

# **AVALIAÇÃO DA INTERFACE OSSO-IMPLANTE EM TÍBIAS DE COELHO IRRADIADAS**

**RICARDO PELLETI OCAÑA**

**Tese de doutorado apresentada à Fundação  
Antônio Prudente para a obtenção do título de  
Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Oncologia**

**Orientador: Prof. Dr. Fábio de Abreu Alves**

**São Paulo**

**2010**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Ocaña, Ricardo Pelletti

**Avaliação da interface osso-implante em tíbias de coelho irradiadas** / Ricardo Pelletti Ocaña – São Paulo, 2010.

65p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração:

Oncologia.

Orientador: Fábio de Abreu Alves

Descritores: 1. TÍBIA/efeitos de radiação. 2. OSSO/efeitos de radiação  
3. RADIOTERAPIA. 4. IMPLANTE DENTÁRIO. 5. PLASMA RICO EM  
PLAQUETAS. 6. HISTOLOGIA.

**À minha saudosa avó, Dima Zangari Pelletti**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Dr. Fábio de Abreu Alves, chefe do departamento de Estomatologia da Fundação Antônio Prudente, pela confiança em mim depositada, pela paciência, pela disposição de seu tempo, pela amizade e coleguismo, pelo esforço, empenho e inestimável contribuição, sem a qual este trabalho nunca teria sido possível.

Ao Dr. Ricardo Renzo Brentani, Presidente da Fundação Antônio Prudente, pelo exemplo de vida e de interesse pela ciência.

Aos Drs. Luiz Fernando Lima Reis e Fernando Augusto Soares que administraram com extrema competência a Direção da Pós-graduação da Fundação Antônio Prudente no período em que nosso projeto se desenvolveu.

À Secretaria de Pós-graduação da Fundação Antônio Prudente, especialmente à Sra. Ana Maria Kuninari e Sra. Luciana Pitombeira pela dedicação e carinho com que atendem os pós-graduandos.

À Dra. Adriana Abalen Martins Dias, orientadora da Pós-graduação da Fundação Antônio Prudente, pela atenção dispensada ao projeto e pela inestimável contribuição no seu desenvolvimento.

À Sra. Suely Francisco e ao pessoal da Biblioteca da Fundação Antônio Prudente pelo excelente trabalho de sempre e pela ajuda na formatação do texto.

Ao pessoal do Departamento de Estomatologia e colegas de pós-graduação da Fundação Antônio Prudente, especialmente ao Dr. Eduardo Rodrigues Fregnani e à Dra. Graziela Chagas Jaguar.

Ao Dr. Renato Paulo Chopard, membro da coordenadoria de pós-graduação em Anatomia Funcional: estrutura e ultra-estrutura do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo pela amizade e simpatia de sempre e pela disposição do Laboratório de Tecidos Mineralizados do instituto.

À Dra. Maria Inês Nogueira, pesquisadora do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pelo carinho com que nos recebeu e pela disposição de seu laboratório para realização das avaliações histológicas.

Ao Dr. Bruno König Júnior, professor titular do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela amizade e simpatia, pelo exemplo de vida e por relevantes orientações que nortearam o desenvolvimento de nosso projeto.

À Sra. Marta Maria da Silva Rigueti, técnica de laboratório do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela amizade e auxílio no processamento das lâminas.

À turma do Laboratório de Neurociências do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, especialmente à Sílvia Honda Takada e à Leila Maria de Campos Guissoni, pelo carinho com que me receberam e pela paciência com que me instruíram no uso dos aparelhos.

Ao Dr. Laurindo Moacir Sassi, chefe do serviço de Cirurgia Bucomaxilofacial do Hospital Erasto Gaertner de Curitiba-PR, pelo interesse, apoio e esforço para viabilizar os procedimentos no hospital.

Ao Dr. Raul Fernando Pizzatto, coordenador do programa de residência em Radioterapia do Hospital Erasto Gaertner de Curitiba-PR, por dispor de seus sábados que seriam de descanso merecido, para colaborar com nosso projeto.

Ao Dr. Gustavo Max Dearo Simonetti, preceptor do curso de especialização em Física Médica e Dosimetria do Hospital Erasto Gaertner pela valiosa colaboração com nosso projeto.

Ao Dr. Osvaldo Malafaia, coordenador do programa de Pós-graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica do Paraná, pela oportunidade concedida para desenvolvimento da parte experimental de nosso projeto no biotério e centro cirúrgico de Instituto de Pesquisas Médicas.

À Dra. Teresa Cristina Silvestri pela amizade, apoio logístico na cidade de Curitiba e pela importante colaboração na parte experimental de nosso projeto, inclusive cedendo material e instrumentais.

Ao Sr. João Brito de Freitas, auxiliar de biotério do Instituto de Pesquisas Médica da Faculdade Evangélica do Paraná, pela valiosa colaboração na parte experimental de nosso projeto.

À Maria Fernanda Petroli Frutuoso, pela amizade e paciência e pela participação direta na realização das análises estatísticas deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro.

À Neodent – Implantes Osteointegráveis pela cessão dos implantes utilizados na parte experimental do projeto.

À Dra. Ivete Sartori, coordenadora do Programa de Auxílio à Pesquisa da Neodent – Implantes Osteointegráveis, pelo apoio e interesse ao nosso trabalho.

À Dra. Marta Gonzalez Riesco, coordenadora do curso de especialização em Implantodontia da Associação Brasileira de Ensino Odontológico pela amizade e apoio no desenvolvimento do projeto.

Ao pessoal da COTAR, especialmente à Dra. Ana Regina Diniz Pinto, ao Dr. Antônio Carlos Bellagamba Colesanti e à Sra. Antônia Maria “Dinga” Santos Rosário pelo carinho e apreço com que sempre fui tratado.

Ao Dr. Gabriel Haddad Franchim e à Dra. Sandra Alves Brasil, pela amizade, pelas nossas agradáveis conversas, pela companheirismo na jornada da vida e pelo valioso auxílio no desenvolvimento de nosso trabalho.

À minha esposa, Maria do Rosário Capelão Alves Ocaña, pela ajuda em todos os aspectos e por ter conseguido me tolerar, principalmente nas fases mais críticas do trabalho.

Aos meus pais, Richard Ocaña Zangari e Irene Pelletti Ocaña. Não há palavras que possam expressar o quanto sou grato.

## RESUMO

Ocaña RP. **Avaliação da interface osso-implante em tíbias de coelho irradiadas**. São Paulo; 2010. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente]

O câncer de cabeça e pescoço é comumente tratado por combinação de cirurgia e radioterapia. Nesses casos, a reabilitação com próteses implanto-suportadas muito pode contribuir para restabelecimento de estética e função. A radioterapia, entretanto, pode provocar diversos problemas tais como xerostomia, alteração da microbiota oral, aumento da suscetibilidade a processos infecciosos e prejuízo generalizado para o metabolismo dos tecidos envolvidos. Apesar de todas essas alterações, os implantes, em muitos casos, representam a única opção para uma recuperação funcional adequada. Diversas substâncias, tais como o plasma rico em plaquetas (PRP), já foram avaliadas no sentido de melhorar a integração óssea dos implantes, a qual é crítica no osso irradiado. O PRP contém alta concentração de plaquetas e fibrinogênio e pode ser obtido através da centrifugação do sangue coletado do paciente. A proposta do presente trabalho foi realizar um estudo experimental em animais de modo a determinar o quanto a irradiação pode prejudicar a formação da interface osso-implante além de mensurar o quanto a utilização do PRP pode modificar a osteointegração. Foram utilizados 18 coelhos divididos em três grupos: Grupo I, implantes instalados em osso não irradiado; Grupo II, implantes instalados em osso irradiado; Grupo III, implantes instalados em osso irradiado com uso do PRP. Todos os implantes foram instalados em epífise proximal de ambas as tíbias, que foram irradiadas 40 dias antes (1727cGy). Todos os animais foram sacrificados 40 dias após a instalação dos implantes para que fossem obtidas lâminas para análise histomorfométrica ao microscópio. Foram investigadas a extensão do contato osso-implante e a área de osso neoformado entre as espiras. Para

ambos os parâmetros a diferença foi estatisticamente significativa e favorável ao Grupo III em comparação com o Grupo II: 31,7% para contato osso-implante e 33,4% para área de neoformação óssea no Grupo III e 25,9% e 25,1% para o Grupo II, respectivamente. Os índices para o Grupo I foram 57,8% e 41,3% respectivamente. O presente estudo aponta para a possibilidade de realização de implante em osso irradiado. Em adição, a utilização do PRP acelera o processo de osteointegração no osso irradiado, ainda que não o suficiente para que os resultados sejam semelhantes aos obtidos pelo grupo controle. Entretanto, mais estudos são importantes para ratificar nossos achados.

