estabilidade primária e osteointegração.....	42
3.6 – Tempo de osteointegração para remoção por torque.....	43
3.7- Amostra de coelhos.....	44
<b>4-METODOLOGIA.....</b>	<b>45</b>
4.1 - Local do experimento.....	46
4.2 - Amostra de coelhos.....	46
4.3 - Amostra de implantes.....	46
4.4 – Grupos experimentais.....	47
4.5 - Procedimentos pré-operatórios.....	48
4.5.1 - Sedação e anestesia.....	48
4.5.2 - Tricotomia para coleta de sangue.....	49
4.5.3 - Tricotomia para colocação de implantes.....	49
4.6 - Procedimentos para o preparo do prp (plasma rico em plaquetas) e contagem de plaquetas.....	49
4.6.1 - Coleta de sangue para preparo do PRP.....	49

4.6.2 - Preparo do PRP.....	50
4.6.3 - Obtenção do gel-PRP.....	51
4.6.4 - Contagem de plaquetas.....	52
4.7 - Procedimentos cirúrgicos.....	52
4.7.1 - Incisão para colocação dos implantes.....	52
4.7.2 - Protocolo cirúrgico de colocação de implantes.....	54
4.8 - Fase pós-cirúrgica.....	68
4.8.1 - Sacrifício dos animais.....	68
4.8.2 - Mensuração do torque de remoção dos implantes.....	68
4.9 - Tratamento estatístico dos dados.....	70
5 – RESULTADOS.....	71
5.1 – Concentração de plaquetas no PRP .....	72
5.2 – Medidas de remoção por torque .....	72
5.2.1 – remoção por torque entre os seis grupos experimentais.....	72
5.2.2 – Remoção por torque nos implantes lisos.....	73
5.2.3 – Remoção por torque nos implantes texturizados.....	74
5.2.4 – Comparação da remoção de torque entre implantes lisos e texturizados.....	75
5.2.5 – Remoção de torque em função da estabilidade primária e do PRP.....	76
6 – DISCUSSÃO.....	78
6.1 – Metodologia.....	79
6.2 – Resultados.....	83
7 – CONCLUSÕES.....	92
REFERÊNCIAS .....	94

<b>ANEXO.....</b>	<b>105</b>
<b>ANEXO 1 – Pesagem dos coelhos ao longo do experimento.....</b>	<b>106</b>
<b>ANEXO 2 – Aprovação do projeto de tese Pela Comissão Científica e Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS.....</b>	<b>108</b>
<b>ANEXO 3 – Normas para a prática didático-científica da vivisseccção de animais.....</b>	<b>110</b>
<b>ANEXO 4 – Solicitação e autorização da coordenação de produção e experimentação animal da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS).....</b>	<b>114</b>
<b>ANEXO 5 – Certificado de calibração do torquímetro.....</b>	<b>116</b>



*LISTA DE ABREVIATURAS,  
SIGLAS E SÍMBOLOS*

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - por cento

µm- micrometro

µl- microlitro

®- marca registrada

nm – nanometro

ANOVA – *Analisis of variance* - análise de variância

ADP – adenosina difosfato

PRP – *platelet-rich plasma* - plasma rico em plaquetas

± - mais ou menos

Ncm- Newton por cm

MI- machined implants

SBAE- sandblasted/acid-etched

mm - milímetro

cm- centímetro

ml- mililitro

nº – número

plaquetas/ µl – plaquetas por microlitro

mm<sup>3</sup>- milímetro cúbico

FIG – figura

Ca<sup>2+</sup>- cálcio

ATP- adenosina trifosfato

COI- percentual de contato osso implante

FEPPS- Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde

DPEA- Divisão de Produção e Experimentação Animal

kg- quilograma

mg/kg- miligrama por quilograma

1:1- proporção de um para um

rpm- rotações por minuto

**g** - símbolo de aceleração da gravidade

**X1000/  $\mu$ l** – vezes 1000 por microlitro

**PDGF** - *platelet-derived growth factor*

**PDGF<sub>aa</sub>**- *platelet-derived growth factor aa*

**PDGF<sub>bb</sub>**- *platelet-derived growth factor bb*

**PDGF<sub>ab</sub>**- *platelet-derived growth factor ab*

**BMP**- *bone morphogenetic protein*

**ILG<sub>1</sub>** - *insulin-like growth factor 1*

**ILG<sub>2</sub>** – *insulin-like growth factor 2*

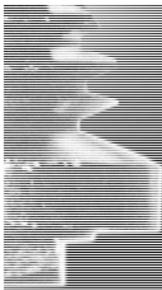
**VEGF** – *vascular endothelial growth factor*

**EGF** – *epithelial growth factor*

**TGF** – *transforming growth factor*

**TGF <sub>$\beta$ 1</sub>** – *transforming growth factor*

**TGF <sub>$\beta$ 2</sub>** – *transforming growth factor*



*LISTA DE FIGURAS E  
TABELAS*

## LISTA DE FIGURAS

Figuras	Descrição da figura	Página
Figura 1	Sangue estratificado para obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) após a centrifugação	51
Figura 2	Incisão realizada na face medial da tíbia	53
Figura 3	Deslocamento do perióstio na face medial da tíbia	54
Figura 4	Perfuração da cortical óssea com broca em forma de lança e mensuração da distância entre implantes durante as perfurações	55
Figura 5	Localização das três perfurações realizadas nas tíbias	56
Figura 6	Aumento da perfuração com broca 2,0	57
Figura 7	Aumento da perfuração com broca 2,8	58
Figura 8	Aplicação do formador de rosca nos sítios	59
Figura 9	Sítios cirúrgicos após o preparo das roscas	60
Figura 10	Inserção do implante no sítio cirúrgico	61
Figura 11	Confirmação da presença ou ausência de estabilidade primária	62
Figura 12	Plasma rico em plaquetas preparado para aplicação nos sítios cirúrgicos nos grupos 3 e 6	63
Figura 13	Colocação do PRP no sítio cirúrgico nos grupos 3 e 6	64
Figura 14	Colocação da tampa de cicatrização	65
Figura 15	Sutura terminada após a instalação dos implantes	66
Figura 16	Aplicação de <i>spray</i> bactericida na área operada	67
Figura 17	Aplicação de torque de remoção nos implantes	69

## LISTA DE TABELAS

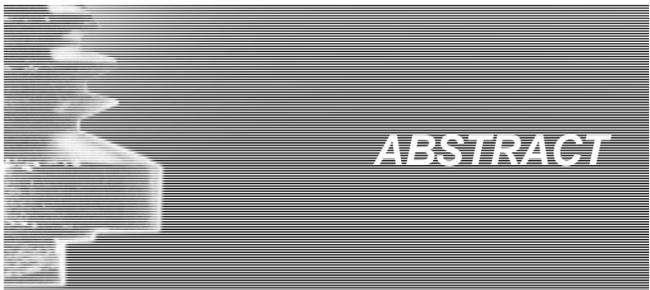
TABELAS	Páginas
Tabela 1- Grupos experimentais do estudo e amostra de implantes e coelhos	47
Tabela 2 – Concentração de plaquetas na amostra de controle, no PRP (plasma rico em plaquetas) e a percentagem de aumento da concentração de plaquetas do PRP em relação a amostra controle	72
Tabela 3- Valores de remoção por torque dos grupos experimentais, média e desvio-padrão, mínimo e máximo em Ncm	73
Tabela 4- Análise de variância múltipla dos grupos	73
Tabela 5- Valores de remoção por torque entre os grupos de implantes lisos	74
Tabela 6- Análise de variância múltipla nos grupos com implantes lisos	74
Tabela 7- Valores de remoção por torque entre os grupos de implantes texturizados	75
Tabela 8- Análise de variância múltipla nos grupos com implantes texturizados	75
Tabela 9- Comparação entre texturas para cada condição local e para o geral	76
Tabela 10- Comparação entre condições experimentais em função da estabilidade primária e PRP	76
Tabela 11- Análise de variância múltipla para os fatores textura, condição local e interação textura/condição local	77
Tabela 12 – Valores de remoção de torque do presente estudo e do estudo de Fernandes (2003)	87
Tabela 13 – Peso em quilogramas dos coelhos em momentos do experimento	107



## RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o torque de remoção de implantes lisos e texturizados sem estabilidade primária associados a plasma rico em plaquetas. Foi utilizado um total de sete coelhos fêmeas, brancas da raça Nova Zelândia Branco (*Oryctolagus cuniculus I.*). Em cada coelho foram instalados 6 implantes, 3 para cada tibia, de acordo com os seguintes grupos experimentais: 1- implante liso com estabilidade primária e sem PRP (plasma rico em plaquetas); 2- implante liso sem estabilidade primária e sem PRP; 3- implante liso sem estabilidade primária e com PRP; 4- implante texturizado com estabilidade primária e sem PRP; 5- implante texturizado sem estabilidade primária e sem PRP; 6- implante texturizado sem estabilidade primária e com PRP. Os protocolos cirúrgicos foram aplicados de acordo com cada grupo experimental e após um período de 9 semanas, os animais foram mortos. Logo após a morte dos animais, a mensuração do torque de remoção foi realizada. As médias dos grupos foram: grupo 1, 53,01 Ncm ( $\pm 9,68$ ); grupo 2, 45,29 Ncm ( $\pm 16,90$ ); grupo 3, 43,43 Ncm ( $\pm 16,70$ ); grupo 4, 56,60 Ncm ( $\pm 16,00$ ); grupo 5, 46,89 Ncm ( $\pm 15,60$ ) e grupo 6, 48,49 Ncm ( $\pm 17,06$ ). Os dados foram analisados através da Análise de Variância Múltipla, utilizando o delineamento em blocos casualizados que demonstrou não haver diferença estatística entre os grupos ao nível de 5% nas condições experimentais estabelecidas. As distintas condições experimentais não foram capazes de promover diferença no torque de remoção.

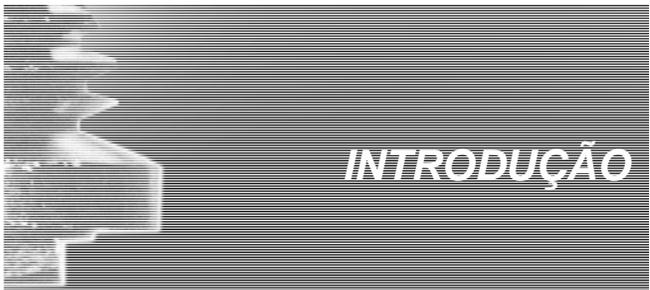
Palavras-chave: implantes dentários, plasma rico em plaquetas, osseointegração



## ABSTRACT

Rough implant surfaces and platelet-rich plasma are thought to enhance titanium osseointegration. Torque removal forces have been used as a biomechanical measurement of endosseous integration or bone anchorage, in which higher forces required to remove implants from the bone may be interpreted as an increase in the strength of bony integration. The purpose of this study was to evaluate the effect of primary stability of machined implants (MI) and sandblasted/acid-etched (SBAE) titanium implants associated with platelet-rich plasma (PRP) on the resistance to reverse torque removal. These factors were evaluated in six groups: 1- MI with primary stability and without PRP; 2- MI without primary stability and without PRP; 3- MI without primary stability and with PRP; 4- SBAE with primary stability and without PRP; 5- SBAE without primary stability and without PRP; 6- SBAE without primary stability and with PRP. Forty two implants were inserted in seven adult New Zealand white rabbits (*Oryctolagus Cuniculus L.*). Three implants were inserted in each tibiae according to the above described groups. After a healing period of 9 weeks the animals were sacrificed and the implants were removed by reverse torque rotation with a digital torque-measuring device. Mean torque values were: 1- 53,01 Ncm ( $\pm 9,68$ ); 2- 45,29 Ncm ( $\pm 16,90$ ); 3- 43,43 Ncm ( $\pm 16,70$ ); 4- 56,60 Ncm ( $\pm 16,00$ ); 5- 46,89 Ncm ( $\pm 15,60$ ) and 6- 48,49 Ncm ( $\pm 17,06$ ), respectively. No significant difference was detected among the groups ( $p > 0,05$ ). In this study it was not possible to demonstrated a statistically significant improved stability of implants subjected to PRP and texturized implants as compared to other groups.

Key words: dental implants, platelet-rich plasma, osseointegration



## 1. INTRODUÇÃO

A reabilitação de pacientes desdentados foi enormemente beneficiada pelo desenvolvimento e aprimoramento dos implantes de titânio. Através deles a ancoragem direta entre o implante e o tecido ósseo denominada de osseointegração foi obtida com sucesso. Em condições ideais, os implantes podem promover retenção, estabilidade e suporte de próteses dentárias totais ou parciais, fixas ou removíveis com qualidade comparável aos dentes naturais (ADELL *et al.*, 1981, BUSER *et al.*, 1998 e BAHAT 2000).

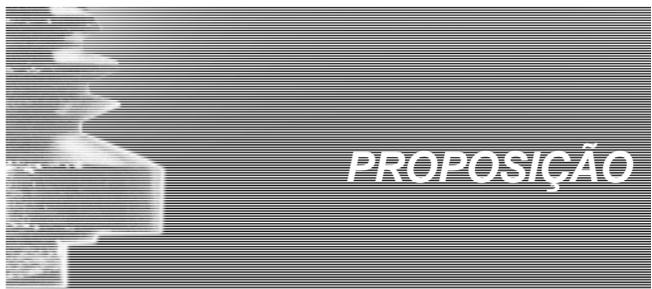
Os estudos longitudinais têm revelado uma nova realidade reabilitadora através dos implantes, com resultados previsíveis e longevidade clínica, promovendo o conforto e a funcionalidade aos pacientes. Esse resultado tem sido alicerçado em protocolos criteriosos que envolvem a adequada seleção de pacientes, o planejamento prévio de todo o tratamento, a escolha do desenho e materiais dos implantes, a técnica cirúrgica e a reabilitação protética (BUSER *et al.*, 1998 e BAHAT 2000).

Nesse contexto, a obtenção de estabilidade primária e a inserção em tecido ósseo com adequada densidade foram definidos são condições primordiais em protocolos cirúrgicos que almejam altos índices de sucesso. A inserção de implantes lisos em osso de baixa qualidade estrutural pode dificultar a obtenção de uma osseointegração compatível com funcionalidade e longevidade clínica (JAFFIN e BERMAN, 1991, SULLIVAN, SHERWOOD e MAI, 1997, MEREDITH, 1998, STACH e KOHLES, 2003, KELLER, *et al.*, 2004 e HERMANN, *et al.*, 2001).

Jaffin e Berman, 1991, observaram taxa de perda de implantes em osso de baixa qualidade (tipo 4) de até 44% e 37%, em maxila e região posterior da mandíbula, respectivamente. Sullivan, Sherwood e Mai, 1997, observaram que a taxa de sucesso pode diferir de um osso com qualidade excelente ou boa, segundo a classificação de Brånemark, de 100% e 98,8% respectivamente, para

um índice de 63,6% em osso de baixa ou pobre qualidade. A necessidade de superar o desafio inerente a condições ósseas locais desfavoráveis fez com que os pesquisadores envolvidos em Implantodontia buscassem e desenvolvessem novos conhecimentos, técnicas e tecnologia. A texturização superficial dos implantes e a associação de plasma rico em plaquetas são exemplos de inovações que buscam elevar a qualidade da ancoragem óssea final de implantes instalados em tecido ósseo com características estruturais deficientes. A ação da texturização busca melhor desempenho principalmente, pelo aumento da superfície de contato entre implante e osso. Ainda, o plasma rico em plaquetas (PRP) tem um princípio de ação que almeja a otimização do processo de maturação e formação óssea através da ação concentrada de fatores de crescimento (TRIPLETT, SCHOW e LASKIN, 2000, PHILIPPART, *et al.*, 2003, STACH e KOHLES, 2003, WEIBRICH, *et al.*, 2005, MARX e GARG, 2005).

Cabe analisar o efeito específico desses recursos auxiliares na obtenção da osseointegração em busca de esclarecimento sobre sua possível ação na estabilidade final dos implantes em condições ósseas adversas. Para tanto, a mensuração do torque de remoção de implantes em animais cobaias é um dos recursos para análise desse comportamento descrito pela literatura científica (BUSER *et al.*, 1998, CORDIOLI *et al.*, 2000, CHO e PARK, 2003, FERNANDES, 2003, SENNERBY *et al.*, 2005).