## SUMMARY

Ocaña RP. **[Bone-implant interface evaluation in irradiated rabbit tibiae]**. São Paulo; 2010. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente]

Head and neck cancer patients are commonly treated with surgery and radiotherapy. Some of these patients may need dental implants as the only possible therapy for rehabilitation. However, radiotherapy effects can be very noxious and harmful for the organism. These side effects include: xerostomia, disturbance on the oral microbiota, increased susceptibility to infectious processes and generalized damage to the metabolism of the involved tissues. Nevertheless, implants are still the only option for an appropriate functional recovery for many patients. Some substances, such as Platelet-Rich Plasma – PRP, have been evaluated in order to improve the critical bone-implant integration on irradiated bones. The PRP may contribute to reduce the pernicious consequences of radiation and diminish implant failure under this condition. The PRP is extremely rich in platelets and fibrinogen. These plasma components can be obtained by the patient's peripheral blood centrifugation. In the present paper, we performed an experimental study on animals aiming to determine the harm extension of radiation on the formation of the bone-implant interface, and also to measure the employment of PRP on modifying the osseointegration. Eighteen rabbits were divided into 3 groups. Group I: implants placed in non-irradiated bones. Group II: implants placed in irradiated bone. Group III: implants placed in irradiated bones and the usage of PRP. Every implant was installed in the proximal epiphysis from both tibiae that had been 40 days previously irradiated (1727cGy). All rabbits were sacrificed 40 days after implant placement, so that it could be obtained thin sections to further observation under light microscope. The whole extent of bone-implant contact and the bone area between implant threads were assessed. For both parameters a favorable difference was found in the group where PRP was used: 31.7% for

bone-implant contact rate and 33.4% for bone area rate, whereas in the group without PRP, rates were 25.9% and 25.1% respectively. In the control group, the measured rates were 57.8% and 41.3% respectively. In conclusion, we could state that on irradiated bone, implant failure rate is higher than in healthy bone. Moreover, the usage of PRP improves the osseointegration process on irradiated bone, even though, it is not enough to reach control group rates. Further studies are necessary to corroborate our findings.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Acesso cirúrgico e instalação dos implantes.....	16
<b>Figura 2</b>	Coleta de sangue.....	17
<b>Figura 3</b>	Preparo do PRP.....	19
<b>Figura 4</b>	Inserção do gel de PRP .....	20
<b>Figura 5</b>	Irradiação dos coelhos .....	22
<b>Figura 6</b>	Inclusão das amostras em em metil metacrilato.....	25
<b>Figura 7</b>	Análise quantitativa da interface osso-implante.....	28
<b>Figura 8</b>	Alopecia nas tíbias irradiadas.....	32
<b>Figura 9</b>	Interface osso-implante nas regiões de canal medular e cervical.....	35
<b>Figura 10</b>	Análise histológica do processo de osteointegração.....	36
<b>Figura 11</b>	Falha no processo de osteointegração.....	37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Alterações observadas nos coelhos, em todos os grupos no momento da instalação dos implantes e do sacrifício dos animais.....	32
<b>Tabela 2</b>	Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais, da extensão total do implante e contato osso-implante; comparativo entre Grupo I e Grupo II.....	38
<b>Tabela 3</b>	Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à extensão total do implante, de contato osso-implante; comparativo entre Grupo I e Grupo III.....	39
<b>Tabela 4</b>	Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à extensão total do implante, de contato osso-implante; comparativos entre Grupo II e Grupo III.....	40
<b>Tabela 5</b>	Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros quadrados e valores percentuais em relação à área de referência, da superfície óssea neoformada; comparativos entre Grupo I e Grupo II.....	41
<b>Tabela 6</b>	Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à área de referência, da superfície óssea neoformada; comparativos entre Grupo I e Grupo III.....	41
<b>Tabela 7</b>	Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à área de referência, da superfície óssea neoformada; comparativos entre Grupo II e Grupo III.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>BED</b>	Dose Biologicamente Efetiva
<b>cGy</b>	Centigray
<b>DBP</b>	Osso Pulverizado Congelado
<b>DFDBG</b>	Enxerto de Osso Congelado Desmineralizado
<b>DP</b>	Desvio-padrão
<b>dMSC</b>	Células Mesenquimais Caninas
<b>EGF</b>	Fator de Crescimento Epitelial
<b>FDDB</b>	Osso Congelado Desmineralizado
<b>FGF</b>	Fator de Crescimento de Fibroblasto
<b>FMB</b>	Osso Congelado Mineralizado
<b>ORN</b>	Osteorradição
<b>PDGF</b>	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
<b>PRP</b>	Plasma Rico em Plaquetas
<b>TGF</b>	Fator Transformante de Crescimento
<b>VEGF</b>	Fator de Crescimento Vascular Endotelial

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>13</b>
3.1	Divisão dos grupos.....	13
3.2	Anestesia e Analgesia.....	13
3.3	Procedimento Cirúrgico.....	14
3.4	Plasma Rico em Plaquetas.....	17
3.5	Irradiação.....	21
3.6	Eutanásia.....	23
3.7	Processamento das Amostras.....	23
3.7.1	Inclusão em resina acrílica.....	23
3.7.2	Secção dos blocos e acabamento das lâminas.....	24
3.7.3	Coloração.....	25
3.8	Análise das Amostras.....	26
3.8.1	Análise Qualitativa.....	26
3.8.2	Análise Quantitativa.....	27
3.9	Análise Estatística.....	29
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
4.1	Achados Clínicos.....	31
4.2	Análise Qualitativa.....	33
4.3	Análise Quantitativa.....	34
4.3.1	Análise da osteointegração.....	34
4.3.2	Avaliação do contato osso-implante.....	38
4.3.3	Avaliação da Superfície Óssea.....	40

5	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
7	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>59</b>

### **ANEXOS**

**Anexo 1** Parecer do Comitê de Ética na Utilização de Animais  
Fundação Antônio Prudente

**Anexo 2** Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa Hospital Erasto  
Gaertner

# 1 INTRODUÇÃO

Os implantes osteointegráveis representam uma opção de tratamento amplamente aceita pela comunidade médica e odontológica para reabilitação de pacientes. No caso específico da Odontologia, o uso de implantes no restabelecimento da estética e da função mastigatória de pacientes, total ou parcialmente desdentados, cresceu muito nos últimos anos (WANG et al. 1998). Esta modalidade de tratamento, quando introduzida, viabilizou retenção e estabilidade a próteses dentais em pacientes que não teriam, inicialmente, um prognóstico protético favorável (LARSEN et al. 1993), uma vez que não está indicada a instalação de próteses sem a devida estabilidade.

A perda de vários dentes associada à doença maligna da boca pode levar a situações altamente debilitantes (OESCHSLIN et al. 1999). O câncer de cabeça e pescoço é tratado, normalmente, por combinação de cirurgia e radioterapia. Ambas as modalidades afetam severamente a saúde ou a integridade de tecidos moles e mineralizados.

O tratamento cirúrgico pode causar deformações anatômicas importantes, pois, muitas vezes, partes do processo alveolar e de outras estruturas ósseas faciais são removidas juntamente com tecidos moles adjacentes (OESCHSLIN et al. 1999). Outras alterações de ordem funcional, motora e sensorial também são muito freqüentes. Quando envolve a mandíbula, por exemplo, esta pode ficar retraída e desviada para o lado

operado, causando assimetria facial (OELGIESSER et al. 2004). A reabilitação com próteses implanto-suportadas, portanto, pode ser bastante efetiva em muitos desses casos (OESCHSLIN et al. 1999). A reconstrução facial que se procede, então, desde a primeira cirurgia até a reabilitação final, deve ser feita envolvendo uma equipe multi-profissional habituada a lidar com implantes e próteses orais (IIZUKA et al. 2005).