## **2.PROPOSIÇÃO**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

O objetivo desse estudo foi o de avaliar o torque de remoção de implantes lisos e texturizados com e sem estabilidade primária associados ou não ao plasma rico em plaquetas.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Comparar o torque de remoção em função de diferentes associações entre os fatores: presença ou ausência de estabilidade primária; aplicação ou não de plasma rico em plaquetas (PRP) e utilização de implantes lisos ou texturizados.
- b) Comparar o torque de remoção dos grupos com implantes lisos entre si
- c) Comparar o torque de remoção dos grupos com implantes texturizados entre si
- d) Comparar o torque de remoção entre os grupos com implantes lisos e texturizados
- e) Comparar o torque de remoção em função da ausência ou presença de estabilidade primária e aplicação ou não do PRP;



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 - PLAQUETAS E OS FATORES DE CRESCIMENTO:

As plaquetas são oriundas da fragmentação do megacariócito formado no sistema hematopoético da medula óssea. Cada megacariócito pode formar de 2 a 3 mil plaquetas. A plaqueta tem a forma discóide com tamanho de aproximadamente 2  $\mu\text{m}$ . A vida celular das plaquetas dura de 7 a dez dias. São desprovidos de núcleo, porém, a sua atividade metabólica é extremamente ativa. As plaquetas sintetizam fatores de crescimento durante todo o período de sua vida e secretam esses fatores em resposta ao processo de coagulação. Esses fatores de crescimento são mediadores biológicos naturais que atuam regulando eventos celulares envolvidos no reparo tecidual. Há fatores de crescimento e de diferenciação que podem ser específicos a processos chaves como a mitogênese, a quimiotaxia, a diferenciação e o metabolismo que são etapas essenciais no processo de osteogênese (MARX, CARLSON e EICHSTAEDT, 1998; GARTNER e HIATT (a), 1999; WEIBRICH *et al.*, 2005 e MARX e GARG, 2005).

As vesículas em seu interior são compostas de três tipos de grânulos: lisossômicos, densos e “Alfa”. Os grânulos lisossômicos armazenam as enzimas lisossômicas que atuam na fase de cicatrização, principalmente, na eliminação do tampão hemostático. Nos grânulos densos, a adenosina difosfato (ADP) é armazenada e secretada. Esse ADP será um importante ativador e recrutador de outras plaquetas. Nos grânulos “Alfa”, são armazenados os fatores de crescimento que são mantidos em uma forma incompleta e bio-inativa. Os fatores de crescimento contidos nesses grânulos são constituídos de três tipos de isômeros de fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF) que são encontrados em formas distintas: PDGF<sub>aa</sub>, PDGF<sub>bb</sub> e PDGF<sub>ab</sub>; isômeros de fator de crescimento de transformação (TGF) denominado de fator “Beta” que se apresentam em distintas formas: TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, TGF $\beta$ 3, TGF $\beta$ 4 e TGF $\beta$ 5; um

fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e um epitelial (EGF). Os grânulos “Alfa” são ricos em uma molécula de adesão celular denominada de , “vitronectina”, que é requerida no processo de osteocondução e osseointegração (MARX *et al.*, 1998; GARTNER e HIATT (a), 1999; WEIBRICH *et al.*, 2005 e MARX e GARG, 2005).

As plaquetas participam da cicatrização natural de acordo com o seu número presente na circulação sanguínea. A sua atuação pode ser otimizada quando a sua concentração é aumentada, plasma rico em plaquetas (PRP). Independente da concentração de plaquetas, o processo de coagulação é que ativa a secreção dos fatores de crescimento. A ativação do processo de coagulação é associada à mudança de estrutura no sistema da membrana plaquetária e resulta na ativação da secreção dos fatores de crescimento dos grânulos “Alfa”. O processo de coagulação induz a migração dos grânulos “alfa” para a superfície celular onde são ativados e posteriormente secretados (MARX *et al.*, 1998; GARTNER e HIATT (a), 1999; MARX e GARG, 2005 e WEIBRICH *et al.*, 2005).

Esses fatores de crescimento secretados pelas plaquetas (PDGF $\alpha$ , por exemplo) têm dois sítios ativos denominados de “*dimers*”. Eles se conectam apenas em células que apresentam os respectivos receptores transmembranosos para acomodá-los. Esses receptores captam a informação externa e emitem uma proteína que conduzirá um sinal informando ao núcleo o produto a ser fabricado pela célula. Para que isso ocorra, o sinal ativa genes específicos que regularão a célula para realizar a função indicada: síntese de colágeno, produção de tecido osteóide, por exemplo (MARX *et al.*, 1998; GARTNER e HIATT (a), 1999; MARX e GARG, 2005 e WEIBRICH *et al.*, 2005).

O PDGF, fator de crescimento derivado de plaquetas, é o primeiro fator de crescimento a estar presente na ferida. Ele inicia o processo de cicatrização do tecido conjuntivo e participa do processo de regeneração e reparo ósseo. Ele é sintetizado nos grânulos alfa das plaquetas e também, é sintetizado por macrófagos e células endoteliais, monócitos e fibroblastos. Dentre as atividades específicas do PDGF estão a mitogênese, produz aumento no número de células

reparadoras; angiogênese, possibilita o desenvolvimento de novos capilares e a regulação de outros fatores de crescimento responsáveis pela ação fibroblástica e osteoclástica bem como, diferenciação celular de células mesenquimais. O PDGF realiza a quimiotaxia de monócitos e macrófagos, bem como, ativa a colagenase no final da cicatrização da ferida. (MARX *et al.*, 1998; GARTNER e HIATT (b), 1999; MARX e GARG, 2005 e WEIBRICH *et al.*, 2005)

A constituição básica do PDGF é formada por duas cadeias de aminoácidos denominados de cadeia A e B. O PDGF age nas células alvo por meio de aglutinação de estruturas relacionadas a receptores da proteína tirosina cinase, receptores alfa e beta. Os receptores alfa ligam-se a cadeias A e B, no entanto, os receptores beta ligam-se somente a cadeia B. Os receptores alfa e beta, ambos, induzem a resposta mitogênica, porém, apenas o beta estimula os mediadores da quimiotaxia. A quimiotaxia de osteoblasto precursor é um dos eventos importantes envolvidos na formação óssea, indiretamente relacionados a ação dos receptores beta. Nesse contexto há um favorecimento da angiogênese pela ativação de macrófagos que secretam fatores que induzem as células endoteliais a formarem novos capilares (MARX, CARLSON e EICHSTAEDT, 1998; GARTNER e HIATT (a), 1999; GARG, VALCANIA e STEVÃO, FROUM *et al.*, 2002 e MARX e GARG, 2005).

A importância das plaquetas, no entanto, não se restringe à presença do PDGF como já foi descrito. Os fatores de crescimento beta (TGF $\beta$ ) presentes nas plaquetas têm papel fundamental no contexto de formação e regeneração óssea. E, estão presentes em alta concentração nas plaquetas, sendo 100 vezes maior a concentração de TGF $\beta$  nas plaquetas e no osso do que em qualquer outro tecido. O TGF $\beta$  possui cinco formas distintas denominadas: TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, TGF $\beta$ 3, TGF $\beta$ 4 e TGF $\beta$ 5. A quimiotaxia; a mitogênese dos precursores de osteoblastos; a estimulação da deposição da matriz de colágeno na cura da ferida e no osso; a inibição da formação de osteoclastos; inibição da reabsorção óssea e a desativação dos macrófagos; são descritos como as principais funções desses fatores de crescimento (MARX, CARLSON e EICHSTAEDT, 1998; WEIBRICH *et al.*, 2005; MARX e GARG, 2005). Especificamente, os TGF $\beta$ 1 e TGF $\beta$ 2 aumentam

a formação óssea através do aumento da taxa de proliferação de células progenitoras e da modulação da formação osteoclástica (WEIBRICH *et al.*, 2005; MARX e GARG, 2005).

Existem ainda os fatores de crescimento relacionados ao desenvolvimento de uma nova rede vascular e de camadas de células epiteliais que são os VEGF e EGF, respectivamente.

### **3.2 - PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP):**

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um concentrado de plaquetas autógenas em que a concentração pode se aproximar a 1.000.000 plaquetas/ $\mu$ l ou aumentar de 4 a 7 vezes a concentração normal de 200.000 plaquetas/ $\mu$ l. É obtido através de processo de centrifugação e separação por gradiente de densidade das células e componentes do sangue. O mecanismo de obtenção do PRP foi desenvolvido nos anos 80 e aprimorado nos anos 90 por autores que se preocuparam em otimizar a ação de fatores de crescimento como forma de favorecer a cicatrização de tecido mole e ósseo. Aumentando a concentração de plaquetas como no PRP estimava-se que haveria uma intensificação do reparo da ferida e da regeneração óssea. O PRP seria, então, um importante agente de aceleração do processo de cicatrização e formação óssea (MARX, CARLSON e EICHSTAEDT, 1998; GARTNER e HIATT (b), 1999; MARX e GARG, 2005 e WEIBRICH, *et al.*, 2005).

A literatura descreve alguns protocolos de obtenção de PRP. Um deles se baseia na coleta de sangue do paciente, variando de 400 a 450 ml, misturada a um anti-coagulante. A seguir a mistura é centrifugada a 5600 rpm (rotações por minuto) durante 10 minutos. Ao final da centrifugação são formados três distintos níveis de densidade. Os elementos mais densos constituídos de células vermelhas do sangue ficam no nível mais inferior do recipiente. A camada intermediária é constituída de plasma rico em plaquetas que contém as plaquetas e leucócitos. O

plasma pobre em plaquetas se encontra na camada mais superior (MARX, CARLSON e EICHSTAEDT, 1998; MARX e GARG, 2005).

A concentração de plaquetas obtidas ao final do processo é influenciada por alguns fatores: a - número total de plaquetas na amostra original; b - taxa de recuperação do sistema usado; c - volume final de plasma dentro do qual as plaquetas estão suspensas e d - velocidade de centrifugação. A média de plaquetas observadas no sangue em seres humanos está entre 111000 a 523.000/mm<sup>3</sup>, no entanto, o plasma rico em plaquetas pode aumentar o número de plaquetas em 338% obtendo números que oscilam de 595000 a 1.100.000/mm<sup>3</sup> (MARX, CARLSON e EICHSTAEDT, 1998 e WEIBRICH *et al.*, 2005). O sangue que preenche sítios de instalação de implante, alvéolos dentários após a exodontia ou uma área de enxerto ósseo é constituído de 94% de glóbulos vermelhos, 6% de plaquetas e apenas 1% de glóbulos brancos. O sangue com PRP é constituído por 94% de plaquetas, 5% de glóbulos vermelhos e 1% de glóbulos brancos. O aumento da concentração de plaquetas aumenta a concentração de fatores de crescimento contidos nessas células e dessa forma torna mais favorável o processo de cicatrização óssea ( MARX e GARG, 2005 ).

O aumento apenas da concentração de plaquetas não é suficiente para possibilitar a sua aplicação clínica. Trombina bovina e cloreto de cálcio são adicionados ao PRP tornando a consistência líquida em gel. A adição de cloreto de cálcio e trombina ao PRP tem a função de ativar as plaquetas gerando a liberação do conteúdo dos seus grânulos alfa. Eles iniciam o processo da coagulação convertendo o fibrinogênio em fibrina. A trombina e o cloreto de cálcio são componentes importantes no composto de PRP. Porém, o componente principal é sem dúvida a plaqueta. A razão dessa importância está nos fatores de crescimento presentes nas plaquetas já descritos. ( MARX e GARG, 2005 ).

### 3.3 - OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DE TITÂNIO E PLAQUETAS:

Uma vez que se cria uma “ferida óssea” no momento da instalação do implante, o organismo reage com uma seqüência de eventos que busca a reparação óssea. Imediatamente após a instalação dos implantes, há um espaço microscópico em diversos pontos na interface implante/osso. O preenchimento ósseo desses espaços em íntimo e direto contato com a superfície do implante promove a condição denominada de osseointegração. Esse processo de ossificação pode ser considerado similar ao observado na cicatrização de ossos fraturados, justapostos e estabilizados. Os implantes de titânio com alta pureza em contato com o ar criam uma camada de óxidos de 2 a 10  $\eta$ m que desempenha um papel importante na resistência à corrosão. O organismo reconhece essa camada como um material biocompatível e utiliza essa superfície como base para um processo osteogênico que estabelecerá a osseointegração (BRÅNEMARK, 1983 e SYKARAS *et al.*, 2000, FERREIRA, 2002).

Na cicatrização de um osso fraturado, a justaposição, a estabilização dos fragmentos, associado a uma reação inflamatória de baixa intensidade favorecem o processo de reparo. Nos implantes a justaposição, a estabilização e a baixa reação inflamatória, também, favorecem a “cicatrização óssea”, denominada de osseointegração (BRÅNEMARK, 1983; MASUDA *et al.*, 1998; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999; GARTNER e HIATT (b), 1999, FERREIRA, 2002).

Após a seqüência de perfurações, preparos ósseos e colocação do implante no seu leito, o processo de cicatrização inicia. O trauma cirúrgico provoca a instalação de um processo inflamatório de baixa intensidade caracterizada pela presença de granulócitos e plasmócitos. Assim, há o início do processo de migração celular em busca da formação do coágulo sanguíneo nas áreas em que não há uma perfeita adaptação entre as roscas do implante e a parede óssea preparada (MASUDA *et al.*, 1998 JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999 e GARTNER e HIATT (a), 1999, FERREIRA, 2002). A seguir ocorrerão os processos de

migração, diferenciação celular, formação óssea e remodelamento. Em todas estas etapas, as plaquetas terão um papel importante na evolução do processo de coagulação até o remodelamento ósseo. Uma vez que o revestimento endotelial dos vasos sanguíneos se rompe através das perfurações, as plaquetas entram em contato com o colágeno subendotelial e tornam-se ativas. Ativadas começam a liberar os conteúdos de seus grânulos e aderem-se à região lesada (adesão plaquetária) e aderem uma às outras (agregação plaquetária). A interação entre os fatores do tecido, os produzidos no plasma e os derivados das plaquetas formam o coágulo sanguíneo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999, GARTNER e HIATT (a), 1999, FERREIRA, 2002 e MARX e GARG, 2005).

Enquanto não existe ferida o endotélio dos vasos sanguíneos produz prostaciclina e NO<sub>2</sub> (óxido nítrico) que inibe a agregação plaquetária e bloqueia a coagulação, pela presença de trombomodulina e da molécula semelhante à heparina (“*heparin-like*”). Estas duas substâncias associadas à membrana inativam fatores específicos de coagulação. Uma vez lesadas, as células endoteliais liberam fator de Von Willebrand e tromboplastina tissular e cessam a produção e expressão dos inibidores da coagulação e da agregação plaquetária. E há, também, a liberação da endotelina que é um potente vasoconstritor que reduz a perda de sangue. A seguir, a ativação plaquetária dá início. Assim, as plaquetas aderem avidamente ao colágeno subendotelial, principalmente, na presença do fator Von Willebrand, liberam o conteúdo dos seus grânulos e aderem umas às outras. A adenosina difosfato (ADP) e a trombospondina são conteúdos liberados e tornam a plaqueta “viscosa”, conduzindo as plaquetas circulantes a aderir às plaquetas já ligadas ao colágeno e a degranular. Além disso, o ácido aracídico, formado no plasmalema da plaqueta ativada é convertido em tromboxano A<sub>2</sub> que é um potente ativador da plaqueta (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999, FERREIRA, 2002, GARTNER e HIATT (a), 1999).

As plaquetas agregadas agem como um tampão bloqueando a hemorragia. O fator plaquetário 3 no seu plasmalema é ativado e permite a formação de uma superfície fosfolipídica necessária para a estruturação dos fatores de coagulação, principalmente, a trombina. As reações em cascata do processo de coagulação

conduzem a formação da trombina através da ativação da protrombina circulante por tromboplastina tissular e plaquetária. A trombina formulada por sua vez converte o fibrinogênio em fibrina na presença de  $Ca^{2+}$  e também, facilita a agregação plaquetária através da sua ação enzimática. As fibrinas produzidas em forma de monômeros são polimerizadas e formam o retículo do coágulo envolvendo plaquetas adicionais, eritrócitos e leucócitos num coágulo de sangue, trombo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999, GARTNER e HIATT(a), 1999, FERREIRA, 2002).

Aproximadamente 1 hora após a formação do coágulo, os monômeros de actina e miosina formam filamentos finos e grossos que interagem utilizando ATP como fonte de energia. Esse mecanismo promove a retração do coágulo até quase metade do seu tamanho aproximando as extremidades dos vasos, minimizando a perda de sangue. Após a reparação, as células endoteliais liberam ativadores do plasminogênio que convertem-no em plasmina que é a enzima que inicia a lise do trombo. As enzimas hidrolíticas dos grânulos “alfa” participam neste processo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999 e GARTNER e HIATT (a), 1999, FERREIRA, 2002).

A seguir, ocorrerá o processo de diferenciação celular que permitirá a formação e o remodelamento ósseo. E nesse contexto, as plaquetas, também, atuarão de forma importante através dos seus fatores de crescimento. As células osteogênicas e o tecido conjuntivo estão presentes nas superfícies internas e externas dos ossos. As células osteoprogenitoras presentes serão ativas em grande parte pela ação das plaquetas através de seus fatores de crescimento. Esses fatores estimulam a multiplicação por mitose e diferenciação das células osteoprogenitoras em osteoblastos, desempenhando um papel importante na reparação óssea (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999; GARTNER e HIATT (b), 1999; FERREIRA, 2002, MARX e GARG, 2005).

O tecido endóstio apresenta células osteogênicas achatadas revestindo as cavidades do osso esponjoso, canal medular, canais de Havers e de Volkmann. O perióstio e o endóstio, exercem as funções de nutrição e de fornecimento de

novos osteoblastos para crescimento e reestruturação do osso ( JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999; GARTNER e HIATT (b), 1999).