A radioterapia pode levar a diversas seqüelas tais como atrofia de glândulas salivares e conseqüente xerostomia, fibrose de vasos sangüíneos, oclusão da microvascularização local (VISCH et al. 2002; PARLIAMENT et al. 2004) e alteração da microbiota oral (WANG et al. 1998). Além disso, pode também fazer com que a reparação tecidual seja retardada, que processos infecciosos se estendam por tempo prolongado, levar à perda de implantes e originar fístulas e quadros de osteorradionecrose (JOHNSSON et al. 1993).

Em estudo retrospectivo, MOY et al. (2005) avaliaram 4680 implantes instalados em 1140 pacientes onde a radioterapia aparece como um dos principais motivos de insucesso da instalação de implantes, alcançando índice de falha de 31,82%, resultado pior do que os grupos de pacientes diabéticos ou fumantes. ALSAADI et al. (2008) revisando o prontuário de 700 pacientes submetidos à instalação de implantes, concluíram que a radioterapia aumenta de modo significativo o insucesso da reabilitação com implantes e sugerem, também, que prejudica a qualidade óssea e o suprimento sanguíneo do osso. O primeiro trabalho experimental que analisou histologicamente os efeitos da irradiação sobre a

osteointegração foi publicado por SCHWEIGER (1989) quando observou que apenas 50% dos implantes instalados em mandíbulas irradiadas de cães sofreram osteointegração efetivamente.

A estenose da artéria alveolar inferior induzida pela radioterapia é um exemplo de alteração vascular que afeta diretamente a instalação de implantes no osso mandibular. Essa estenose pode ser classificada de acordo com o grau de comprometimento da luz do vaso. Assim, quando há redução maior do que 50%, a estenose é classificada como severa, até 50%, como moderada, sendo que a estenose severa pode levar à osteorradionecrose (MCGREGOR e MACDONALD 1995).

A osteorradionecrose, como o nome diz, é a necrose óssea induzida por irradiação prévia e pode surgir na ausência do tumor ou mesmo com sua recidiva. Em 90% dos casos é induzida por trauma secundário, mas nos outros 10% aparece de maneira espontânea (PARLIAMENT et al. 2004). Por todos esses motivos, inicialmente, o tratamento prévio com radioterapia era considerado uma contra-indicação para a instalação de implantes osteointegráveis (GRANSTRÖM 2005). Recentemente, a incidência e a severidade da osteorradionecrose têm sofrido considerável redução, muito em virtude de novas e melhores técnicas de radioterapia, como por exemplo, a mudança da ortovoltagem, que acarretava uma alta absorção pelo osso, pela megavoltagem com a qual a absorção é similar à dos tecidos moles (MCGREGOR e MACDONALD 1995).

Ainda que a radiação comprometa a vitalidade do esqueleto facial e tecidos adjacentes, existem muitos casos bem sucedidos relatados na

literatura. De acordo com estudos de ASIKAINEN et al. (1998) e de BROGNIEZ et al. (2002) os índices de sucesso de tratamento com implantes osteointegráveis realizados após radioterapia estão diretamente relacionados com o tempo transcorrido entre a irradiação e a colocação dos implantes: quanto maior este tempo, melhor é o prognóstico. Segundo HARRISON et al. (2003) em seu trabalho de revisão, o índice de sucesso dos implantes em osso irradiado varia em torno de 40% para a maxila. Melhores índices podem ser conseguidos quando do uso de oxigenação hiperbárica (podendo alcançar 92% de índice de sucesso). Para a mandíbula, o índice de sucesso é superior a 85%. Ainda segundo o autor, o tempo mínimo recomendado para realização de cirurgia de colocação de implantes em osso irradiado é de oito meses após a irradiação.

O sucesso do tratamento também está ligado à dose irradiada e ao local de instalação do implante (PARLIAMENT et al. 2004). Os riscos de osteorradionecrose e falha de osseointegração estão relacionados a doses superiores a 50Gy. (HARRISON et al. 2003). VISH et al. (2002) incluíram em seu estudo 130 pacientes que receberam 446 implantes. O intervalo entre a radioterapia e a instalação dos implantes variou entre seis meses e 22 anos. Os locais que receberam doses menores que 50Gy obtiveram um índice de sucesso de 84% num período de 10 anos. Entretanto, pacientes que receberam doses superiores a 50Gy apresentaram índice de sucesso de 71%.

O sucesso de um implante pode ser avaliado clinicamente e corresponde à ausência de mobilidade além da ausência de outros sinais e

sintomas como dor, inflamação e supuração (PELED et al. 2003). A mobilidade é o principal parâmetro de avaliação de sucesso do implante e é o primeiro sinal de falha do tratamento (SIMSEK e SIMSEK 2003). VERDONCK et al. (2008), em estudo experimental com cobaias, testou a estabilidade de implantes instalados em mandíbulas e maxilas irradiadas. Estes autores procederam à instalação dos implantes após a irradiação. A estabilidade foi medida por meio de aparelho de análise de frequência de ressonância. As análises foram realizadas no instante da instalação dos implantes (estabilidade primária) e oito, 16 e 24 semanas após esta. Os resultados que os autores obtiveram foi a evidência de que, tanto em osso irradiado quanto não irradiado, há redução da estabilidade com o passar do tempo e que esta redução é mais pronunciada nos ossos submetidos à irradiação. Os autores também puderam comprovar que não há diferença de estabilidade primária entre implante em osso irradiado e não irradiado, uma vez que a mesma não depende de vascularização, mas sim de densidade óssea. Em outro trabalho, JOHNSON et al. (1993) em estudo experimental com coelhos, testaram a força necessária para desparafusar implantes instalados em osso irradiado em comparação com implantes instalados em osso não irradiado e chegaram à conclusão de que há uma redução em 54% do torque necessário no primeiro grupo.

Deve ser considerado, porém, que a satisfação do paciente e a real eficácia do tratamento são índices de difícil precisão e sujeitos a constantes averiguações, tendo em vista a reduzida expectativa de vida de muitos pacientes oncológicos e o longo tempo necessário para a realização de uma

reabilitação protética dental (IIZUKA et al. 2005). Nos trabalhos envolvendo pacientes oncológicos acompanhados por certo período de tempo, como na reabilitação com implantes, é descrito, na maioria dos casos, importante número de pacientes que vieram a óbito no decorrer do tratamento ou que tiveram recidiva da doença. No trabalho de ESSER e WAGNER (1997), por exemplo, o índice de sucesso de implantes em mandíbulas irradiadas foi de 83,5%, para um período de cinco anos de acompanhamento. Dos 37 pacientes envolvidos no estudo, entretanto, oito tiveram registro de óbito.

A despeito de todas as alterações causadas pela radioterapia, os implantes têm se mostrado importantes na reabilitação do paciente tratado de câncer de boca, considerando que a secura da mucosa provocada pela diminuição do fluxo salivar torna-a altamente irritável e a carga sobre esta deve ser atenuada, situação que é providenciada pela implantologia (ASIKAINEN et al. 1998). Em muitos casos, esta se torna a única opção para uma recuperação funcional adequada (ASIKAINEN et al. 1998; ALSAADI et al. 2008). É importante diferenciar os casos de implantes colocados em osso previamente irradiado e osso que foi irradiado após a instalação dos implantes. Aproximadamente 25% dos pacientes oncológicos que são reabilitados com implantes recebem previamente radioterapia como parte do tratamento do câncer (GRANSTRÖM et al. 1994). Existem evidências que sugerem que quando a radioterapia é executada quando os implantes já estão instalados, os índices de sucesso do tratamento são reduzidos de maneira tênue (OESCHSLIN et al. 1999). Entretanto, o tratamento do câncer sempre será prioridade e por isso, muitas vezes, não há tempo hábil para

realizar o tratamento odontológico antes da radioterapia. No caso de implantes instalados após o osso ter sido irradiado, as estatísticas mostram maior índice de perda do que em casos de pacientes que não foram irradiados; mostram também que o maior índice de perda se dá nos primeiros três anos e melhora substancialmente após esse tempo (GRANSTRÖM et al. 1994).