A adesão de proteínas séricas na superfície dos implantes ocorre desde o princípio da instalação dos implantes. Entre as proteínas existem moléculas de fibrina, fibronectina e vitronectina. Estas proteínas se polimerizam e formam redes de fibrinas com inserção na superfície do implante. Ao longo do processo de coagulação e posterior diferenciação celular, as fibras são reestruturadas e servem como suporte para o processo de ossificação (GARTNER e HIATT (a), 1999).

Essas proteínas são provenientes, primeiramente, do sangue, na etapa de coagulação e posteriormente, de células dos tecidos adjacentes ao implante na etapa de diferenciação e multiplicação celular. As proteínas desempenham um papel importante na migração de células mesenquimais indiferenciadas provenientes do perióstio e endóstio. Uma vez aderidas a essas proteínas, estas células diferenciam-se em osteoblastos e passam a produzir uma matriz óssea não mineralizada (osteóide), iniciando a formação do novo osso (COOPER *et al.*, 1998; GARTNER e HIATT (b), 1999; BRUNSKI, PULED e NANJI, 2000; MARX e GARG, 2005). As tensões transmitidas na aplicação de carga sobre os implantes ao tecido ósseo estimulam, então, um novo processo ósseo caracterizado pelo remodelamento para melhor adaptação do tecido ósseo a essas cargas durante um período de um ano (ADELL *et al.*, 1981, ALBREKTSSON, *et al.*, 2000, BUSER *et al.*, 1998 e BAHAT 2000 e MISCH, 2000, FERREIRA, 2002)

### **3.4 - TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE E OSSEOINTEGRAÇÃO**

Alguns tratamentos de texturização de superfície têm sido executados visando melhorar a resposta biológica no processo da osseointegração através do contato maior de tecido ósseo na superfície do implante. O princípio de que o aumento da aspereza da superfície aumenta a sua área de contato e a energia de superfície, influenciando na capacidade de molhamento é a base que justifica a sua aplicação. A estabilidade primária obtida poderia ser melhorada e a adesão de

líquidos e proteínas da matriz extracelular, mediadores da migração e diferenciação de células osteoprogenitoras, poderiam ser facilitados. Em termos de terminologia, os implantes com valores menores que  $1\mu\text{m}$  de aspereza superficial são considerados lisos, enquanto que aqueles superiores a  $1\mu\text{m}$  são considerados ásperos (SYKARAS *et al.*, 2000). As técnicas de tratamento aplicadas sobre a superfície de titânio são diversas. Cobertura por *spray* de plasma de titânio ou hidroxiapatita, jateamento com partículas de óxido de alumínio, ataque com diferentes ácidos e eletrodeposição de óxidos, são exemplos. As técnicas podem ser mescladas para a obtenção de outro padrão de superfície. Os estudos têm observado diferentes resultados em implantes texturizados e lisos.

Martin *et al.* (1995) analisaram discos de titânio com diferentes rugosidades em meio de cultura de células MG63 com fenótipo de osteoblasto originárias de osteossarcoma humano. Observaram que o tipo de tratamento de superfície aumentou o número de células e que o tempo de exposição variou a quantidade de formação celular de acordo com a superfície. Para os autores, a rugosidade superficial poderia ter efeito sobre as células e sua atividade celular por permitir maior absorção de proteínas e substâncias plasmáticas.

Gotfredsen *et al.* (1995) realizaram a análise de histometria e de remoção por torque em coelhos. Um total de 156 implantes foi instalado em 26 coelhos sendo que em cada tíbia foram colocados 3 implantes com características superficiais distintas. Os autores observaram que os implantes texturizados apresentaram valores de remoção de torque significativamente maiores do que os lisos e que essa diferença foi maior no período de avaliação de 3 semanas de cicatrização. Segundos os autores após 12 semanas os implantes lisos apresentam uma melhor osteointegração, provavelmente devido a maturação óssea e se aproximam dos valores dos implantes texturizados.

Wennerberg *et al.* (1996) realizaram um estudo em tíbia e fêmur de coelhos que utilizou 12 semanas de espera da osteointegração. Observaram através da análise histomorfométrica, uma maior percentagem de contato na interface osso/implante nos implantes jateados em relação aos usinados (lisos). E

observaram, também, maiores valores no torque de remoção em implantes texturizados em relação aos lisos.

Lampim *et al.* (1996) sugerem uma provável relação entre o aumento da adesão celular e o aumento a aspereza superficial. BUSER *et al.* (1991) comparam implantes com superfície eletropolida; jateadas com partículas de corundum de granulação média (0,12-0,25 $\mu$ m) e posteriormente atacados com ácidos nítrico e fluorídrico; partículas grandes (0,25-0,5 $\mu$ m); partículas grandes associadas com ataque ácido, spray de plasma de hidroxiapatita; e plasma de titânio fixados em porca miniatura. A análise histométrica demonstrou que em superfícies mais ásperas, maior contato implante-osso foi presenciado, destes, sendo que implante com spray de hidroxiapatita e implantes que sofreram ataque ácido demonstraram os melhores resultados. Entretanto, sinais de reabsorção da hidroxiapatita foram observados.

Wenneberg *et al.* (1997) realizaram um estudo em coelhos que utilizou 12 semanas de espera da osteointegração e em que foram colocados 3 implantes em cada perna. Observaram através da análise histomorfométrica, uma maior quantidade de osso nas roscas dos implantes lisos em relação aos texturizados, porém, na remoção por torque os valores foram superiores com diferença estatisticamente significava nos texturizados em relação aos lisos.

Cochran *et al.* (1998) também encontraram melhores resultados com implantes de superfície jateada com partículas de corundum (granulação de 250 a 500 $\mu$ m) associadas com ataque ácido comparadas com *spray* de plasma de titânio após 3 meses de cicatrização em coelhos. Porém, ao avaliar os mesmos implantes após 6 meses, nenhuma diferença foi observada.

Baker, London, O'Neal (1999) realizaram em coelhos teste anti-torque em diferentes períodos de cicatrização comparando o implante Osseotite (3i, Implants Innovation, Palm Beach Gardens, USA) com implantes lisos. A partir da 3ª semana as diferenças foram significativas, e aumentaram até a oitava semana de cicatrização.

Borges (1999) ao mensurar o volume de tecido ósseo formado sobre diferentes texturas de superfície após 60 dias em coelhos observou um maior

volume ósseo nos implantes tratados, porém sem diferenças estatisticamente significativas.

Ichikawa *et al.* (2000) estudaram o volume de tecido ósseo na interface com o implante de superfície tratada com spray de plasma de titânio; deposição iônica de Cálcio; e titânio comercialmente puro em distintos tempos de cicatrização. O aumento do volume ósseo foi observado no período inicial da cicatrização nos implantes tratados, enquanto o implante comercialmente puro (liso) apresentou um acréscimo de tecido ósseo constante até o último período de cicatrização.

Cordioli *et al.* (2000) realizaram um estudo em tibia de coelhos em que foram analisados três tipos de implantes: usinados (lisos), jateados e com superfície tratada com spray de plasma de titânio e com superfície atacada com ácido (osseotite). Após um período de 5 semanas, observaram que histomorfometricamente e através de remoção por torque, os implantes com superfície jateada com dióxido de titânio, *spray* de plasma de titânio e atacado com ácido foram superiores aos demais implantes. Segundos os autores, essa diferença se deve ao potencial osteocondutor proporcionado pelo condicionamento de superfície.

Abrahamsson *et al.* (2001) observaram, também, que a porosidade resultante de ácidos na superfície promoveu um maior contato de osso na interface quando comparados com implantes de superfície lisa em cães.

Klokkevold *et al.* (2001) realizaram um estudo em que analisaram três tipos de implantes: lisos, tratados com duplo ataque ácido e tratados com *spray* de plasma de titânio em fêmur de coelho após período de 1, 2 e 3 meses. Observaram que os implantes tratados com ataque ácido duplo e *spray* de plasma de titânio obtiveram valores de remoção de torque superiores aos implantes lisos.

Lumbikanonda e Sammons (2001) sugerem que a textura superficial pode influenciar a adesão celular e subsequente osseointegração. Os implantes com maior rugosidade podem oferecer uma mais rápida cobertura celular da superfície do implante. Os implantes tratados com plasma *spray* de titânio obtiveram resultados superiores.

Cho e Park (2003) analisaram, em coelhos, o torque de remoção entre implantes texturizados com duplo ataque ácido e lisos. A mensuração do torque de remoção foi realizada 12 semanas após a inserção dos implantes e demonstrou que os implantes texturizados foram superiores aos lisos.

Keller *et al.* (2003) analisaram o comportamento das células osteoblásticas MC3T3-E1 em meio de cultura frente a superfícies de titânio puro com diferentes rugosidades superficiais. As rugosidades distintas foram obtidas através de polimento, jateamento, condicionamento ácido e jateamento seguido de condicionamento ácido. Os resultados após uma hora de união celular aos substratos, indicou que a união dos osteoblastos foi mais facilmente estabelecida em superfícies rugosas.

Park *et al.* (2005) analisaram o efeito da deposição de hidroxiapatita na superfície de implantes na osteointegração de implantes em tíbias de coelhos. Os valores de remoção de torque foram avaliados em um total de 40 implantes instalados em 10 coelhos. O período de espera da osteointegração foi de 6 semanas. Os implantes com hidroxiapatita foram significativamente superiores aos implantes lisos.

Sennerby *et al.* (2005) analisaram a qualidade da osteointegração de implantes de zircônia através de análise histomorfométrica e remoção de torque. Avaliaram 96 implantes instalados em 12 coelhos que permaneceram por 6 semanas de cicatrização. Os valores de remoção de torque foram significativamente menores nos implantes de zircônia não texturizados.

Sul *et al.* (2005) analisaram a influência de características da superfície dos implantes como a composição química, espessura de óxido, a porosidade, a rugosidade e a estrutura cristalina na obtenção da osteointegração. Utilizaram 100 implantes, 40 para analisar as características de superfície dos implantes e 60 para análise da resposta óssea em 10 coelhos. Os valores de remoção de torque foram avaliados e demonstraram que em um período de 6 semanas de cicatrização, os implantes texturizados foram significativamente superiores.

### 3.5 - ESTABILIDADE PRIMÁRIA E OSTEOINTEGRAÇÃO:

Ivanoff, Sennerby e Lekholm (1996) analisaram em coelho, a influência da estabilidade primária inicial na osteointegração de implantes de titânio. Três das cinco condições experimentais analisadas foram: implantes com boa estabilidade primária; implantes com instabilidade rotacional e implantes com liberdade total. O contato ósseo na interface com a superfície dos implantes foi analisado através de análise histomorfométrico. Os autores concluíram que a ausência de estabilidade primária rotacional não ocasiona uma integração inferior independente da qualidade óssea. A total instabilidade inicial resultou em menos formação óssea junto a interface osso/implante.

Meredith (1998) sugere que a estabilidade primária de implantes é essencial para a cicatrização óssea adequada. Para o autor a falta de estabilidade primária permite que o implante tenha micromovimentos capazes de provocar uma formação fibrosa ao redor do implante, conduzindo ao fracasso da osteointegração.

Fernandes (2003) observou em estudo com coelhos que, após 9 semanas, os implantes texturizados tiveram maiores valores de torque de remoção se comparado aos lisos. E que a estabilidade primária não foi um fator decisivo na osteointegração dos implantes lisos e texturizados não submetidos à carga.

Unikowski (2003) avaliou em tibia de coelhos o percentual de contato osso/implante (COI) através de análise de histomorfometria em implantes instalados com e sem estabilidade primária. Um período de 8 semanas foi aguardado após a inserção dos implantes para realizar a remoção dos implantes e realizar a análise histomorfométrica. Os resultados não diferiram estatisticamente, no entanto o percentual de contato ósseo foi maior no grupo dos implantes texturizados com estabilidade primária (COI=76%), seguido dos texturizados sem estabilidade primária (COI=62%), lisos sem estabilidade primária (COI=56%) e lisos com estabilidade primária (COI=49%).

### 3.6 - TEMPO DE OSTEOINTEGRAÇÃO PARA REMOÇÃO POR TORQUE

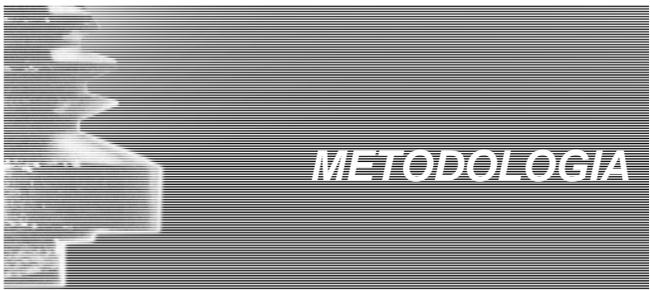
Sennerby *et al.* (1992) compararam a osteointegração de implantes em osso tipo trabecular e cortical. Um total de 120 implantes foi inserido cirurgicamente em osso fêmur e tíbia de 23 coelhos para simularem as condições de osso trabecular e cortical respectivamente. O tempo de cicatrização em grupos de 6 animais foram 6 semanas, 3 meses e 6 meses. E em 5 animais seguiu-se o tempo de 12 meses. Os autores observaram que o valor de torque de remoção manteve-se igual nos tempos de cicatrização aplicados nos implantes da tíbia. Já nos implantes aplicados no fêmur os valores aumentaram com o tempo de cicatrização. Sennerby *et al.* (1992) comprovaram que o torque de remoção não é alterado em períodos de 6 semanas, 3 meses e 6 meses quando os implantes são instalados na tíbia de coelhos, que é um osso predominantemente cortical. O estudo de Sennerby *et al.* (1992) e os estudos mais recentes atestam o uso de período de espera da osteointegração menor do que 12 semanas. Sennerby *et al.* (2005) aplicaram um período de 6 semanas de espera da osteointegração em estudo de avaliação histomorfométrico e de remoção de torque.

Fernandes (2003) realizou um estudo que avaliou a influência da estabilidade primária na osseointegração de implantes lisos e texturizados e para tanto esperou um período de 9 semanas após a instalação dos implantes para realizar a mensuração do torque de remoção.

Gotfredsen *et al.* (1995), Wennergberg *et al.* (1996 e 1997) e Cho e Park (2003) utilizaram um período de 12 semanas de espera da osteointegração após a instalação dos implantes para realizar a mensuração do torque de remoção, justificando que o período de maturação final da osteointegração estaria mais próximo desse período. Park *et al.* (2005), Sul *et al.* (2005), analisaram a remoção de torque em implantes instalados em tíbias de coelhos e após um período de 6 semanas de espera da osteointegração realizaram a mensuração.

### 3.7 – AMOSTRA DE COELHOS

Hall, Miranda-Burgos e Sennerby (2005) utilizaram 12 coelhos em seu experimento que visou avaliar os valores de remoção por torque em implantes com macro rugosidades em tibia de coelho. Sennerby *et al.* (2005) utilizaram 12 coelhos em seu experimento para analisar os valores de remoção por torque de implantes de zircônia em tibia de coelho. Sul *et al.* (2005) utilizaram 10 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com diferentes características superficiais de composição, rugosidade, porosidade e estrutura cristalina. Park *et al.* (2005) utilizaram 10 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com deposição de hidroxiapatita em tíbias de coelhos. O'sullivan, Sennerby, Meredith (2004) utilizaram 6 coelhos para analisar a influência do tipo de implante na estabilidade primária e secundária em fêmur de coelhos. Cho e Park (2003) utilizaram 7 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com condicionamento ácido duplo em tíbias de coelho. Franke Stenport *et al.*(a) e (b) (2003) utilizaram 6 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes que tiveram a associação de fator de crescimento de fibroblasto em fêmur de coelho. Franke Stenport e Johansson (2003) utilizaram 6 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com aplicação de matriz derivada de esmalte em tibia de coelhos. Sul *et al.* (2005) utilizaram 6 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com oxidação promovida por ataque eletroquímico com ácido sulfúrico e fosfórico em tíbias de coelhos.



## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 - LOCAL DO EXPERIMENTO:**

O experimento foi realizado no biotério do Governo do Estado do Rio Grande do Sul, Secretaria da Saúde, Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde Divisão de Produção e Experimentação Animal-DPEA (FEPPS, anexo C). Os animais foram mantidos pelo biotério durante o período de experimentação e receberam os cuidados diários por biólogos e médicos veterinários responsáveis pelo local. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em local apropriado no setor de pesquisa do biotério.

### **4.2 - AMOSTRA DE COELHOS:**

Um total de sete coelhos fêmeas adultas, brancas da raça Nova Zelândia Branco (*Oryctolagus Cuniculus l.*) com pesos variando entre 3,35 a 4,1Kg com média de 3,56 Kg ( $\pm 0,29$ ), provenientes do mesmo criador, foram utilizados nesse estudo.