O maior problema concernente à implantologia previamente à irradiação é a dispersão da radiação ocasionada pelo metal que compõe o implante. Segundo WANG et al. (1998), que realizaram estudo com implantes instalados em mandíbulas artificiais que simulam a densidade óssea humana, é justamente na interface osso-implante onde há a maior concentração da radiação “espalhada”. Os autores mediram a radiação no tecido periimplantar e concluíram também que não há diferença significativa quando são comparados os tecidos distantes 1mm e 2mm da interface osso-implante. Os autores afirmaram que a radiação ionizante interage com os átomos do metal do implante, movimentando e liberando seus elétrons. Por isso, a dispersão da radiação ao redor do implante é maior, o que poderia levar a um aumento do risco de osteorradionecrose.

Vários estudos já foram realizados no intuito de desenvolver materiais que aumentam o grau de integração óssea. Nesse sentido, diversas substâncias foram avaliadas, tais como o plasma rico em plaquetas (PRP), um hemo-derivado que pode ser obtido através da centrifugação do sangue coletado do paciente. Após ser processado, o PRP torna-se um gel contendo alta concentração de plaquetas e fibrinogênio (WHITMAN et al. 1997). Cada

plaqueta contém aproximadamente 1200 moléculas de PDGF (*platelet-derived growth factor*), além de outros fatores de crescimento que são liberados quando da degranulação das plaquetas e estão envolvidos nos processos de reparação óssea e na ativação de precursores de osteoblastos (FONTANA et al. 2004). São conhecidos sete fatores de crescimento presentes no PRP: PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$ , PDGF $\alpha\beta$ , TGF $\beta_1$ , TGF $\beta_2$ , (*transforming growth factor*), VEGF (*vascular endothelial growth factor*) e EGF (*epithelial growth factor*) (MARX 2001). O PRP é, portanto, uma fonte de fatores de crescimento que pode ser utilizada na reparação de tecidos moles e mineralizados (FUERST et al. 2004).

A ação do PRP decorre da degranulação das plaquetas e conseqüente liberação dos fatores de crescimento. Este evento inicia-se aproximadamente dez minutos após a coagulação do sangue e 95% dos fatores são liberados dentro de uma hora. Os fatores secretados ligam-se à superfície externa das membranas celulares por meio de receptores de membrana de osteoblastos, fibroblastos, células mesenquimais e células endoteliais, ativando as vias de proliferação celular, formação de matriz, produção de osteóide e síntese de colágeno (MARX 2004).

As alterações provocadas pelo PRP atingem o pico após a primeira semana de sua inserção no tecido ósseo. São reações bioquímicas que representam apenas o início dos eventos que levam à neoformação óssea e à amplificação da densidade óssea. O PRP irá estimular resposta celular que leva à presença de moléculas de adesão na interface osso-implante que por sua vez irão mediar a união de células a proteínas da matriz extracelular,

tais quais colágeno tipo I, osteopontina e fibronectina (SCHLEGEL et al. 2003). Estudos mostram que a utilização do PRP associado à colocação de implantes leva à formação de um melhor contato entre o osso e o implante (ZECHNER et al. 2003), afeta a resposta óssea periimplantar de modo a aumentar o volume ósseo (FONTANA et al. 2004) e melhora o grau de maturidade óssea (KIM et al. 2002).

Outros trabalhos, entretanto, ainda colocam dúvidas sobre a eficácia do PRP. NIKOLIDAKIS et al. (2008), por exemplo, elaborando estudo com cabras concluíram que o uso adicional de gel de PRP não altera a resposta óssea no tecido periimplantar. Todavia, estes autores concluíram também que o PRP em sua forma líquida pode aumentar a aposição óssea no entorno dos implantes. O PRP, portanto, pode vir a ser um importante adjuvante da implantologia na medida em que mais estudos que comprovem a sua eficácia forem elaborados.

A avaliação do grau de integração óssea pode ser medida de diversas formas. IHDE et al. (2009), em trabalho de revisão de literatura, afirmam que são três os principais parâmetros de avaliação de osteointegração: biomecânico, como por exemplo a estabilidade (primária ou tardia) do implante; histomorfométrica, que é a análise quantitativa do crescimento ósseo ao redor dos implantes, e histológica, que consiste na análise qualitativa do tecido ósseo em relação ao tempo. Para melhor avaliação da integração óssea, além da avaliação histológica, a análise histomorfométrica deve ser realizada porque a primeira pode ter um componente subjetivo. A análise quantitativa pode abordar os seguintes

alvos: o implante, quando se verifica a degradação do material utilizado; o tecido periimplantar, quando se avalia o osso remodelado ou a cápsula fibrosa formada no entorno do implante e, ainda, a interface osso-implante, que é formada em função das propriedades químicas, físicas e biológicas do material. Em geral, os principais parâmetros e os de maior interesse na avaliação da resposta óssea ao implante são: o percentual de contato ósseo, ou seja, a extensão do contato direto entre implante e osso e, também, a densidade óssea, ou seja, o percentual de preenchimento ósseo em áreas pré-determinadas no entorno do implante (JANSEN 2003). O percentual de contato ósseo provê informação sobre o grau de fixação do implante. Por exemplo, implantes que resultam em insucesso tem um percentual de recobrimento de sua superfície pelo tecido ósseo em torno de 10% (BROGNIEZ et al. 2002).

Nossa proposta foi realizar um estudo experimental de modo a determinar o quanto a irradiação pode prejudicar a formação da interface osso-implante além de mensurar o quanto a utilização do PRP pode alterar a osteointegração. O ineditismo de nosso trabalho reside no fato dele ser experimental, no qual é realizado estudo histológico da interface osso-implante de implantes instalados em osso irradiado após período equivalente em humanos a quatro meses de evolução. Propõe-se, ainda, a comparação dos aspectos histológicos com implantes instalados em osso irradiado quando da utilização do PRP como adjuvante na osteointegração. Outros trabalhos foram publicados envolvendo implante em osso irradiado. No entanto, a grande maioria trata-se de estudo clínico em que pode ser

realizado estudo histológico apenas quando há recidiva do câncer fazendo-se necessária uma nova intervenção cirúrgica radical com remoção do osso contendo os implantes ou, ainda, quando o paciente vem a óbito. Dessa forma não são obtidos resultados com valores significativos estatisticamente. Outros trabalhos se assemelham ao nosso quanto ao fato de serem experimentais e envolver animais, mas diferem quanto à dose de radiação, quanto ao tempo de osteointegração e quanto ao animal utilizado. Nenhum deles estudou concomitantemente PRP em implante em osso irradiado.

## **2 OBJETIVOS**

Os objetivos do presente trabalho foram:

- 1- Determinar os índices de sucesso de implantes instalados em osso irradiado com e sem o uso do PRP como adjuvante
  
- 2- Avaliar a interface osso-implante em implantes instalados em osso irradiado
  
- 3- Avaliar os efeitos do PRP na integração óssea quando usado como adjuvante do implante em osso irradiado

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 DIVISÃO DOS GRUPOS**

Para atender às propostas do trabalho, foram utilizados 18 coelhos machos (*oryctolagus cuniculus*) de peso aproximado 3000g cada, tratados profilaticamente com medicação contra sarna e mífase (ivermectina 1%) e mantidos no biotério do Instituto de Pesquisas Médicas (IPEM) da Faculdade Evangélica do Paraná sob dieta regular e água *ad-libitum*. Os animais foram divididos em três grupos com seis animais cada, da seguinte forma:

Grupo I: controle – implantes instalados em coelhos não irradiados

Grupo II: implantes instalados em coelhos após radioterapia

Grupo III: implantes instalados em coelhos após a radioterapia tendo o PRP como adjuvante

#### **3.2 ANESTESIA E ANALGESIA**

Para realização do procedimento cirúrgico os animais foram submetidos à anestesia geral prévia segundo o protocolo que segue:

Injeção intra-muscular de acepromazina a 2% (0,75mg/Kg) com fins sedativo e tranqüilizante; injeção intra-muscular de quetamina (35mg/Kg) para anestesia geral e injeção intra-muscular de cloridrato de dihidrotiazina

(5mg/Kg) para relaxamento muscular e potencializador anestésico. Os medicamentos foram injetados de maneira seqüencial e separadamente. Os animais eram acompanhados até estarem totalmente recuperados da anestesia.

Foi utilizado o antibiótico ceftiofur sódico (5mg/Kg por via intramuscular), no período pré-operatório, 24 e 48 horas após o procedimento cirúrgico.