### **4.3 - AMOSTRA DE IMPLANTES:**

Um total de 42 implantes foram inseridos cirurgicamente nos sete coelhos, sendo que em cada tíbia foram inseridos três implantes, totalizando seis implantes a cada coelho. Os implantes utilizados eram cilíndricos do tipo parafuso de titânio liso (Master Screw, lote E1387- 4100, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, S.P., Brasil) e titânio com superfície tratada com jateamento de partículas de dióxido de titânio e condicionamento ácido (Master Porous, lote E1388 - 4100, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, S.P., Brasil).

Todos os implantes apresentaram dimensões de 3,75mm x 5,5mm, confeccionados especificamente para aplicação em estudos experimentais com coelhos com o intuito de evitar a bicorticalização.

#### 4.4 - GRUPOS EXPERIMENTAIS:

No presente estudo seis condições experimentais foram aplicados em cada coelho:

Tabela 1- Grupos experimentais do estudo e amostra de implantes e coelhos:

	Grupo experimental	Implantes/coelhos
Grupo 1	Implante liso com estabilidade primária e sem PRP (plasma rico em plaqueta)	07
Grupo 2	Implante liso sem estabilidade primária e sem PRP	07
Grupo 3	Implante liso sem estabilidade primária e com PRP	07
Grupo 4	Implante texturizado com estabilidade primária e sem PRP	07
Grupo 5	Implante texturizado sem estabilidade primária e sem PRP	07
Grupo 6	Implante texturizado sem estabilidade primária e com PRP	07

A cada tibia de cada coelho, três implantes foram inseridos na região ântero-medial superior, região da epífise óssea, sendo um para cada condição experimental. As posições dos implantes inseridos nas condições estabelecidas no estudo foram alteradas a cada coelho de forma aleatória.

#### **4.5 - PROCEDIMENTOS PRÉ-OPERATÓRIOS:**

Os animais foram cuidadosamente removidos de suas gaiolas e introduzidos em uma caixa apropriada para mensurar o peso. A seguir foram transportados para uma sala de procedimentos em que foi aplicado o protocolo de sedação, anestesia, coleta de sangue para preparo do PRP, tricotomia e assepsia da pele. O ambiente em que foi realizada a cirurgia de colocação dos implantes foi mantido em condições adequadas de anti-sepsia. Após a realização dos procedimentos pré-cirúrgicos, os animais foram levados as suas respectivas gaiolas aéreas individuais.

##### **4.5.1 - SEDAÇÃO E ANESTESIA**

Após a aferição do peso, os animais foram imobilizados sobre uma mesa para a injeção da droga anestésica e antibiótico. Os medicamentos foram aplicados via intramuscular, no músculo *bíceps femoris*, com o auxílio de uma seringa hipodérmica descartável. Um composto a base de tilatamina associado com zolazepan na proporção 1:1, o Zoletil 50 (virbac S.A., França), foi utilizado como anestésico em uma dosagem de 20mg/kg de peso. Um sedativo e relaxante muscular a base de cloridrato de tilasina, o Rompum (Bayer, Belford Roxo, R.J., Brasil) na dosagem de 0,05mg/kg de peso; Com a finalidade de efetivar o quadro anestésico à base de Xilazina foi utilizado.

Antibiótico à base de enrofloxacin – flurotril (virbac S.A., França) injetável foi administrado aos coelhos antes de iniciar o procedimento cirúrgico até 15 dias após a cicatrização. Foi injetado via intra-muscular na dose de 50ml/Kg de peso.

#### **4.5.2 - TRICOTOMIA PARA COLETA DE SANGUE:**

A coleta de sangue foi realizada após a tricotomia (remoção de pêlos) auricular para facilitar a visualização das veias auriculares. Dessa forma, a integridade do animal preservada.

#### **4.5.3 - TRICOTOMIA PARA COLOCAÇÃO DE IMPLANTES:**

Após a coleta de sangue para a quantificação de plaquetas e preparo do PRP, a parte mesial superior da tíbia, foi submetida à tricotomia (remoção de pêlos) com auxílio de uma máquina de corte elétrica e lâminas (aparelho de barbear manual – Gillete, Brasil). A anti-sepsia do local foi realizada com álcool iodado à 2%.

### **4.6 - PROCEDIMENTOS PARA O PREPARO DO PRP (PLASMA RICO EM PLAQUETAS) E CONTAGEM DE PLAQUETAS**

#### **4.6.1 - COLETA DE SANGUE PARA PREPARO DO PRP (plasma rico em plaquetas):**

A coleta de sangue foi realizada com o auxílio da Médica Veterinária Luisa Macedo Braga (CRMV-2393). A quantificação de plaquetas, bem como, a manipulação do sangue para preparo do plasma rico em plaquetas (PRP) foi realizado pelo Farmacêutico Bioquímico Matheus Pereira Valente (CRFRS 8041). As análises foram realizadas em um laboratório privado (Laboratório Porto Alegre Análises Clínicas, Av. Alberto Bins nº 325/86 e 88, Porto Alegre-RS.)

Após a sedação e anestesia dos animais, a obtenção da amostra de sangue foi realizada, anteriormente a cirurgia, utilizando-se o sistema de coleta a vácuo, com agulha de coleta múltipla tamanho 0,7x25mm (Becton Dickinson Vacutainer System, Plymouth, UK) associada a um adaptador ligado a um tubete pediátrico de 5 ml para coleta à vácuo. O ramo intermediário da artéria auricular foi o local de punção. Obteve-se entre 3,5 a 4,5ml de sangue de cada coelho, coletado diretamente para tubos de 4,5ml contendo 0,5ml de anticoagulante citrato de sódio a 3,2% (BD®-Becton Dickinson Vacutainer System, Plymouth, UK). Do volume total de sangue coletado, para cada coelho, foram separados 0,5ml de sangue para contagem de plaquetas. A outra fração foi utilizada para o preparo do PRP (plasma rico em plaquetas).

#### **4.6.2 - PREPARO DO PRP (plasma rico em plaquetas):**

A obtenção do PRP foi realizada durante o procedimento cirúrgico com os coelhos. Segundo o protocolo proposto por Rossi et al,2004. Foi utilizada uma centrífuga de laboratório (Excelsa II, 206 mp, FANEM, São Paulo, SP, Brasil), que é capaz de realizar a centrifugação de até 16 tubos simultaneamente e possui raio de 16 cm.

O protocolo aplicado foi constituído de duas centrifugações, sendo a primeira efetuada com força de centrifugação de 200 G (o que equivale, na centrífuga utilizada, a uma rotação de 1000 rpm) por 10 minutos. Dessa forma, a separação da fração de plasma na parte superior do tubo e a fração de hemácias e leucócitos na porção inferior do tubo foi realizada. A fração de plasma foi novamente centrifugada, porém, com uma força de centrifugação de 400 G (o que equivale, na centrífuga utilizada, a uma rotação de 1500rpm) por 10 minutos. Após a segunda centrifugação ficou na porção superior o plasma pobre em plaquetas (aproximadamente 1 ml) e na porção inferior o plasma rico em plaquetas e leucócitos (aproximadamente 1 ml). O plasma pobre em plaquetas foi descartado e a porção restante correspondente ao plasma rico em plaquetas foi

homogeneizada. Do plasma rico em plaquetas foram separados 0,5 ml para contagem de plaquetas (figura - 1).

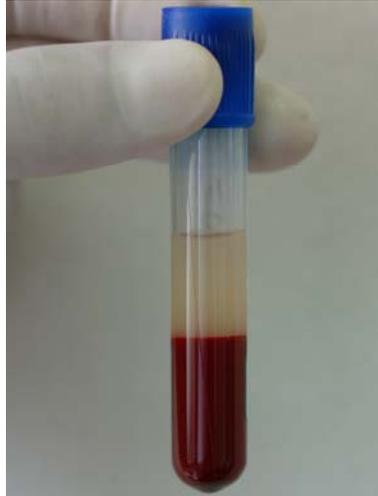


Figura 1– Sangue estratificado para obtenção do PRP após a centrifugação

#### **4.6.3 - OBTENÇÃO DO GEL-PRP:**

Para obtenção do gel-PRP, o PRP foi colocado em uma ampola e misturado a gluconato de cálcio a 10% (ARISTON®, São Paulo, SP) e a trombina bovina 100 NIH/ml (DADE BERHRING®, Liederbach-Germany). Nessa etapa a consistência líquida da mistura passou a uma consistência gel tornando mais fácil a aplicação cirúrgica do PRP.

#### **4.6.4 - CONTAGEM DE PLAQUETAS:**

A contagem de plaquetas no sangue total e no plasma rico em plaquetas foi realizada no Laboratório Porto Alegre pelo aparelho KX-21 (SYSMEX, Miami Lakes, Florida, USA). Foram realizadas três contagens para cada amostra de sangue total e PRP enviadas ao laboratório.

## 4.7 - PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS:

### 4.7.1 - INCISÃO PARA COLOCAÇÃO DOS IMPLANTES:

Inicialmente foi realizada uma incisão com um bisturi composto por cabo nº3 e lâmina nº 15 Bard Parker produzindo uma incisão de aproximadamente 5 cm na pele estendendo-se pelo tecido conjuntivo e o periósteo até a superfície óssea. Com essa incisão, foi possível percorrer a pele sobre a fascia do tecido muscular, visualizando ligamentos e feixes vasculares da região para selecionar o melhor local para a segunda incisão. A segunda incisão foi realizada sob o tecido muscular e periósteo, sendo delicadamente divulsionados até a exposição do tecido ósseo do sítio cirúrgico (face medial da tíbia) com uma espátula nº 7 de cera estéril. O campo foi irrigado com soro fisiológico e o controle do sangramento realizado com gaze estéril (figura 2 e 3).



Figura 2- incisão realizada na face medial da tíbia



Figura 3- Deslocamento do periósteo na face medial da tíbia

#### 4.7.2 - PROTOCOLO CIRÚRGICO DE COLOCAÇÃO DE IMPLANTES:

Um protocolo de colocação similar ao descrito por Brånemark (1985) foi aplicado com o intuito de diminuir os riscos de contaminação da área do implante. Foram inseridos cirurgicamente três implantes em cada tíbia de cada coelho de acordo com as condições experimentais do estudo. O primeiro implante foi fixado ao lado da epífise, o segundo e o terceiro foram inseridos a uma distância de aproximadamente 7 mm entre os implantes (figura 4 e 5).

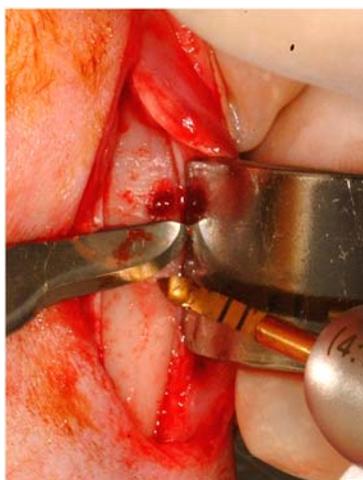


Figura 4- Perfuração da cortical óssea com broca em forma de lança e mensuração da distância entre implantes durante as perfurações

Em todos os grupos, as perfurações foram realizadas no sítio cirúrgico com motor para implante (Driller, Modelo BLM 100 plus, Jaguaré, S.P., Brasil) com contra ângulo com irrigação interna e externa da broca, com soro fisiológico (cloreto de sódio 0,9% - estéril-apirogênico) através de rotação da broca que foi de 1000 rpm (rotações por minuto). Foram utilizados 3 jogos de brocas novas no experimento. Os locais de implantação foram demarcados com broca em forma de lança, distando aproximadamente 7mm entre o centro de um orifício ao outro (figura 5). A mesma broca foi utilizada para romper a cortical óssea.

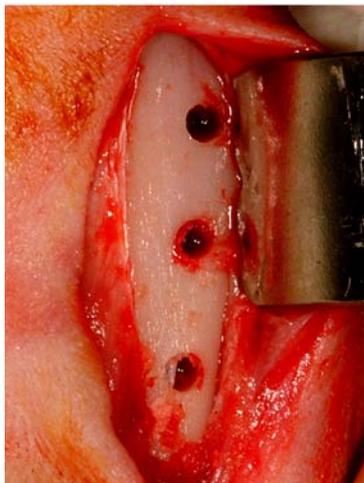


Figura 5- Localização das três perfurações realizadas nas tíbias

Após a perfuração, foi realizado o escalonamento de brocas com diâmetros crescentes até a broca de 2,8mm de diâmetro e com profundidade de 5,5mm, orientada através do cursor localizado na broca sem tocar a cortical óssea oposta (figura 6 e 7).



Figura 6- Aumento da perfuração através da broca 2,0

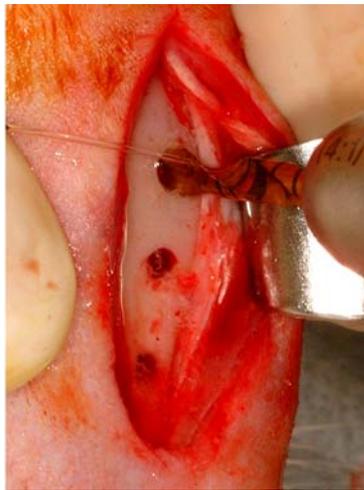


Figura 7- Aumento da perfuração através da broca 2,8

As roscas concêntricas na cortical óssea foram realizadas com conformador de roscas rotando a 150rpm (figura 8 e 9).



Figura 8- Aplicação do formador de rosca nos sítios



Figura 9- Sítios cirúrgicos após o preparo das roscas

Os implantes foram inseridos através de torque manual através de um conjunto de chave de torque e montador (figura 10 ).



Figura 10- Inserção do implante no sítio cirúrgico

A condição da estabilidade primária foi confirmada após o término da fixação (figura 11). A obtenção de estabilidade primária após o término da fixação foi verificada através da observação de ausência de rotação do implante no sítio cirúrgico, após a introdução de todo o comprimento do implante no interior da perfuração.

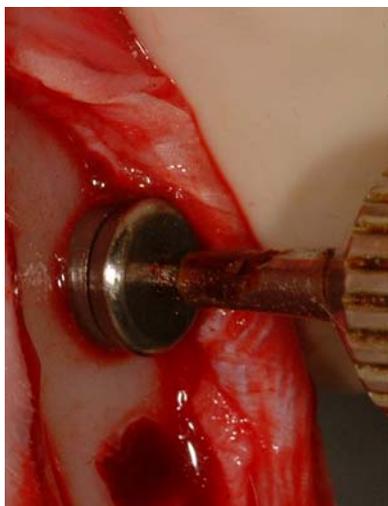


Figura 11- Confirmação da presença ou ausência de estabilidade primária

Nos grupos experimentais em que a estabilidade primária era ausente, uma broca de diâmetro 3,15 mm foi introduzida para ampliar o orifício padrão (figura 7). Dessa forma, os implantes giraram livremente dentro dos sítios ósseos quando aplicada a força rotacional manual. Nos grupos 3 e 6 o PRP foi inserido antes da colocação dos implantes com um volume de aproximadamente 5 mm<sup>3</sup> (figura 12 e 13).

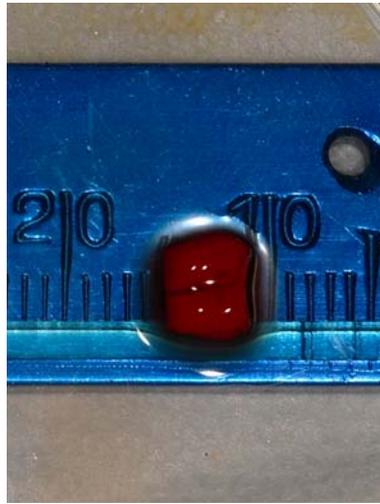


Figura 12- Plasma rico em plaquetas preparado para a aplicação nos sítios cirúrgicos nos grupos 3 e 6



Figura 13- Colocação do PRP no sítio cirúrgico nos grupos 3 e 6

Após a fixação dos implantes em seus respectivos sítios receptores, os mesmos foram protegidos com tampa de cicatrização vedando o parafuso interno do implante (figura 14 e 15). A seguir a sutura dos tecidos percorrendo desde o perióstio à pele foi realizada usando um fio de sutura reabsorvível (Categut 4.0 – Shalon, tipo A-75cm reabsorvível estéril com agulha CR 3 cm), com agulha montada e porta-agulha (figura 14). A sutura foi composta de pontos isolados de modo que a incisão cirúrgica foi mantida completamente fechada, visando a cicatrização por 1ª intenção.



Figura 14- Colocação da tampa de cicatrização



Figura 15- Sutura terminada após a instalação dos implantes

A área cirúrgica foi limpa com soro fisiológico e aplicado um *spray* bactericida, o Lepecid BR (Dow Elanco Industrial, São Paulo, Brasil) (figura 16).



Figura 16 - Aplicação de *spray* bactericida na área operada

#### **4.8 - FASE PÓS-CIRÚRGICA:**

Após a cirurgia, os animais foram monitorados até o restabelecimento de suas funções vitais. O *spray* bactericida foi aplicado na região suturada a cada 2 dias por um período de 14 dias. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, forradas com papel para manter o ambiente aquecido, com água e ração “*ad libitum*”. Os coelhos receberam cuidados diários por biólogos e médicos veterinários responsáveis pelo biotério (Divisão de Produção e Experimentação Animais da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, Porto Alegre, R.S., Brasil).

##### **4.8.1 - MORTE DOS ANIMAIS:**

Após um período de 9 semanas a partir da colocação dos implantes, os animais foram mortos através de inalação de gás carbônico conforme protocolo estabelecido pelo biotério, seguindo as normas para prática didática científica da vivisseção em animais. Subseqüentemente, foram realizados os procedimentos inerentes a mensuração do torque de remoção dos implantes.

##### **4.8.2 - MENSURAÇÃO DO TORQUE DE REMOÇÃO DOS IMPLANTES:**

Uma vez mortos os animais, os implantes foram cirurgicamente expostos através de incisão com bisturi composto por cabo nº 3 com lâmina 15 Bard Parker. Os tecidos que recobriram as tampas de cicatrização foram removidos cuidadosamente. A seguir, as tampas de cicatrização foram removidas e os montadores foram colocados com seus respectivos parafusos. Um dispositivo de aço-vanádio foi utilizado para unir o montador ao torquímetro com a finalidade de realizar a remoção dos implantes através do movimento anti-rotacional mensurado com torquímetro digital axial (modelo TSD 150 da Torqueleader-MHH Engineering CO. LTD., Bramley, Guilford, Surrey GU5 OAJ, U.K.).

Antes da remoção dos implantes por torque anti-rotacional, a tíbia dos animais foi envolvida em molde de acrílico e imobilizada em uma prensa a fim de promover um movimento e uma mensuração mais precisos. Nesse contexto, o implante foi mantido numa posição perpendicular ao solo (figura 17).

O torquímetro foi mantido no longo eixo do implante. O seu módulo de leitura foi mantido no modo de leitura em pico, ou seja, o aparelho apesar de mostrar em seu visor o aumento da força de torque de remoção registrou ao final apenas o valor máximo alcançado. O valor registrado em Ncm correspondeu ao momento em que a união implante/osso foi rompida.



Figura 17- Aplicação de torque de remoção nos implantes

As leituras foram realizadas por um pesquisador que não foi informado sobre as condições experimentais correspondentes de cada implante a removido mediante aplicação de força de anti-torque. Os coelhos foram apenas identificados por códigos em letras, sem descrição da condição experimental.

#### **4.9 - TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS:**

Os valores de torque de remoção das condições experimentais foram tabulados e submetidos a análise estatística. A Análise de Variância Múltipla, utilizando o delineamento em blocos casualizados, complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey e teste T para amostras pareadas, ao nível de significância de 5% foram os testes estatísticos aplicados no presente estudo.



## 5 - RESULTADOS:

### 5.1 - CONCENTRAÇÃO DE PLAQUETAS DO PRP:

A metodologia aplicada no estudo permitiu que o PRP tivesse um número de plaquetas 339% maior em média em relação a amostra de sangue coletada dos coelhos (tabela 2).

Tabela 2- Concentração de plaquetas na amostra de controle coletada, no PRP (plasma rico em plaquetas) e a percentagem de aumento da concentração de plaquetas do PRP em relação a amostra controle

Coelho	Sangue Total [Plaq] x1000/ $\mu$ L	PRP [Plaq] x1000/ $\mu$ L	Aumento
1	283	854	302%
2	108	342	317%
3	124	427	344%
4	126	410	325%
5	142	545	384%
6	186	602	324%
7	184	695	378%
Média	164,71	553,57	339%
Desvio Padrão	60	302	31%

### 5.2 - MEDIDAS DE TORQUE DE REMOÇÃO:

#### 5.2.1 - REMOÇÃO POR TORQUE ENTRE OS SEIS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os valores de torque de remoção observados no estudo estão descritos nas tabela 3. Cada coelho recebeu seis implantes, três implantes em cada tíbia, instalados de acordo com as condições estabelecidas nos seis grupos experimentais definidas no estudo. Assim, um total de 42 implantes foi analisado em 7 coelhos (tabela 3).

Os valores de remoção de torque foram analisados estatisticamente através de Análise de Variância, utilizando o delineamento em blocos casualizados, ao nível de significância de 5%, verifica-se não haver diferença na média de remoção por torque (Ncm) entre os seis grupos experimentais analisados (tabela 3 e 4).

Tabela 3 - Valores de remoção por torque dos grupos experimentais, média e desvio-padrão, mínimo e máximo em Ncm:

Grupo	Remoção por torque (Ncm)			
	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Grupo 1- implante Liso Com estabilidade primária e sem PRP	53,01	9,68	42,80	69,20
Grupo 2- implante Liso sem estabilidade primária e sem PRP	45,29	16,90	24,30	65,30
Grupo 3- implante Liso sem estabilidade primária e com PRP	43,43	16,70	25,20	67,80
Grupo 4- implante texturizado com estabilidade primária e sem PRP	56,60	16,00	34,20	79,60
Grupo 5- implante texturizado sem estabilidade primária e sem PRP	46,89	15,60	24,60	66,00
Grupo 6- implante texturizado sem estabilidade primária e com PRP	48,49	17,06	23,80	66,00

Tabela 4- Análise de Variância Múltipla dos grupos

Causas de Variação	Grau de liberdade	Soma de quadrados	F	P
Coelho (bloco)	6	6320,59	13,32	0,001
Grupo	5	864,02	2,19	0,082
Erro Experimental	30	2372,56		
Total Corrigido	41			

A Análise de Variância Múltipla dos grupos revelou que o coelho foi significativo como causa de variação enquanto os grupos não foram.

### 5.2.2 - REMOÇÃO POR TORQUE NOS IMPLANTES LISOS

Através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em blocos casualizados, ao nível de significância de 5%, verifica-se não haver diferença na média dos valores de remoção por torque em relação as diferentes condições

locais nos implantes lisos definidas no estudo: com estabilidade, sem estabilidade e sem estabilidade com PRP (tabelas 5 e 6).

Tabela 5 – Valores de remoção por torque entre os grupos de implantes lisos:

Condição Local	Valores de torque de remoção (Ncm)			
	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Condição 1 -Com estabilidade e sem PRP	53,01	9,68	42,80	69,20
Condição 2-Sem estabilidade e sem PRP	45,29	16,90	24,30	65,30
Condição 3-Sem estabilidade e com PRP	43,43	16,70	25,20	67,80

Tabela 6- Análise de Variância Múltipla nos grupos com implantes lisos:

Causas de Variação	Grau de liberdade	Soma de quadrados	F	p
Coelho (bloco)	6	3173,08	8,18	0,001
Condição local	2	361,82	2,80	0,101
Erro Experimental	12	776,19		
Total Corrigido	20	4311,09		

A Análise de Variância Múltipla dos grupos revelou que o coelho foi significativo como causa de variação enquanto os grupos não foram.

### 5.2.3 - REMOÇÃO POR TORQUE NOS IMPLANTES TEXTURIZADOS

Através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em blocos casualizados, ao nível de significância de 5%, verifica-se não haver diferença na média de valores de remoção por torque em relação as diferentes condições locais estabelecidas para os implantes texturizados (tabela 7 e 8).

Tabela 7– valores de remoção de torque entre os grupos com implantes texturizados:

Condição Local	Valores de torque de remoção (Ncm)			
	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Condição 1-Com estabilidade e sem PRP	56,60	16,00	34,20	79,60
Condição 2-Sem estabilidade e sem PRP	46,89	15,60	24,60	66,00
Condição 3-Sem estabilidade e com PRP	48,49	17,06	23,80	66,00

Tabela 8 - Análise de Variância Múltipla nos grupos com implantes texturizados:

Causas de Variação	Grau de liberdade	Soma de quadrados	F	p
Coelho (bloco)	6	3312,67	4,63	0,012
Condição local	2	379,79	1,59	0,244
Erro Experimental	12	1431,21		
Total Corrigido	20	5123,67		

A Análise de Variância Múltipla dos grupos revelou que o coelho foi significativo como causa de variação enquanto os grupos não foram.

#### **5.2.4 – COMPARAÇÃO DA REMOÇÃO POR TORQUE ENTRE IMPLANTES LISOS E TEXTURIZADOS**

Para cada condição e no geral, verifica-se através do Teste T para amostras pareadas, ao nível de significância de 5%, não haver diferença na média de valores de remoção de torque em relação às texturas lisa e rugosa (tabela 9).

Tabela 9 - comparação entre texturas para cada condição e para o geral

Condição Local	Textura				p
	Liso		Rugoso		
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	
Condição 1-Com estabilidade e sem PRP	53,01	9,68	56,60	16,00	0,498
Condição 2-Sem estabilidade e sem PRP	45,29	16,90	46,89	15,60	0,561
Condição 3-Sem estabilidade e com PRP	43,43	16,70	48,49	17,06	0,276
Geral	47,24	14,68	50,66	16,01	0,144

p= nível mínimo de significância do Teste T para amostras pareadas

### 5.2.5 – REMOÇÃO POR TORQUE EM FUNÇÃO DA ESTABILIDADE PRIMÁRIA E DO PRP

Nas tabelas 10, as condições experimentais de acordo com a estabilidade primária e PRP foram comparadas. As médias seguidas de letras distintas diferem significativamente, através da Análise de Variância, utilizando o delineamento de blocos casualizados, complementado pelo teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%.

Tabela 10 - Comparação entre as condições experimentais de acordo com a estabilidade primária e PRP

Condição Local	Textura				Total	
	Liso		Rugoso		Média	Desvio-padrão
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão		
Condição 1-Com estabilidade primária e sem PRP	53.01	9.68	56.60	16.00	54.81 <sup>A</sup>	12.84
Condição 2-Sem estabilidade primária e sem PRP	45.29	16.90	46.89	15.60	46.09 <sup>AB</sup>	15.65
Condição 3-Sem estabilidade primária e com PRP	43.43	16.70	48.49	17.06	45.96 <sup>B</sup>	16.43
Total	47.24	14.68	50.66	16.01	48.95	15.27

Na tabela 10 e 11, a interação entre textura e condição foi analisada. Através da Análise de Variância Múltipla, utilizando o delineamento em blocos casualizados, complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, verifica-se não haver interação significativa entre Textura e Condição local.

Quanto aos efeitos principais somente Condição local foi significativo, ou seja, independente da textura a condição “Com estabilidade” apresenta uma média significativamente maior do que “Sem estabilidade com PRP”, a condição “Sem estabilidade” não difere das demais condições quanto a média de força. A textura não definiu uma diferença estatisticamente significativa. A Análise de Variância Múltipla dos grupos revelou que o coelho foi significativo como causa de variação.

Tabela 11- Análise de Variância Múltipla para os fatores textura, condição local e interação textura/condição local:

Causas de Variação	Grau de liberdade	Soma de quadrados	F	p
Coelho (bloco)	6	6320,59	13,32	<0,001
Textura	1	122,40	1,55	0,223
Condição local	2	720,54	4,56	0,019
Textura*Condição	2	21,07	0,13	0,876
Erro Experimental	30	2372,56		
Total Corrigido	41	9557,17		



## 6 - DISCUSSÃO:

### 6.1 - METODOLOGIA:

O método de obtenção do plasma rico em plaquetas (PRP) mostrou-se eficaz. A análise das amostras de sangue e do PRP revelou que o número de plaquetas aumentou em média 339% (desvio padrão= 31%), que está em concordância com a literatura (MARX e GARG, 2005). O número de plaquetas passou de 164,71 x 1000/ $\mu$ l em média na amostra de sangue para 553,57x1000/ $\mu$ l no PRP, respectivamente.

O período entre a inserção dos implantes e a mensuração do torque de remoção aplicado no estudo foi de 9 semanas. O mesmo período foi aplicado pelo estudo de Fernandes (2003). A escolha desse período vai contra as metodologias de autores como Gotfredsen *et al.* (1995), Wennerberg *et al.* (1996 e 1997), Cho e Park (2003) que utilizaram um período de 12 semanas, justificando que o período de maturação final da osseointegração estaria mais próximo desse período. Segundo os autores o período de maturação óssea é de 12 semanas. Gotfredsen *et al.* (1995) os implantes lisos apresentam valores maiores de remoção ao torque em 12 semanas do que em 3 semanas, provavelmente, pela maturação do osso. Sennerby *et al.* (1992), por outro lado, comprovou que o torque de remoção não é alterado em períodos de 6 semanas, 3 meses e 6 meses quando os implantes são instalados na tíbia de coelhos, que é um osso predominantemente cortical. Alguns estudos recentes utilizaram períodos menores que 12 semanas: Sennerby *et al.* (2005) aplicaram um período de 6 semanas de espera da osseointegração em estudo de avaliação histomorfométrico e de remoção de torque. Park *et al.* (2005), Sul *et al.* (2005), analisaram a remoção de torque após um período de 6 semanas de espera da osseointegração.

Esses estudos atestam a aplicação do período de 9 semanas no presente estudo. A redução do período de 12 semanas para 9 ou 6 semanas facilitam a

realização dos experimentos e são justificados quando o fator experimental a ser analisado é capaz de acelerar a osseointegração. A análise anterior a maturação final do osso, indicada para implantes lisos, permite uma melhor comparação da velocidade do processo de osseointegração das condições experimentais.

O presente estudo utilizou um período de espera do processo de osseointegração de 9 semanas. Esse intervalo entre a instalação dos implantes e a mensuração do torque de remoção, apesar de diferir dos demais autores, permitiu a comparação dos resultados com os achados de Fernandes (2003) que é um dos poucos estudos com delineamento metodológico similar a ponto de permitir a comparação de dados de torque de remoção. As dimensões, as características estruturais e superficiais dos implantes, o protocolo de instalação dos implantes, o período de cicatrização e a metodologia de mensuração do torque de remoção foram idênticas entre os estudos.

A diferença observada entre os estudos está na introdução do PRP nos grupos experimentais. O período de 9 semanas, menor do que 12 semanas, se justifica, uma vez que os fatores analisados, a aplicação do PRP e a utilização de implantes texturizados, teriam a capacidade de acelerar o processo de obtenção de uma osseointegração adequada. E por essa razão, a análise em período de 9 semanas poderia evidenciar a ação desses fatores em relação aos grupos em que não foram aplicados o PRP e os implantes texturizados. Assim sendo, o período utilizado foi suficiente para observar o efeito das condições experimentais propostas pelo presente estudo.

A utilização de implantes com dimensões específicas para a experimentação em coelhos, dimensões de 3,75mm x 5,5mm, foi importante para evitar a bicorticalização, uma vez que a tíbia do coelho apresenta reduzidas dimensões entre as corticais superior e inferior (FERREIRA, 2002; FERNANDES, 2003 ).

O número de implantes instalados foi de três para cada tíbia estando em concordância com Gotfredsen *et al.* (1995). Para atenuar a influência da posição do implante ao longo da tíbia, a ordem da colocação dos implantes de acordo com as condições estabelecidas nos grupos experimentais foi modificada a cada

coelho. Assim, todos os grupos experimentais tiveram similar distribuição na posição longitudinal nas tíbias.

A amostra de 7 coelhos utilizada no presente estudo se fundamenta em alguns aspectos discutidos a seguir. A experimentação em coelhos tem um desafio que está relacionado ao custo e as normas éticas. O custo da obtenção de implantes, animais e a manutenção dos mesmos não é baixo. Mas, o que rege um experimento com cobaias são condutas eticamente corretas baseadas em princípios e normas para experimentação animal. Uma amostra de animais deverá ser apenas suficiente para os fins experimentais e não deverá ter excedentes não justificáveis. Hall, Miranda-Burgos e Sennerby (2005) utilizaram 12 coelhos em seu experimento que visou avaliar os valores de remoção por torque em implantes com macro rugosidades em tíbia de coelho. Sennerby *et al.* (2005) utilizaram 12 coelhos em seu experimento para analisar os valores de remoção por torque de implantes de zircônia em tíbia de coelho. Sul *et al.* (2005) utilizaram 10 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com diferentes características superficiais de composição, rugosidade, porosidade e estrutura cristalina. Park *et al.* (2005) utilizaram 10 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com deposição de hidroxiapatita em tíbias de coelhos. Esses experimentos utilizaram amostras maiores, mas, muitos autores atestam o uso de uma amostra menor ou igual ao do presente estudo. O'sullivan, Sennerby, Meredith (2004) utilizaram 6 coelhos para analisar a influência do tipo de implante na estabilidade primária e secundária em fêmur de coelhos. Cho e Park (2003) utilizaram 7 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com condicionamento ácido duplo em tíbias de coelho. Franke Stenport e Johansson *et al.* (2003) utilizaram 6 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes que tiveram a associação de fator de crescimento de fibroblasto em fêmur de coelho. Franke Stenport e Johansson (2003) utilizaram 6 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com aplicação de matriz derivada de esmalte em tíbia de coelhos. Sul *et al.* (2005) utilizaram 6 coelhos para analisar o torque de remoção de implantes com oxidação promovida por ataque eletroquímico com ácido sulfúrico e fosfórico em tíbias de coelhos. Além da análise da literatura, o cálculo

amostral foi realizado para confirmar que a amostra utilizada foi válida. Para tanto, o software nQuery Advisor versão 3.0, foi aplicado utilizando as informações dos resultados do presente estudo e fixando uma margem de erro em 5% com um poder de 80%.