A analgesia pós-operatória foi obtida com sulfato de morfina, por via oral (0,4mg/Kg), a cada seis horas durante os três primeiros dias após o procedimento cirúrgico (SILVA et al. 2004).

### **3.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO**

Todos os coelhos foram submetidos à cirurgia para colocação de dois implantes de uso odontológico na extremidade proximal de cada uma de suas tíbias, num total de quatro implantes por coelho, portanto, 24 implantes por grupo. Os procedimentos seguiram o seguinte protocolo cirúrgico (BECK 1997):

Foi realizada tricotomia de aproximadamente 4cm na região do joelho. Procedeu-se à antissepsia do sítio cirúrgico com solução de iodopovidina a 10%. Foram realizadas incisões em pele, fáscia e periósteo seguidas de divulsão dos tecidos. A cortical óssea foi trepanada com broca do tipo lança acionada por instrumento rotatório. Para a perfuração óssea, foi utilizada inicialmente broca helicoidal de 2,0mm para, em seguida, ser

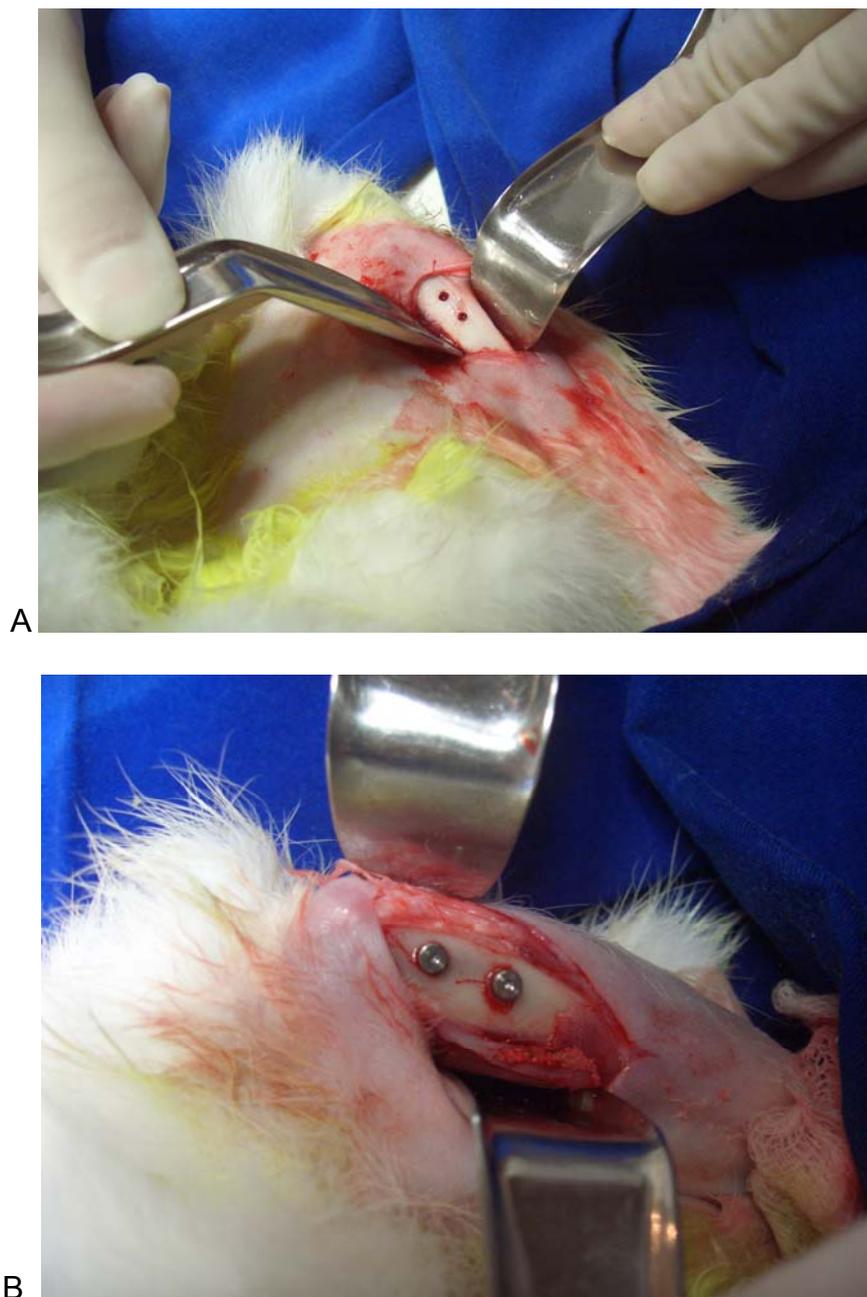
utilizada a broca piloto 2/3 e finalmente a broca helicoidal de 3,0mm. Com a perfuração realizada dessa forma, a instalação do implante pode ser realizada com catraca-torquímetro ( $F > 40$  N-cm). Os passos foram repetidos a partir da trepanação da cortical com a broca lança para realização de nova perfuração e instalação do segundo implante. As perfurações foram feitas paralelas entre si, perpendiculares à superfície óssea e dispostas seguindo distalmente o longo eixo do osso. Os tecidos foram suturados por planos com fio de *nylon* 3-0 (Figura 1).

Em relação às cavidades criadas nas tíbias dos coelhos do Grupo III, previamente à colocação dos implantes, foi inserido o PRP, conforme será descrito posteriormente.

Seguindo os critérios clássicos de instalação com o uso da catraca/torquímetro cirúrgica, asseguramos para a estabilidade primária dos implantes um torque mínimo de 40 N-cm no momento final da instalação.

Na execução da fase cirúrgica foram utilizados 72 implantes de titânio do tipo dupla-rosca de superfície jateada e com diâmetro de 3,3mm por 9,0mm de comprimento (NEODENT®). A instalação dos implantes bem como a perfuração das tíbias foram realizadas com o auxílio de motor de uso comum em implantologia e contra-ângulo 16:1 sob constante irrigação com soro fisiológico a 0,9% para evitar superaquecimento tecidual.

A estabilidade dos implantes foi avaliada clinicamente no momento final da instalação por pressão manual (presença ou ausência de mobilidade) e novamente no momento do sacrifício dos animais.



**Figura 1** - Acesso cirúrgico e instalação dos implantes. As incisões foram realizadas de modo a expor a epífise proximal da tíbia, onde foram feitas as cavidades cirúrgicas para instalação dos implantes (1A). Os implantes e respectivos parafusos de cobertura (*covers*) foram instalados na cavidade criada previamente (1B).

### 3.4 PLASMA RICO EM PLAQUETAS

Os procedimentos anestésicos para os animais deste grupo foram idênticos aos dos outros grupos. O protocolo cirúrgico para instalação dos implantes foi idêntico ao realizado nos animais dos outros dois grupos (grupos I e II), exceto pela utilização do gel de Plasma Rico em Plaquetas, cuja obtenção foi conseguida conforme protocolo descrito por ROSSI JÚNIOR e SOUZA FILHO (2004) e VENDRAMIN et al. (2006), tal qual segue:

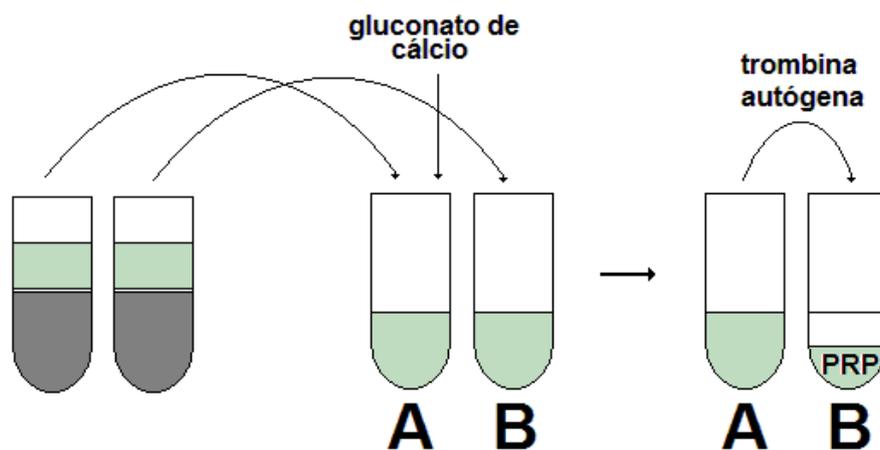
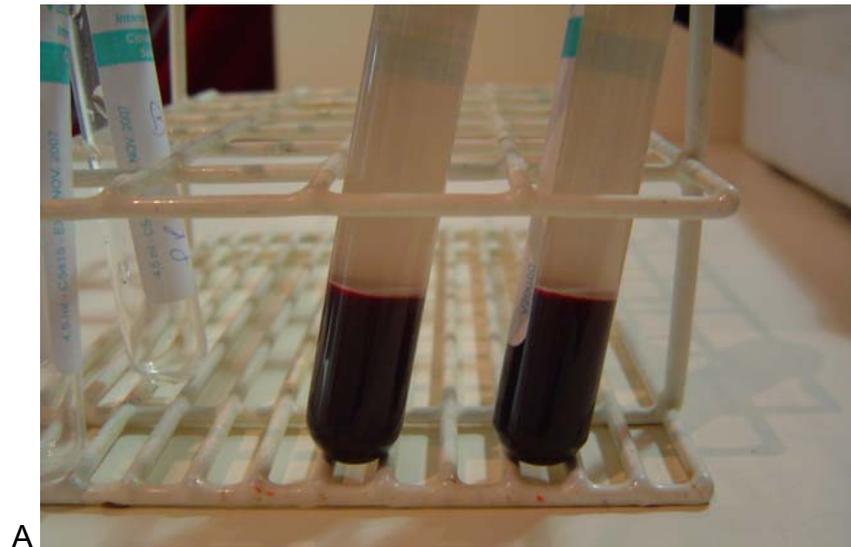
Com o animal anestesiado, foi obtido 9ml de sangue proveniente da veia da orelha e distribuído em dois tubos de ensaio, sendo 4,5ml por tubo (Figura 2).



**Figura 2** - Coleta de sangue. São coletados 9ml de sangue pela veia da orelha para o preparo do PRP.

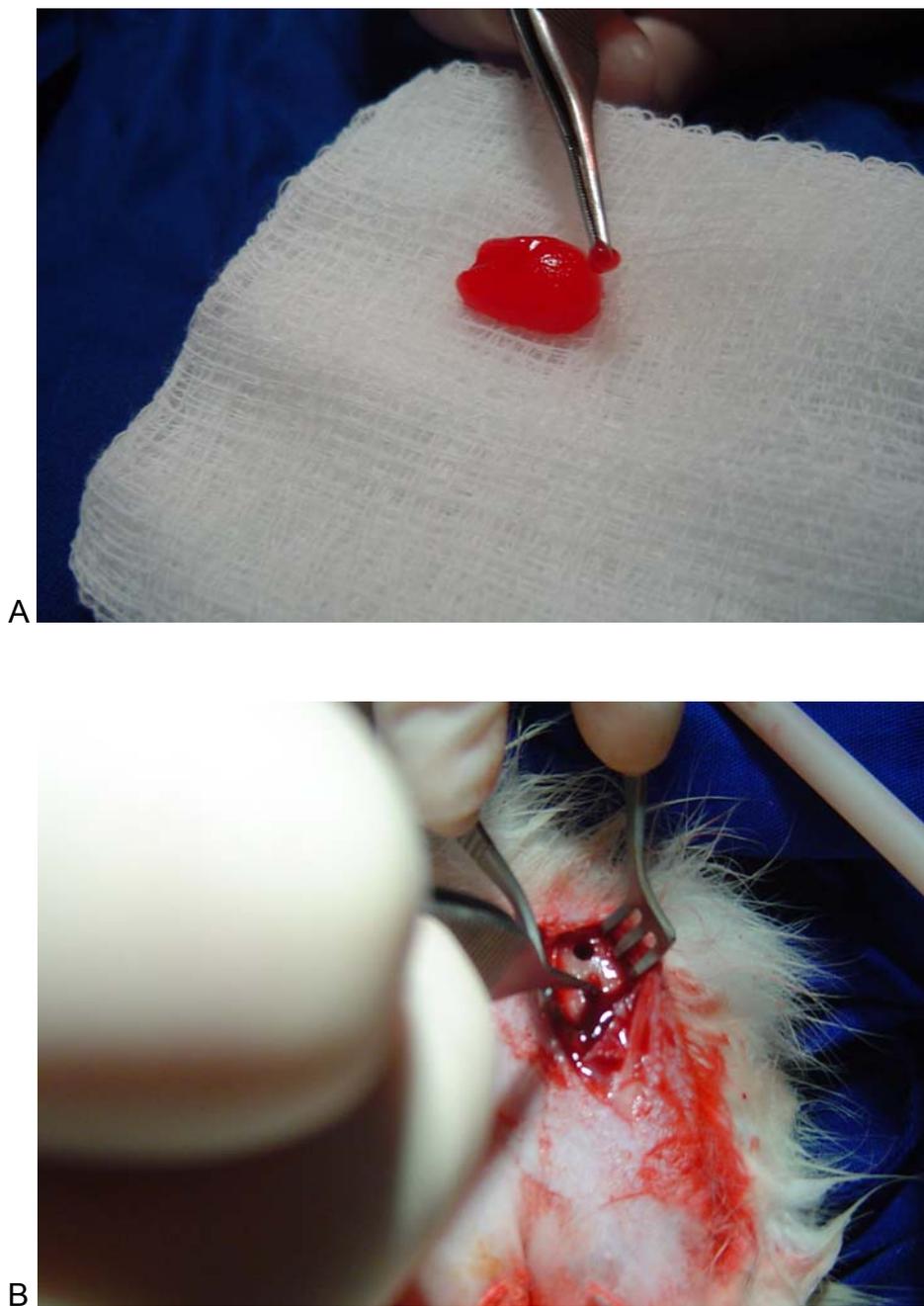
Procedeu-se à centrifugação do sangue (200G por 15min) que, após esta etapa, apresentou-se em três camadas: a camada inferior com elementos celulares, zona de névoa intermediária contendo leucócitos e camada superficial contendo o plasma com as plaquetas. Foi coletado 50% do volume da camada superficial de cada um dos tubos com pipeta e transferido para um terceiro tubo de ensaio (tubo A – trombina autógena) e adicionado gluconato de cálcio a 10%. O restante da camada superficial juntamente com a zona de névoa de cada um dos tubos foi coletado e transferido para um quarto tubo de ensaio (tubo B – PRP). Os tubos “A” e “B” foram submetidos a nova centrifugação (400G por 10min). Dessa forma foram obtidos no fundo do tubo “B” o plasma rico em plaquetas – PRP e trombina autógena no tubo “A”. A camada superficial do tubo “B” foi pipetada (plasma pobre em plaquetas – PPP) e desprezada, restando apenas o PRP no tubo, o qual foi agitado para dispersão das plaquetas. A fase líquida do tubo “A” foi pipetada e adicionada ao tubo “B” para promover a geleificação do PRP que, dessa forma, apresenta uma concentração de plaquetas quatro a seis vezes maior que no sangue (Figura 3).

O gel de PRP obtido foi introduzido nas cavidades cirúrgicas criadas para instalação dos implantes (Figura 4). Os implantes foram instalados da maneira convencional com uso de catraca torquímetro. Após 40 dias dos procedimentos cirúrgicos, os animais foram sacrificados e suas tíbias foram removidas e acondicionadas em frascos com formol a 10%. As instalações utilizadas – biotério e centro cirúrgico – onde toda a fase cirúrgica foi realizada pertencem ao Instituto de Pesquisas Médicas (IPEM) do Hospital Evangélico de Curitiba-PR.



B

**Figura 3** - Preparo do PRP. O sangue coletado nos tubos de ensaio foi centrifugado, tornando-se trifásico: camada inferior com elementos celulares; zona de névoa intermediária e delgada; camada superficial contendo o plasma com as plaquetas (3A). A metade superior da camada superficial foi pipetada e transferida para os frascos A e B. Ao frasco A foi acrescentado o gluconato de cálcio. Após nova centrifugação, a metade superior do frasco B (o plasma pobre em plaquetas) foi pipetada e desprezada. A fase líquida do tubo A (trombina autógena) foi pipetada e acrescentada ao tubo B, ativando o plasma e provocando a sua geleificação (3B).