As condições experimentais do presente estudo foram estabelecidas tendo como referência condições clínicas desfavoráveis como osso de difícil obtenção de estabilidade primária e de possíveis recursos para atenuar essa condição como implantes com texturização e aplicação de PRP (FERREIRA, 2002; FERNANDES, 2003 ). Mas, o tipo de osso da tíbia do coelho não se equivale a condição descrita pela literatura como osso tipo 4 no ser humano, a tíbia apresenta uma cortical óssea espessa e uma medula óssea ao invés de um osso trabeculado. As características da tíbia de coelho, composta de uma cortical espessa e de uma medula óssea sem trabeculado, promovem uma osseointegração que inicia-se a partir da região do implante mais próxima da cortical em direção ao centro da medula óssea. Além disso, a tíbia não oferece os mesmos desafios mecânicos presentes na cavidade oral de um ser humano após a instalação dos implantes. No entanto, a tíbia é atestada pelos diversos estudos descritos na literatura como um recurso importante e válido para a análise da influencia de fatores locais e sistêmicos experimentais no comportamento ósseo no processo de osseointegração de implantes (SENNERBY, THOMPSEN e ERICSON, 1992; GOTFREDSEN *et al.*, 1995; WENNERBERG *et al.*, 1995, 1996 e 1997; COCHRAN *et al.*, 1998; CORDIOLI *et al.*, 2000; FERNANDES, 2003; UNIKOWSKI, 2003, PARK *et al.*, 2005, SUL *et al.* 2005).

O protocolo cirúrgico de obtenção da instalação dos implantes com estabilidade e sem estabilidade primária foi reproduzido a partir das metodologias utilizadas por Fernandes (2003) e Unikowski (2003). O tratamento dos coelhos obedeceu as normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais e o acompanhamento do peso dos coelhos demonstrou sinais de manutenção de saúde compatível com o experimento proposto (tabela 13 – anexo 1).

A escolha do teste estatístico utilizando o delineamento em blocos casualizados por coelho foi aplicado uma vez que o fator coelho demonstrou-se

ser uma importante causa de variação. Essa causa de variação teve uma influência estatisticamente significativa. Ou seja, conforme o coelho os valores de torque de remoção foram diferentes de outros coelhos e, portanto, a análise estatística precisou considerar essa influência. A confirmação de que a escolha de um teste estatístico paramétrico, Análise de Variância Múltipla, foi a mais correta foi baseada em testes de adequacidade como homogeneidade de variância e teste de normalidade de resíduos.

## **6.2 - RESULTADOS:**

A literatura analisada não dispõe de dados que pressupõe o efeito da associação dos três fatores analisados no estudo: implante liso ou texturizado; ausência ou presença de estabilidade primária e aplicação ou não de PRP. A literatura apresenta estudos que analisaram parcialmente esses fatores, porém, não em um mesmo experimento. Assim, existe uma limitação na comparação e na formulação de ilações sobre os achados do estudo baseando-se na literatura. A interação dos fatores pode promover comportamentos e resultados diferentes em relação a aplicação isolada de um dos fatores.

Os dados dos seis grupos experimentais revelaram que o grupo 4, implantes texturizados com estabilidade primária e sem PRP apresentou a maior média de remoção de torque, seguidos em ordem decrescente de valores de remoção por torque: grupo 1, implantes lisos com estabilidade e sem PRP, grupo 6, implantes texturizados sem estabilidade primária e com PRP, grupo 5, implantes texturizados sem estabilidade primária e sem PRP; grupo 2, implantes lisos sem estabilidade primária e sem PRP; grupo 3, implante liso sem estabilidade primária e com PRP.

Os grupos 1 e 4 foram superiores em médias aos demais grupos mesmo sem a aplicação do PRP e apresentaram um diferencial, a presença da estabilidade primária no momento da instalação dos implantes. A hipótese de que

a estabilidade primária fez a diferença no torque de remoção vai contra os achados de Fernandes (2003) e Unikowski (2003) que analisaram o torque de remoção e a formação óssea ao redor de implantes instalados em tíbia de coelho. Unikowski (2003) observou que a ausência de estabilidade primária não interfere de forma significativa na formação óssea ao redor dos implantes com superfícies lisas ou texturizadas. Fernandes (2003) observou que a estabilidade primária não foi decisiva na osseointegração dos implantes lisos e texturizados. Ivanoff, Sennerby e Lekholm (1996) analisaram a influência da estabilidade primária na osseointegração em coelhos e observaram que a total instabilidade inicial resulta em menor formação de osso em volta dos implantes, mas, que a mobilidade rotacional não leva a uma integração inferior em implantes não carregados em osso cortical como o do presente estudo. Para os autores, o coágulo formado logo após a inserção de implantes com mobilidade rotacional seria suficiente para impedir a proliferação de tecido fibroso.

As médias de remoção de torque nos grupos 1 e 4 que apresentaram estabilidade primária tiveram médias superiores, mas, cabe destacar que não apresentaram diferença estatística em relação aos demais grupos. Sob uma análise estatística, os resultados não diferiram e estão de acordo com os demais estudos.

O fato da falta de estabilidade primária não ter promovido diferença vai contra o protocolo cirúrgico estabelecido desde os primórdios da aplicação de implantes de titânio que preconizavam a presença de estabilidade primária como condição primordial para obtenção de sucesso no processo de osteointegração (BRÅNEMARK, 1983; BUSER, 1991; IVANOFF, SENNERBY e LEKHOLM, 1996; COOPER *et al.*, 1998; MASUDA *et al.*, 1998; MEREDITH, 1998, SCHENK e BUSER, 1998). A ausência de diferença na formação óssea observada nesses estudos não atesta a aplicação de implantes com mobilidade rotacional, principalmente, porque não são estudos conclusivos devido às suas limitações experimentais: osso cortical, experimento em coelho e ausência de carga, assim como, o presente estudo.

Entre os grupos com estabilidade primária, o grupo 4, com implantes texturizados foi superior ao grupo 1 com implantes lisos. Os demais grupos com implantes texturizados, também, se mostraram superiores nos valores de torque de remoção se comparados aos grupos de implantes lisos nas mesmas condições de presença ou ausência de estabilidade e aplicação ou não de PRP (tabelas 3 e 9). Os grupos 5 e 6 com implantes texturizados, sem estabilidade primária e sem estabilidade primária com PRP, respectivamente, foram superiores em média aos grupos 2 e 3 com implantes lisos, sem estabilidade primária e sem estabilidade primária com PRP, respectivamente.

Segundo Sykaras *et al.* (2000) os implantes texturizados podem melhorar a estabilidade primária e a adesão de líquidos e proteínas da matriz celular, mediadores da migração e diferenciação de células osteoprogenitoras. Martin *et al.* (1995) e Silva (2004) analisaram discos de titânio com diferentes rugosidades em que observaram uma proliferação celular maior em superfícies rugosas. Gotfredsen *et al.* (1995) observaram que os implantes texturizados apresentaram valores de remoção de torque significativamente maiores do que os lisos e que essa diferença foi maior no período de avaliação de 3 semanas de cicatrização do que em 12 semanas. Klokkevold *et al.* (1997) observaram que implantes texturizados através de ataque ácido aumentaram significativamente os valores de remoção de torque em relação aos implantes lisos, o período de manutenção dos implantes foi de 8 semanas. Klokkevold *et al.*, (2001), observaram que implantes texturizados através de duplo ataque ácido ou spray de plasma de titânio tiveram valores de remoção de torque superiores aos implantes lisos. Cho e Park (2003) também observaram superioridade estatisticamente significativa nos implantes texturizados, o período de manutenção dos implantes instalados foi maior, 12 semanas. Esses estudos estão em concordância com a superioridade das médias de remoção por torque observadas no presente estudo, porém, diferem quanto a observação de diferença estatisticamente superior nas superfícies e implantes texturizados que não foi encontrada no presente estudo.

O estudo de Fernandes (2003) é um dos poucos estudos da literatura que permitem a comparação dos valores de remoção de torque pela similaridade da

metodologia aplicada com implantes de mesma texturização e dimensões. Ivanoff *et al.* (1997) comprovaram que o diâmetro dos implantes afetam os valores de remoção de torque de forma direta e crescente e por essa razão os demais estudos são limitados para fins de comparação de valores de torque de remoção. Fernandes (2003) não aplicou a variável PRP nos grupos experimentais. Assim os valores que podem ser comparados estão relacionados aos grupos 1, 2, 4 e 5 (tabela 12). As diferenças entre os valores médios de remoção de torque em implantes lisos e texturizados foram menores no presente estudo. Fernandes (2003) observou uma diferença estatística na comparação entre implantes lisos e texturizados, o mesmo não ocorreu no presente estudo.

Em média os valores de remoção de torque observados no estudo de Fernandes (2003) foram menores em relação ao presente estudo (tabela 12). O peso dos animais no estudo de Fernandes (2003) variou de 2,75 a 4Kg, já no presente estudo os pesos variaram de 3,35 a 4,1Kg com média de 3,56 Kg ( $\pm 0,29$ ). O peso pode estar relacionado com a idade do coelho e por sua vez pode estar relacionado com a condição óssea da tíbia. A diferença entre os pesos máximos e mínimos não foi grande, mas, a média e o desvio padrão do peso dos coelhos não estão descritos no estudo de Fernandes e, portanto, não foi possível comparar corretamente a diferença entre os pesos dos coelhos nos dois estudos. A diferença entre as médias de remoção por torque pode estar, também, relacionada com a especificidade de cada coelho. Apesar de todos os coelhos terem a mesma origem, criação e alimentação, a análise estatística comprovou no presente estudo que o coelho foi causa de variação estatisticamente significativo nos valores de remoção de torque (tabelas 4, 6, 8 e 11).

Além disso, o presente estudo instalou três implantes em cada tíbia, abrangendo uma maior área de instalação dos implantes na tíbia. Assim, a diferença na região anatômica, apesar de ser pequena, pode ter causado uma diferença nos resultados de remoção de torque. No entanto, mesmo com estas possíveis diferenças metodológicas, o que foi observado é uma média de remoção de torque similar, o que pode indicar que as metodologias aplicadas foram

compatíveis e são passíveis de comparação. Isso atesta a comparação entre os resultados dos dois estudos.

Tabela 12- Valores de remoção de torque do presente estudo e o estudo de FERNANDES, 2003.

Grupo	Remoção por torque (Ncm)			
	Presente estudo		Estudo de FERNANDES	
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
Grupo 1- implante Liso Com estabilidade primária e sem PRP	53,01	9,68	33,1	4,3
Grupo 2- implante Liso sem estabilidade primária e sem PRP	45,29	16,90	29,4	4,2
Grupo 3- implante Liso sem estabilidade primária e com PRP	43,43	16,70	Ausente	Ausente
Grupo 4- implante texturizado com estabilidade primária e sem PRP	56,60	16,00	47,4	9,5
Grupo 5- implante texturizado sem estabilidade primária e sem PRP	46,89	15,60	52,9	13,3
Grupo 6- implante texturizado sem estabilidade primária e com PRP	48,49	17,06	Ausente	Ausente

\*ausente=grupo ausente no estudo realizado por FERNANDES, 2003.

Fernades (2003) observou uma média de valores de remoção de torque de 40,7 Ncm enquanto o presente estudo teve uma média de 50,44Ncm. Os implantes texturizados apresentaram valores similares 50,15 Ncm e 51,74 Ncm no estudo de Fernandes e presente estudo. Por outro lado, os implantes lisos foram significativamente inferiores no estudo de Fernandes que apresentaram uma média de 31,25 Ncm para 49,15Ncm do presente estudo. Por essa discrepância Fernandes observou que os implantes texturizados apresentaram uma superioridade estatisticamente significativa se comparados aos implantes lisos. O presente estudo observou uma pequena superioridade na média dos implantes texturizados, no entanto, sem diferença estatística. Fernandes (2003) observou ainda que os implantes lisos com estabilidade foram superiores aos sem estabilidade, no entanto, os implantes texturizados com estabilidade primária foram inferiores aos implantes sem estabilidade. Apesar desses resultados, não foi

observado diferença estatística entre os grupos. No presente estudo, os implantes com estabilidade lisos e texturizados foram superiores na média em comparação aos implantes lisos e texturizados sem estabilidade, respectivamente. Mas, em concordância com o estudo de Fernandes, também, não foi observado diferença estatisticamente significativa.

Nos implantes lisos, os valores médios de remoção de torque foram superiores na condição 1- implantes com estabilidade primária e sem PRP, seguidos da condição 2- implantes sem estabilidade primária e sem PRP e finalmente, condição 3- implantes sem estabilidade primária e com PRP. A presença do PRP na condição 3 não determinou uma média superior de remoção de torque em relação a condição 2 e também, não foi capaz de promover valores mais próximos da condição 1, condição com estabilidade primária e que poderia ser considerada como referência de controle nessa comparação entre as três condições nos implantes lisos. A condição com estabilidade primária, condição 1, foi superior as demais condições sem estabilidade primária mesmo na presença de PRP, apesar das diferenças em suas médias nenhum dos grupos foi diferente estatisticamente (tabela 5 e 6). Nos implantes texturizados, os valores médios de remoção de torque foram superiores na condição 1- implantes com estabilidade primária e sem PRP em relação às demais condições locais, porém, a condição 2- implantes sem estabilidade primária e sem PRP foi inferior a condição 3- implantes sem estabilidade primária e com PRP. Nos implantes texturizados, a condição 3 em que a única diferença está na presença do PRP em relação a condição 2, a média observada foi superior a essa condição local. No entanto, a presença de PRP em uma situação sem estabilidade primária na condição 3 não foi capaz de equiparar a uma situação com estabilidade primária mesmo sem PRP, a condição 1. Apesar das diferenças em suas médias nenhum dos grupos foi diferente estatisticamente (tabela 7 e 8).

As condições locais do experimento conduziram a instalação dos implantes em três situações distintas: 1- implante com estabilidade primária e sem PRP; 2- implante sem estabilidade primária e sem PRP; 3- implante sem estabilidade primária e com PRP. Como já foi relatado, quando a Análise de Variância, com

delineamento em blocos casualizados, ao nível de significância de 5% foi aplicado sobre os grupos experimentais, não foi observado diferença na média de remoção por torque (Ncm) (tabela 3 e 4).

No entanto, quando os grupos experimentais foram unidos de acordo com a condição local apenas, observou-se diferença estatisticamente significativa entre as condições 1- implantes com estabilidade primária e sem PRP e 3- implantes sem estabilidade primária e com PRP. A condição 2- implantes sem estabilidade primária e sem PRP teve uma média muito similar a condição 3- implantes sem estabilidade primária e com PRP. Em relação a condição 1- implantes com estabilidade primária e sem PRP, a condição 2- implantes sem estabilidade primária e sem PRP foi menos similar, no entanto, não foi observado diferença estatisticamente significativa em relação a esses dois grupos experimentais. A estabilidade primária, condição 1, promoveu uma superioridade em média de remoção de torque em relação aos grupos sem estabilidade, no entanto, estatisticamente diferente apenas em relação a condição 3. Na ausência de estabilidade primária o PRP não foi capaz de promover uma média superior na remoção de torque. A associação de PRP na ausência de estabilidade primária não foi capaz de equiparar os valores de remoção de torque em relação a condição com estabilidade primária (tabela 3 e 10).

O PRP apresenta uma alta concentração de plaquetas e conseqüentemente, alta concentração de fatores de crescimento que são responsáveis por processos com diferenciação e proliferação celular, segundo Marx e Garg (2005). A capacidade do PRP de modificar a velocidade da formação e maturação óssea é apresentada de forma controversa na literatura.

Marx, Carlson e Eichstaedt (1998) observaram que o PRP acelera a formação óssea. Zechner *et al.* (2003) observaram que a aplicação tópica do PRP é capaz de promover uma maior área de contato osso-implante em 6 semanas (24,2% e 44,21% para grupos controle e PRP, respectivamente), estatisticamente diferente. Porém, em 12 semanas os valores não se diferiram entre grupo controle e PRP. Sendo que o controle passou a ter um contato ósseo de 51,3% e o PRP passou para 44,2%. Para os autores, o efeito do PRP na osteointegração está

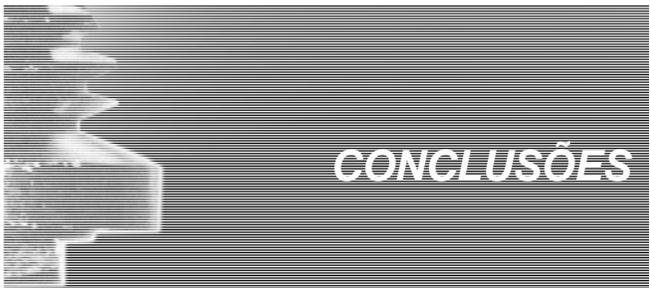
relacionado ao tempo de observação. Fuerst *et al.* (2003) observaram que em 4 semanas de acompanhamento em experimento com porcos o PRP é capaz de aumentar significativamente a área de contato ósseo na superfície do implante. Kilian *et al.* (2004) observaram que o PRP aumentou a diferenciação de células mesenquimais em células osteogênicas. Kanno *et al.* (2005) observaram que o PRP aumentou a proliferação de osteoblastos em cultura de células. Marx e Garg (2005), o enxerto associado ao PRP promove uma formação de osso trabecular significativamente maior se comparado a uma situação sem o PRP. Além disso, o PRP quando aplicado nos implantes teria a capacidade de acelerar o processo de divisão celular, migração e produção de tecido osteóide, maturação óssea e eventual conexão entre o osso e a superfície do implante. Fontana *et al.* (2004) observaram que o PRP quando aplicados em implantes laminados em ratos o volume de osso peri-implantar foi significativamente maior. Ferreira (2002) observaram que o PRP promove proliferação de células osteoblásticas e sugerem a aplicação clínica em procedimentos de enxertia óssea.

Por outro lado, Yamada *et al.* (a) e (b) (2004) observaram que o PRP aumentou a densidade óssea e o contato ósseo com o implante em relação ao grupo controle, porém, não foi estatisticamente significante. Schelegel *et al.* (2004), observaram que o PRP não foi capaz de promover resultados significativamente melhores em enxertos autógenos. Cho *et al.* (2004) não observaram melhor desempenho na formação óssea quando o PRP foi aplicado. Butterfield *et al.* (2005) não observaram diferença quando o PRP foi aplicado. Aghaloo *et al.* (2005) também, não observou melhora significativa quando o PRP foi aplicado. Monov *et al.* (2005) observaram através de frequência de ressonância que quando o PRP é inserido no sítio da colocação do implante não acrescenta estabilidade maior estatisticamente significativa na osseointegração em um período de 44 dias. Sánchez *et al.* (2005) analisaram a influência do plasma rico em plaquetas associado a osso liofilizado na densidade mineral do osso ao redor de implantes dentários e também, não observaram um significativo aumento. Esses autores estão em concordância com os achados do presente estudo em que os grupos sem estabilidade primária com PRP aplicado não diferiram dos

demais grupos sem estabilidade primária. Analisando os grupos apenas sem estabilidade, o PRP não foi eficaz na promoção de melhor osseointegração.

O presente estudo não realizou análise de área de contato ósseo na superfície do implante, bem como, não avaliou a maturação óssea do osso formado. O estudo apenas mensurou os valores de torque de remoção e por essa razão não apresenta dados que possam elucidar a relação de causa e efeito dos dados observados. Analisando apenas os dados do presente estudo, o PRP não foi capaz de influenciar os valores de remoção de torque de forma significativa quando os implantes foram instalados sem estabilidade primária.

O PRP não modificou os valores de remoção por torque nos grupos experimentais analisados. Cabe destacar que os coelhos não apresentaram alterações sistêmicas que pudessem dificultar o processo da osseointegração. A análise da ação do PRP em situações com maiores desafios sistêmicos como baixa concentração plaquetária, anemia, deficiência de coagulação, presença de diabetes e osteoporose poderá ser importante. O PRP pode não ser um agente importante em condições sistêmicas normais, porém, poderá fazer a diferença em condições adversas. A realização de novos estudos para confirmação dos resultados experimentais observados no presente estudo é importante, para consolidar e esclarecer os seus achados. Mesmo que os resultados tenham demonstrado que a instabilidade rotacional não faz diferença estatisticamente significativa na osseointegração final, não há comprovação que permita extrapolar para a aplicação clínica. Assim como, a ineficiência do PRP neste experimento não a condena como uma técnica de aprimoramento dos resultados clínicos. Existe um longo caminho a ser percorrido para que as conclusões do presente estudo tenham real validade na aplicação clínica em pacientes e não apenas em coelhos.



## 7 - CONCLUSÕES:

- 1- Os valores de torque de remoção nos seis grupos experimentais não diferiram estatisticamente entre si;
- 2- A texturização dos implantes não promoveu diferença significativa se comparado aos implantes lisos;
- 3- O PRP não foi capaz de modificar significativamente o torque de remoção em implantes instalados sem estabilidade primária;
- 4- A falta de estabilidade primária promoveu valores de torque de remoção menores, porém, não significativos;
- 5- Houve diferença estatística, apenas quando as condições locais foram analisadas desconsiderando o tipo de implante. E nessa análise, a condição de inserção dos implantes com estabilidade primária e sem PRP diferiu estatisticamente da condição sem estabilidade primária e com PRP. E as duas condições sem estabilidade primária: com e sem PRP, não diferiram estatisticamente entre si.



## REFERÊNCIAS\*:

ABRAHAMSSON, I.; ZITZMANN, N.; BERGLUNDH, T.; WENNERBERG, A.; LINDHE, J. Bone and soft tissue integration to titanium implants with different surface topography: an experimental study in dog. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v.16, n.3, p. 323-332, May/Jun. 2001.

AGHALOO, T.; MOY, P.K.; FREYMILLER, E.G. Evaluation of PRP in combination with freeze-ched bone. **Clin.Oral. Implant. Res.**, Copenhagen, v.6, p.250-7, May 2005.

ADELL, R.; LEKHOLM, U.; ROCKLER, B.; BRANEMARK, P.-I. A 15-year study of osseointegrated implants in treatment of edentulous jaw. **Int. J. Oral. Surg.** Copenhagen, v.10, n.6, p.387-416, Dec. 1981.

ALBREKTSSON, T.; FOHANSSON, C.; LUNDGREN, A.; SUL, Y.; GOTTLOW, J. Experimental studies on oxidized implants. **Appl. Osseoint. Res.** New York, v.1, n.1, p.21-24, Jan. 2000.

BAHAT, O. Brånemark system implants in the posterior maxilla: clinica study of 660 implants followed for 5 to 12 years. **The Int. J. Oral. Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v.15, n.5, p.646-53, Set./Oct. 2000.

BAKER, D.; LONDON, R.; O'NEAL, R. Rate of pull-out gain of dual-etched titanium implants: a comparative study in rabbits. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v. 15, n. 5, p. 722-728, Set./Oct. 1999.

BORGES, V. Influência das rugosidades superficiais de protótipos de titânio no volume de tecido ósseo inicial formado usando microscopia de varredura confocal a laser. 1999. **Dissertação (mestrado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.** Bauru.

\*conforme ABNT –NBR 6023 de agosto de 2002

BRÅNEMARK, P-I. Osseointegration and its experimental background. **J.Prosthet. Dent.** Orlando, v.50, n.3, p.399-410, Mar.1983.

BRUNSKI, J.;PULEO, D.; NANCI, A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v.15, n.1, p.15-46, Jan./Feb. 2000.

BUSER, D.; SCHENK, R.; STEINEMANN, S.; FIORELLINI, J.; FOX, C.; STICH, H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. **J. Biomed. Mate. Rest.**, Hoboken, v.25, p.889-902, Jul., 1991.

BUSER, D.; NYDEGGER, T.; HIRT, H.P.; COCHRAN, D.J.; NOLTE, L.P. Removal torque values of titanium in the maxilla of miniature pigs. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v.13, n.5, p.611-19, Sep./Oct. 1998

BUTTERFIELD, K.J.; BENNETT, J., GRONOWICZ, G., ADAMS, D.. Effect of platelet-rich plasma with autogenous bone graft for maxillary sinus augmentation in a rabbit model. **J. Oral. Maxillofac. Surg.** Copenhagen, v.63, p.370-6, 2005.

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

CHO, B.; IM, -J.; HUH, J.-Y.; SUH, J.-J.; LEE., S.-H. Effect of platelet-rich plasma one bone regeneration in autogenous bone graft. **Int.J. Oral. Maxillofac.Surg.** Copenhagen, v.33, p.56-9, 2004.

COCHRAN D. L.; SCHENK, R.; LUSSI, A.; HIDDINBOTTON, F.; BUSER, D. Bone response to unload titanium implants with a sandblasted and acid etched surface: a histometric study in the canine mandible. **J. Biom. Mate. Rest.**, Hoboken, v.40,p.1-11, 1998.

COOPER, L.; MASUDA, T.; YLIHEIKKILÄ, P.; FELTON, D. Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. Part II. In vitro studies. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v.13, n.2, Jan./Feb. 1998.

CORDIOLI, G.; MAJZOUN, Z.; PIATELLI, A.; SCARANO, A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v.15, n.5, p.668-674, Sep./Oct. 2000.

FERNANDES, E. DE LIMA. **Avaliação da influência da estabilidade primária na osseointegração de implantes lisos e texturizados.** Dissertação de mestrado em Prótese Dentária da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 99 p. Porto Alegre, 2003.

FERREIRA, J.P.S. **Análise histomorfométrica do implante osseotite após 45 dias de cicatrização na tíbia de coelhos.** Dissertação de mestrado em Odontologia com ênfase em prótese – Faculdade de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil, 81 p. Canoas, 2002.

FONTANA, S., OLMEDO, D.G., LINARES JA, GUGLIELMOTTI MB, CROSA ME. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. **Implant Dent.** N.13, v.1, p.73-8, Mar., 2004.

FRANKE STENPORT, V.; JOHANSSON, C.B.; SAWASE, T.; YAMASAKI, Y.; OIDA, S. FGF-4 and titanium implants: a pilot study in rabbit bone. **Clin. Oral Implants Res.** v.14, n.3, p.363-8, Jun. 2003.

FRANKE STENPORT, V.; JOHANSSON, C.B. Enamel matrix derivate and titanium implants. **J. Periodontol.** v.30, n.4, p.359-63, Apr. 2003.

FREYMILLER, E.G.; AGHALOO, T.L.. Platelet-rich plasma: ready or not? **J.Oral.Maxillofac.Surg.** Copenhagen, v.62, p.484-8, 2004.

FUERST,G., GRUBER, R., TANGL, S., ZECHNER, W., HAAS, R., MAILATH, G., SANROMAN, F., WATZEK, G. Sinus grafting with autogenous platelet-rich plasma and bovine hydroxyapatite. A histomorphometric study in minipigs.**Clin Oral Implants Res.** n.14, v.4, p.500-8, Aug., 2003.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. Sangue e hemopoiese in:**Tratado de histologia em cores.** Editora Guanabara Koogan s.a. 426p.1999 (a).

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. Cartilagem e osso in:**Tratado de histologia em cores.** Editora Guanabara Koogan s.a. 426p.1999 (b).

GOTFREDSEN, K.; WENNERBERG, A.; JOHANSSON, C.; SKOVGAARD, L.T. & HJØRTING-HANSEN, E. Anchorage of TiO<sub>2</sub>-blasted, HA-coated, and machined implants: An experimental study with rabbits. **J. Biom. Mat. Res.** Hoboken, v.29, n.1, p.1223-1231, Oct.1995.

HALL, J.; MIRANDA-BURGOS, P.; SENNERBY, L. Stimulation of directed bone growth at oxidized titanium implants by macroscopic grooves: an in vivo study. **Clin. Implant. Dent. Relat. Res.** v.7, Suppl 1, p.76-82, 2005.

HERMANN, I.; LEKHOLM, U.; HOLM, S.; KULTJE, C. Evaluation of patient and implant characteristics as potential prognostic factors for oral implant failures. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v. 20, n. 2, p.220-230, Mar./Apr. 2001.

ICHIKAWA, T.; HANAWA, T.; UKAI, H.; MURAKAMI, K. Three-dimensional bone response to commercially pure titanium, hydroxyapatite, and calcium-ion-mixing titanium in rabbits. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v.15, n.2, p.231-238, Mar./Apr. 2000.

IVANOFF,C.-J.; SENNERBY,L.; JOHANSSON, C., RANGERT, B., LEKHOLM, U. Influence of implant diameters on the integration of screw implants. An

experimental study in rabbits. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.** Copenhagen, n.26, v.2, p.141-8, Apr. 1997.

IVANOFF,C.-J.; SENNERBY,L.; LEKHOLM, U. Influence of initial implant mobility on the integration of titanium implants. An experimental study in rabbits. **Clin. Oral Implants Res.** 1996 N.7, V.2, P.120-7, Jun. 1996

ICHIKAWA, T.; HANAWA, T.; UKAI, H.; MURAKAMI, K. Three-dimensional bone response to commercially pure titanium, hidroxyapatite, and calcium-ion-mixing titanium in rabbits. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v.15, n.2, p.231-238, Mar./Apr. 2000.

JAFFIN, R.A.; BERMAN, C.L. The excessive loss of Branemark fixture in type IV bone: a 5 year analysis. **J. Periodontol.**, Chicago, v.62, n.1, p.-2-4, Jan., 1991.

JUNQUEIRA e CARNEIRO. Histologia básica. 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.111-128, 427p. 1999.

KANNO, T., TAKAHASHI, T., TSUJISAWA, T., ARIYOSHI, W., NISHIHARA, T. Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation. **J. Oral Maxillofac. Surg.** Copenhagen, n.63, v.3, p.362-9, Mar., 2005.

KELLER, J.C.; SCHENEIDER, G.B.; STANFORD, C.M.; KELLOG, B. Effects of implant microtopography on osteoblast cell attachment. **Implant dent.**, Philadelphia, v.12, n.2, p.175-181, Feb. 2003.

KILIAN, O., FLESCH, I., WENISCH, S., TABORSKI, B., JORK, A., SCHNETTLER, R., JONULEIT, T. Effects of platelet growth factors on human mesenchymal stem cells and human endothelial cells in vitro. **Eur J Med Res.** n.9, v.7, p.337-44, Jul., 2004.

KLOKKEVOLD, P.R.; JOHSON, P.; DAGOSTARI, S.; CAPUTO, A. ; DAVIES, J.E.; NISHIMURA, R.D. Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium: a torque removal study in the rabbit. **Clin. Oral.Impl.Res.** Copenhagen, v.12, n.4, p.350-7, Dec. 2001

KLOKKEVOLD, P.R.; NISHIMURA, R.D.; ADACHI, M. & CAPUTO, A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. **Clin. Oral. Impants. Res.** Copenhagen, v.8, p.442-447, Aug. 1997.

LAMPIM, M.; WAROCQUIER-CLROUT, R.; LEGRIS, C.; DEGRANGE, M.; SOGOT-LUIZARD, M. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. **J. Biom. Mat. Res.** Hoboken, p. 99-108, 1996.

LUMBIKANONDA, N.; SAMMONS, R. Bone cell attachment to dental implants of different surface characteristics. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v. 16, n. 5, p.627-636, Sep./Oct. 2001.

MARTIN, J.Y.; SCHAWARTZ, Z.; HUMMERT, T.W.; SCHRAUB, D.M.; SIMPSON, J.; LANKFORD JR.; J., DEAN, D.D.; COCHRAN, D.L.; BOYAN, B.D. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). **J. Biom.Mat.Res.**, Hoboken, v.29, n.3, p.389-401, Mar. 1995

MARX, R.E.; CARLSON, E.R.; EICHSTAEDT, R.. Platelet rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endo.** v.85, p.638, 1998.

MARX, R.E.; GARG, A.K. The biology of platelets and the mechanism of platelet-rich plasma in: **Dental and craniofacial applications of platelet-rich plasma.** Quintessence Publising Co, Carol Stream, Illinois, 154 p, 2005.

MASUDA, T.; YLIHEIKKLÄ, P.; FELTON, D.; COOPER, L. Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. Part I. In vivo studies. **The Int. J. Oral Maxillofac.Implants.** Carol Stream, v.13, n.1, 1998.

MEREDITH, N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. **The Int. J. Prosthodont.**, Carol Stream, v.11, n.5, p.491-521, Sep./Oct.1998.

MISCH, C.E. **Implantes Dentários Contemporâneos**. 2<sup>a</sup>.ed.São Paulo. Santos, 2000. 685p.

MONOV, G., FUERST, G., TEPPER, G., WATZAK, G., ZECHNER, W., WATZEK, G. The effect of platelet-rich plasma upon implant stability measured by resonance frequency analysis in the lower anterior mandibles. **Clin Oral Implants Res.** n.16, v.4, p.461-5, , Aug., 2005.

O'SULLIVAN, D.; SENNERBY, L.; MEREDITH, N. Influence of implant taper on the primary and secondary stability of osseointegrated titanium implants. **Clin. Oral Implants Res.** v.15, n.4, p.474-80, Aug. 2004.

PARK, Y.S.; YI, K.Y.; LEE, I.S.; HAN, C.H.; JUNG, Y.C. The effect of ion beam-assisted deposition of hydroxyapatite on the grit-blasted surface of endosseous implants in rabbit tibiae. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v.20, n.1, p.31-8, Jan. 2005.

ROSSI JUNIOR, R.; SOUZA FILHO, M.A.P.. Obtenção de trombina autógena - proposta de um protocolo simplificado e de fácil reprodução clínica. **Revista Paulista de Odontologia**, n.05; Set./Out. 2004.

SÁNCHEZ, A.R.; ECKERT, S.E.; SHERIDAN, P.J.; WEAVER, A.L. Influence of platelet-rich plasma added to xenogeneic bone grafts on bone mineral density associated with dental implants. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v. 20, n. 4, p.526-632, Jul./Aug. 2001.

SCHENCK, R.K.; BUSER, D. Osseointegration: a reality. In *Periodontology 2000: implant dentistry*. Ed. Lang, N.P. v.17, p.22-35.1998.