**Figura 4** - Inserção do gel de PRP. Geleificação do PRP após o acréscimo da trombina autógena o PRP (4A). O gel inserido na cavidade cirúrgica imediatamente após a perfuração e previamente à instalação dos implantes (4B).

### 3.5 IRRADIAÇÃO

Os coelhos dos grupos II e III foram submetidos à irradiação de suas tíbias no centro de radioterapia do Hospital Erasto Gaertner de Curitiba-PR. Os animais foram sedados para receber dose única de 1727cGy (*biological effective dose* – BED) realizada 40 dias antes do procedimento cirúrgico para colocação dos implantes. Após outros 40 dias, os animais destes grupos foram sacrificados.

No preparo para a radioterapia os coelhos eram radiografados para determinação da área exata a ser irradiada e suas tíbias eram cobertas por *bolus* de 0,5cm para simulação da pele humana, mais espessa que a do coelho. O *bolus* consiste de uma placa composta por vaselina e microcristais de cera, moldável ao contorno do alvo a ser irradiado e que possui propriedades de absorção e dispersão da radiação capazes de garantir uma concentração maior e uniforme nos tecidos em que desejávamos avaliar (MAYER et al. 2009). Aos pares, os animais foram posicionados no aparelho e suas tíbias estabilizadas com fitas adesivas juntamente com o *bolus* (Figura 5).

Os animais do grupo I receberam somente os implantes sem o PRP e foram sacrificados após 40 dias da colocação dos mesmos.

A dose irradiada de 1727cGy corresponde à dose que, aplicada apenas uma vez, é capaz de provocar os mesmos efeitos biológicos que uma dose total de 7000cGy, dividida em 35 frações de 200cGy num período de sete semanas, conforme cálculo que segue:

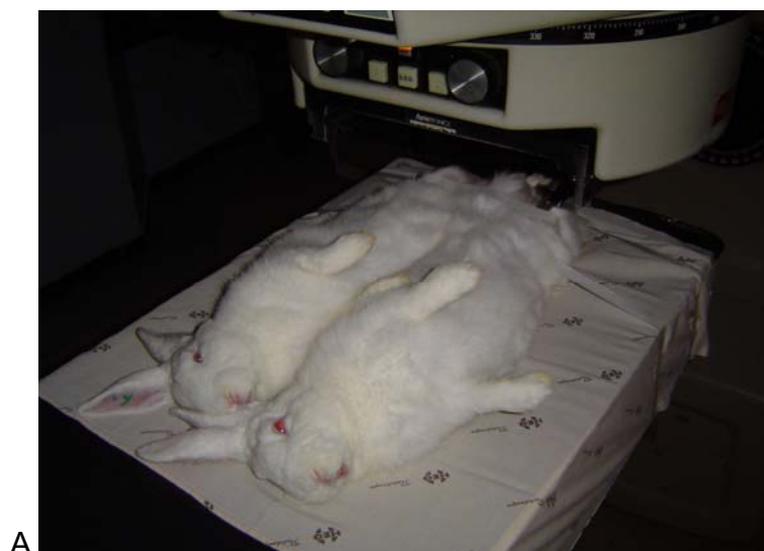
$BED = n \times d [ 1 + d / (\alpha / \beta) ]$  considerando  $\alpha / \beta = 3$

$BED = 35 \times 2,0 ( 1 + 2,0 / 3 ) = 116,69$

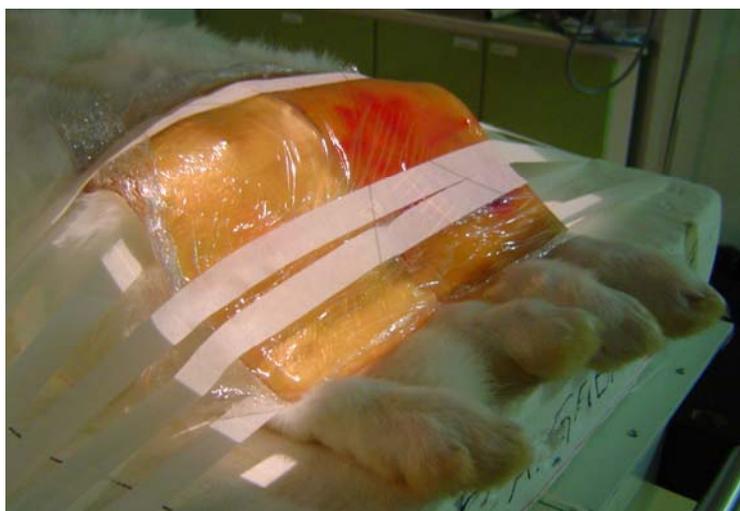
Em dose única:

$116,67 = 1 \times d ( 1 + d / 3 )$  De onde:  $d = 17,27\text{Gy} = 1727\text{cGy}$

Sendo  $d$  = dose e  $n$  = número de frações



A



B

**Figura 5** - Irradiação dos coelhos. Os animais posicionados e suas patas fixadas com fitas adesivas (5A). Bólus de 0,5cm adaptado e fixado. Campo de luz mostrando a região exposta à radiação (5B).

### **3.6 EUTANÁSIA**

Os animais foram sacrificados 40 dias após a colocação dos implantes com injeção intravenosa de dose anestésica excessiva. Para o procedimento foram utilizados os medicamentos descritos para a anestesia, na mesma seqüência e, após verificada a anestesia, foi utilizado pentobarbital 70mg/Kg. A injeção do pentobarbital provoca inicialmente depressão dos centros respiratórios seguido de apnéia e parada respiratória. Segue-se então parada cardíaca e o animal vem a óbito.

Como o metabolismo ósseo em coelhos é de três a quatro vezes mais acelerado que em humanos (SCHÖN et al. 1996), o período de 40 dias equivale a aproximadamente 140 dias em humanos.

### **3.7 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS**

A fim de obtermos amostra de tecido com o mínimo de alteração possível, optamos por estudar o tecido ósseo sem usar técnicas de desmineralização. Esta forma de estudo do tecido ósseo é utilizada em trabalhos em que há análise histomorfométrica (LARSEN et al. 1993; SCHÖN et al. 1996; KÖNIG Jr 1998).

#### **3.7.1 Inclusão em resina acrílica**

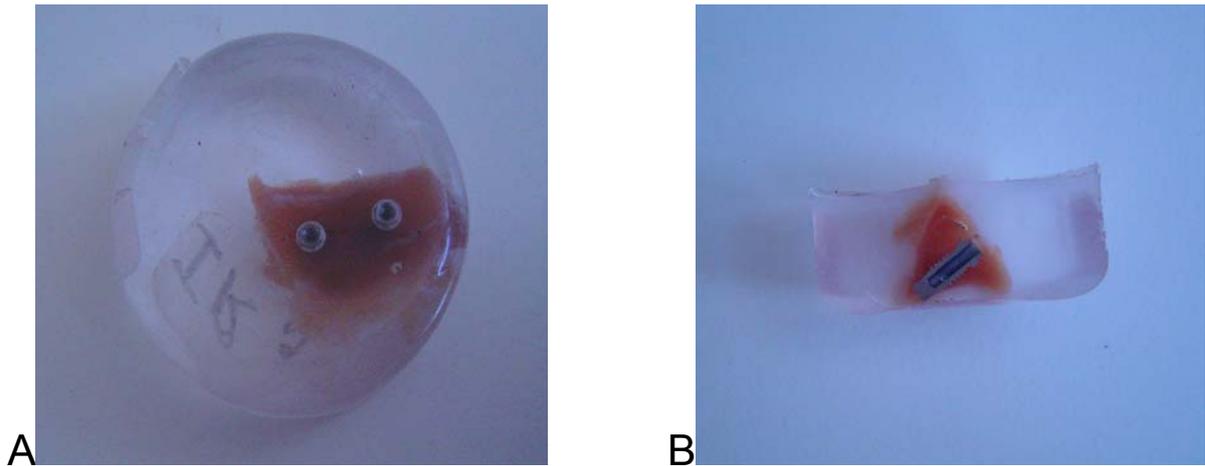
Após o sacrifício dos animais, as tíbias foram seccionadas em amostras de aproximadamente 1,5cm, radiografadas com aparelho

radiográfico convencional de uso odontológico e acondicionadas em recipiente com solução de formol a 10% durante sete dias. Após esse período as peças foram lavadas em água corrente por 24h. Em seguida as peças sofreram processo de desidratação pela imersão em soluções alcoólicas seriadas de etanol a 50% até 100%, permanecendo 1h em cada concentração. Dessa forma, as peças puderam ser incluídas em ftalato de diisobutila e metil metacrilato (resina acrílica da MERCK S.A. Indústrias Químicas). A polimerização final da resina foi aguardada em estufa a 32°C por um período de 20 dias. Os blocos assim obtidos apresentaram 1cm<sup>3</sup> de volume (Figura 6A).