SCHELEGEL,K.A.; DONATH, K.; RUPPRECHT, S.; ZIMMERMANN, F.R.; FELSZEGHY, E.; WILTFANG, J.De novo bone formation using ovine collagen and platelet-rich plasma. **Biomaterials**, Surrey, v.25, p.5387-93, 2004.

SENNERBY, L.; THOMPSEN,P.; ERICSON, L.E.. A morpholetric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. **The Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v.7, n.1, p.62-71, 1992.

SENNERBY, L.; DASMAH, A.; LARSSON, B.; IVERHED, M. Bone tissue responses to surface-modified zircônia implants: a histomorphometric and removal torque study in the rabbit. **Clin. Implant. Dent. Relat. Res.** V.7, Suppl 1, p.13-20, 2005.

SILVA, T.S.N. **Efeito da rugosidade de superfície de discos de titânio sobre a proliferação e diferenciação de células de medula óssea humana.** Dissertação de mestrado em Prótese Dentária da Faculdade do Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 112 p. Porto Alegre, 2004.

STACH, E.M.; KOHLES, S.S. A meta-analysis examining the clinica survivability of machined-surfaced and osseotite implants in poor-quality bone. **Implant Dent.** Philadelphia. v. 12, n.1, 87-96, Jan. 2003.

SUL, Y.T.; JOHANSSON, C.; WENNERBERG, A.; CHO, L.R.; CHANG, B.S.; ALBREAKTSSON, T. **The Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v.20, n.3, p.349-59, May-Jun, 2005.

SULLIVAN,D.; SHERWOOD, R.; MAI, T. Preliminary results of multicenter study evaluating a chemically enhanced surface for machined commercially pure titanium implants. **J. Prosthet. Dent.**, Orlando, v.78, n. 4, p.379-386, Apr. 1997.

SYKARAS, N.; IACOPINO, M.; MARKER, V.; TRIPLETT, G.; WOODY, R. Implant materials, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. **The Int. J. Oral Maxillofac. Impl.** Carol Stream, v. 15, n. 5, p. 675-690, 2000.

TRIPLETT, R.G.; SCHOW, S.R.; LASKIN, D.M. Oral and maxillofacial surgery advances in implant dentistry. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v. 15, n. 1, p.47-55, Jan./Feb. 2000.

UNIKOWSKI, I.L. **Avaliação da relevância da estabilidade primária em implantes lisos e texturizados: análise histomofométrica.** Dissertação de mestrado em Prótese Dentária da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 60 p. Porto Alegre, 2003.

WEIBRICH, G.; KLEIS, W.K.G.; HITZLER, W.E.; HAFNER, G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. **The Int. J. Oral Maxillofac. Implants.** Carol Stream, v. 20, n. 1, p.118-123, Jan./Feb. 2005.

WENNERBERG, A.; ALBERKTSSON, T.; ANDERSON, B.; KROLL, J.J. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. . **Clin. Oral Implant. Res.**, Copenhagen, v.6, n.1, p.24-30, Mar. 1995.

WENNERBERG, A.; ALBERKTSSON, T.; LAUSMAA, J. Torque and histomorphometric evaluation of c.p. titanium screws blasted with 25- and 75- $\mu$ m sized particles of AL<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. **J. Biomed. Mater. Res.** New York, v.30, n.2, p.251-260, Feb.1996.

WENNERBERG, A.; EKTESSABI, A.; ALBREKTSSON, T.; JOHANSSON, C.; ANDERSSON, B. A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone. **The Int. J. Oral Maxillofac.Impl.** Carol Stream, p.486-494, 1997.

YAMADA, Y.; UEDA, M.; NAIKI, T.; NAGASAKA, T.. Injectable bone for regeneration with MSCs and PRP, and dental implant. **Clin.Oral.Implant.Res.** Copenhagen, v.5, p.589-97, May 2004.

YAMADA, Y.; UEDA, M.; NAIKI, T.; NAGASAKA, T.. Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. **Clin. and Oral Implantodol.** , v.15, p.589-597, 2004.

ZECHNER, W., TANGL, S., TEPPER, G., FURST, G., BERNHART, T., HAAS, R., MAILATH, G., WATZEK, G. Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. **Int J Oral Maxillofac Implants.** n,18, v.1, p.15-22, Jan-Feb., 2003.



## ANEXO 1 – PESAGEM DOS COELHOS AO LONGO DO EXPERIMENTO

**Tabela 13- Peso em quilogramas dos coelhos em momentos do experimento:**

	Datas das pesagens realizadas ao longo do experimento						
Coelhos	1/4/2005	8/4/2005	15/4/2005	28/4/2005	5/5/2005	11/5/2005	20/5/2005
1	4,1	3,9	3,65	3,9	3,9	4,2	4,2
2	3,35	3,4	3,3	3,25	3,35	3,55	3,47
3	3,4	3,25	3,15	3,2	3,25	3,45	3,32
4	3,45	3,45	3,4	3,5	3,65	3,8	3,77
5	3,45	3,4	3,3	3,35	3,45	3,6	3,62
6	3,85	3,85	3,7	3,45	3,55	2,95	3,97
7	3,35	3,25	3,2	3,1	3,25	3,6	3,67
média	3,56	3,5	3,38	3,39	3,48	3,59	3,71
desvio padrão	0,29	0,27	0,21	0,26	0,23	0,37	0,29

ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO PROJETO DE TESE PELA COMISSÃO  
CIENTÍFICA E ÉTICA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUCRS





*Comissão Científica e de Ética  
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

---

**Porto Alegre 23 de fevereiro de 2005.**

**O Projeto de: Tese**

**Protocolado sob nº:** 0093/04

**Intitulado:** *Torque de Remoção de Implantes Lisos e Texturizados Sem Estabilidade Primária Associados a Plasma Rico em Plaquetas*

**do(a) aluno(a):** *Roberto Makoto Suzuki*

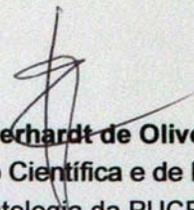
**Programa de:** *Odontologia*

**do curso de:** *Prótese Dentária*

**Nível:** *Doutorado*

**Orientado pelo(a):** *Prof. Dr. Eduardo Rolim Teixeira*

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 21 de janeiro de 2005.

  
**Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**  
Presidente da Comissão Científica e de Ética da  
Faculdade de Odontologia da PUCRS

ANEXO 3 - NORMAS PARA A PRÁTICA DIDÁTICO-CIENTÍFICA DA  
VIVISSECÇÃO DE ANIMAIS

Art.1 – Fica permitida, em todo território nacional, a vivissecção de animais, nos termos desta lei.

Art.2 – os biotérios e os centros de experiência e demonstrações com animais vivos deverão ser registrados em órgão competente e por ele autorizados a funcionar.

Art.3 – A vivissecção não será permitida:

I – sem emprego de anestesia;

II – em centros de pesquisa e estudos não registrados em órgão competente;

III – sem supervisão de técnico especializado;

IV – com animais que não tenham permanecido mais de 15 (quinze) dias em biotérios legalmente autorizados;

V – em estabelecimento de ensino de 1º e 2º graus e em quaisquer locais freqüentados por menores de idade (Brasil. Lei 6638, de 08 de maio de 1979, que estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais e determina outras providências).

Art.4 – O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos das experiências que constituem a pesquisa ou os programas de aprendizagem cirúrgica, quando ou após a vivissecção, receber cuidados especiais.

Parágrafo1 – Quando houver indicação, o animal poderá se sacrificado sob estrita odediência às prescrições científicas;

Parágrafo 2 – Caso não sejam sacrificados, os animais utilizados em experiências ou demonstrações somente poderão sair do biotério 30 (trinta) dias após a

intervenção, desde que destinados a pessoas ou entidades idôneas que por eles queiram responsabilizar-se.

Art.5 – Os infratores desta lei estarão sujeitos:

I – às penalidades cominadas no artigo 64, apud, do decreto-lei 3688, de 03/10/41, no caso de ser a primeira infração;

II – à interdição e cancelamento do registro do biotério ou do centro de pesquisas, no caso de reincidência.

Art.6 – O poder executivo, no prazo de 90 (noventa) dias, regulamentará a presente lei, especificando:

I – o órgão competente para o registro e a expedição de autorização dos biotérios e centros de experiências e demonstração com animais vivos;

II – as condições gerais exigíveis para o registro e o funcionamento dos biotérios;

III – órgãos e autoridades competentes para a fiscalização dos biotérios e centros mencionados no inciso I.

Art.7 – Esta lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art.8 – Revogam-se as disposições em contrário.

Responsável técnica:

Médica Veterinária: Luisa Maria de Macedo Braga – CRMV: 2393

Bióloga: Patrícia Sesterheim – CRB: 25459-03P

A/correspondência:

DIVISÃO DE PRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL-FEPPS:

Rua: Domingo Crescêncio, 132/4º andar

Bairro Santana – Porto Alegre;R.S.

CEP: 90650-090

Fone/fax: 3217-9624

#### NORMAS:

A – Todo pesquisador deverá encaminhar à SEA (seção de experimentação animal/DPEA) o formulário devidamente preenchido para a avaliação e aprovação;

B – O pesquisador deverá cumprir o cronograma estabelecido para uso do local;

C – Todo procedimento que envolver procedimentos cirúrgicos deverá seguir as normas de ética e legislação vigentes;

D – Quanto aos animais utilizados, a origem será: DPEA ou de lugar idôneo;

E – Todo animal que entrar no biotério deverá sofrer quarentena para avaliação prévia;

F – Ao pesquisador caberá:

1 – racionalizar o número de pessoas circulantes dentro do biotério e o número de vezes que entrar no setor;

2 – não circular com avental já utilizado em outro ambiente;

3 – em nenhuma hipótese, entrar nas salas de criação;

G – O pesquisador deverá providenciar, pessoalmente, quaisquer materiais e instrumentos necessários à sua pesquisa, devendo, os mesmos, serem mantidos em caixas e identificados;

H – Os reponsáveis pela SEA deverão ser informados, de qualquer alteração na dieta e rotina dos animais e manter as normas de uso do laboratório.

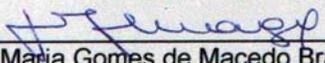
ANEXO 4 - SOLICITAÇÃO E AUTORIZAÇÃO DA COORDENAÇÃO DE  
PRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL DA FUNDAÇÃO ESTADUAL DE  
PRODUÇÃO E PESQUISA EM SAÚDE (FEPPS)



## AUTORIZAÇÃO

A COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, informa que o pesquisador **Roberto Makoto Suzuki** solicitou nosso apoio para a realização de sua pesquisa intitulada **TORQUE DE IMPLANTES LISOS E TEXTURIZADOS SEM ESTABILIDADE PRIMÁRIA ASSOCIADOS A PLASMA RICO EM PLAQUÊTA** que, uma vez aprovada pelo Comitê de Ética de sua instituição, poderá ser desenvolvida em nossas instalações.

*Porto Alegre, 12 de novembro de 2004.*

  
Luisa Maria Gomes de Macedo Braga  
Chefe da CPEA

ANEXO 5- CERTIFICADO DE CALIBRAÇÃO DO TORQUÍMETRO





FERRAMENTAS GEDORE DO BRASIL S.A  
 LABORATÓRIO DE CALIBRAÇÃO DE TORQUE  
 Vicentina Maria Fideles, 275 - São Leopoldo/RS - Brasil  
 Fone: (0xx51) 589-9200 Fax: (0xx51) 589-9222  
 Email: atq@gedore.com.br  
 Laboratório filiado à Rede Metrológica RS sob N° 5001



## CERTIFICADO DE CALIBRAÇÃO

N° : 3356/05

Pág.: 01 de 02

**Cliente:** União Brasileira de Educação e Assistência - PUCRS  
**Endereço:** Av. Ipiranga, 6681 - Porto Alegre/RS - Brasil.  
**Solicitação:** 31669

### EQUIPAMENTO CALIBRADO

**Código:** 133 961-3.00  
**Descrição:** Torquímetro axial digital. Faixa nominal 15 a 150N.cm, resolução 0,1N.cm.  
**Fabricante:** Torqueleader, modelo TSD150. Tipo I, classe E.  
**N° de Fabricação:** 117317

### Padrão(ões) Utilizado(s)

**Patrimônio:** 23/62  
**Descrição:** Sistema Eletrônico dos Transdutores.  
**Fabricante:** Norbar 37516  
**Certificado:** 104961  
**Data Calibração:** 28/05/04  
**Validade:** 30/05/06  
**Entidade:** Norbar/Ukas

**Patrimônio:** 23/54  
**Descrição:** Transdutor Estático 0,1000 a 1,0000N.m.  
**Fabricante:** Norbar 39586  
**Certificado:** 104968  
**Data Calibração:** 02/06/04  
**Validade:** 30/06/06  
**Entidade:** Norbar/Ukas

**Patrimônio:** 23/55  
**Descrição:** Transdutor Estático 0,5000 a 5,0000N.m.  
**Fabricante:** Norbar 39587  
**Certificado:** 104969  
**Data Calibração:** 02/06/04  
**Validade:** 30/06/06  
**Entidade:** Norbar/Ukas

### Dados Gerais da Calibração

**Ambiente:** Temperatura 20 +/- 2°C  
 Umidade Relativa do Ar 65 +/- 15%  
**Instrução:**  
**Utilizada:** Instrução Gedore ISQ1141 de 18/07/05  
 revisão 07.  
**Norma de**  
**Referência:** ISO 6789:2003(E).

**Incerteza:** A incerteza expandida relatada é baseada em uma incerteza padronizada combinada multiplicada por um fator de abrangência K=tabela de página 2, para um nível de confiança de aproximadamente 95%.

**Data Recebimento:** 28/09/05  
**Data Calibração:** 27/09/05  
**Data de Emissão:** 27/09/05

Daniel Silva  
 Responsável Técnico

Joacir Guido Fiorini  
 Técnico

O equipamento calibrado não está isento do controle metrológico estabelecido na Regulamentação Metrológica.  
 Os resultados apresentados neste certificado tem significação e aplicabilidade restrita ao equipamento submetido à calibração, não sendo extensivo a quaisquer lotes.  
 A reprodução deste certificado só poderá ser feita integralmente com autorização do I.L.T. (Laboratório de Torque Gedore).



Resultados antes do ajuste

Horário					
Posição do Torquímetro	Ciclo 1 N.cm	Ciclo 2 N.cm	Ciclo 3 N.cm	Ciclo 4 N.cm	Ciclo 5 N.cm
30	31,250	31,180	31,220	31,200	31,230
90	92,580	92,510	92,610	92,490	92,620
150	151,150	151,000	150,950	151,100	151,120

Posição do Torquímetro	*VVC do Padrão	Desvio Médio N.cm	Desvio Médio %	Repetitiv. %	Incerteza %
30	31,216	-1,216	-3,90	0,23	0,47
90	92,562	-2,562	-2,77	0,14	0,25
150	151,064	-1,064	-0,70	0,13	0,25

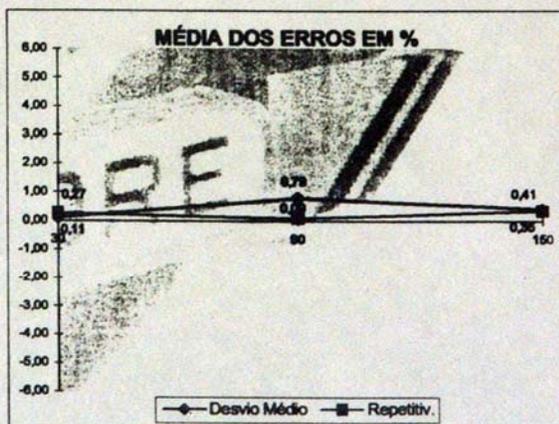
K
2,00
2,00
2,00

Resultados depois do ajuste

Horário					
Posição do Torquímetro	Ciclo 1 N.cm	Ciclo 2 N.cm	Ciclo 3 N.cm	Ciclo 4 N.cm	Ciclo 5 N.cm
30	29,970	29,920	30,000	29,950	29,990
90	89,310	89,290	89,330	89,250	89,300
150	149,490	149,680	149,150	149,250	149,380

Posição do Torquímetro	*VVC do Padrão	Desvio Médio N.cm	Desvio Médio %	Repetitiv. %	Incerteza %
30	29,966	0,034	0,11	0,27	0,47
90	89,296	0,704	0,79	0,09	0,24
150	149,390	0,610	0,41	0,35	0,32

K
2,00
2,00
2,23



Observações:

\* VVC - Valor Verdadeiro Convencional. (Média aritmética dos ciclos)

Daniel Silva  
Responsável Técnico

Joacir Guido Fiorini  
Técnico

equipamento calibrado não está isento do controle metroológico estabelecido na Regulamentação Metroológica.

Os resultados apresentados neste certificado tem significação e aplicabilidade restrita ao equipamento submetido à calibração, não sendo extensivo a quaisquer lotes.

A reprodução deste certificado só poderá ser feita integralmente e com a autorização do ILT (Laboratório de Torque Gedore).