### **3.7.2 Secção dos blocos e acabamento das lâminas**

Cada bloco foi montado no micrótomo de impacto EXACT 400CS Microgrinding System do Laboratório de Tecidos Mineralizados do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP). O aparelho foi ajustado para realização de cortes seriados com 80µ de espessura no longo eixo do implante, com um tempo de 30min por corte (Figura 6B). Foram obtidas dessa forma duas lâminas de 1cm<sup>2</sup> para cada implante ou oito lâminas por coelho.

Estas lâminas foram montadas em placas de acrílico que permitem o acabamento final e sua manipulação. O aspecto final é conseguido após polimento das pela máquina Politriz DP-10, um rotor de lixas cuja granulação varia de 1000 até 4000. A espessura final resultante das lâminas é de 10µ.



**Figura 6** - Inclusão das amostras em metil metacrilato. Bloco contendo parte da epífise proximal da tíbia com os implantes instalados (6A); Corte no longo eixo do implante realizado pelo micrótomo de impacto, permitindo a observação do seu interior (6B).

### 3.7.3 Coloração

As amostras foram preparadas para observação em microscópio de luz convencional. Para tanto, foram submetidas à técnica de coloração pelo azul de toluidina (BEHMER et al. 1976; LUGERO et al. 2000) conforme segue: as lâminas foram inseridas em solução de etanol, seqüencialmente de 100% (passando por 90% e 80%) até 70% para hidratação, permanecendo 5min em cada solução. Em seguida, as mesmas foram imersas em solução aquosa de azul de toluidina por 10 minutos. Finalmente as lâminas foram imersas em solução de etanol em seqüência inversa para desidratação, de 70% a 100%.

SCARANO et al. (2003) afirmam que para a realização de coloração em peças não desmineralizadas incluídas em metacrilato é preciso material com peso molecular adequado que permita a penetração na resina. Por esse

ponto de vista, o azul de toluidina torna-se a coloração ideal por sua praticidade e facilidade de preparo. Outras colorações, como a fucsina ácida ou o tricromo de Masson, que poderiam também ser utilizadas no preparo de peças incluídas em resina, não apresentam vantagens em relação à coloração do tecido ósseo e não têm a praticidade de uso do azul de toluidina. Todas as amostras em nosso trabalho sofreram coloração por esta técnica, sendo que ficaram satisfatórias para observação e análise ao microscópio óptico de luz convencional.

### **3.8 ANÁLISE DAS AMOSTRAS**

As amostras foram submetidas à análise histológica (qualitativa) e histomorfométrica (quantitativa) no Laboratório de Neurociências do Instituto de Ciências Biomédicas da USP pela utilização de microscópio Eclipse Nikon E1000 associado ao *software* ACT-1 Nikon 2.70 para captura das imagens e o IMAGE ProPLus 5.1.2.59 para análise das amostras.

#### **3.8.1 Análise qualitativa (histológica)**

Todos os cortes histológicos de osso-implante foram analisados de modo a se estabelecer as características teciduais gerais no processo de osteointegração em cada grupo por meio da observação do tecido ósseo neoformado e seus elementos celulares típicos. Procurou-se, também, registrar as regiões dos implantes com mais forte evidência de osteointegração, bem como avaliar o processo de recobrimento das espiras

pelo tecido ósseo.

### **3.8.2 Análise quantitativa (histomorfométrica)**

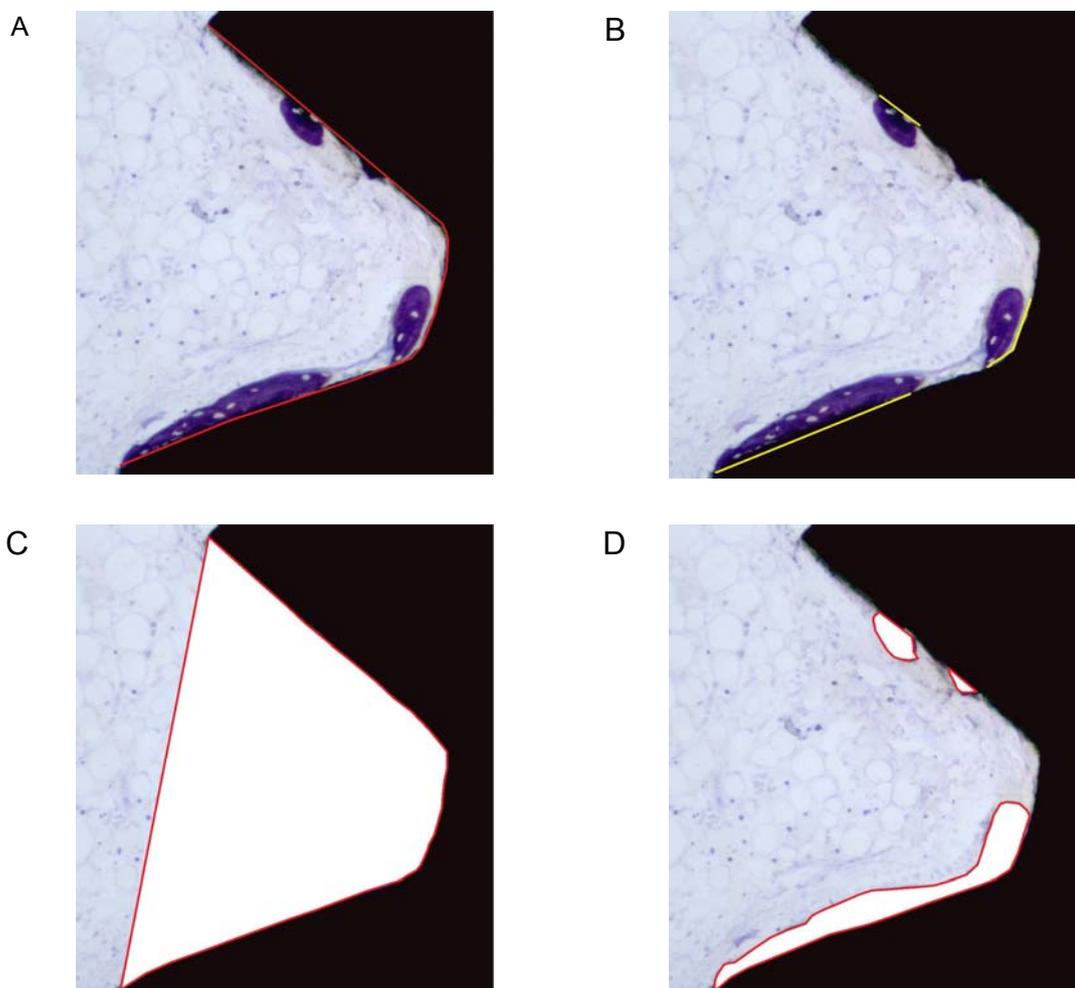
O preparo das lâminas foi realizado de modo a permitir o cálculo da extensão do implante em contato com o tecido ósseo e com osteóide em cada amostra assim como a superfície delimitada pelas espiras do implante que foi preenchida por tecido mineralizado.

Num primeiro momento, foram analisados os dois lados (direito e esquerdo) de todos os implantes considerados não perdidos, vistos em corte longitudinal. Foi calculado o número de lados de implante em cada grupo que apresentava qualquer quantidade de material mineralizado em contato com implante, independente da qualidade óssea, entre todas as espiras.

Definimos, em seguida, a extensão de referência que representa a extensão total do implante que é visto imerso entre as corticais da tíbia do animal (medida linear em milímetros). Os valores obtidos significam 100% do que é passível de recobrimento ósseo. O contato efetivo do implante com osso e também com material osteóide foi mensurado. Esses últimos dados representam apenas um percentual da extensão de referência.

Foi definida também a área de referência, em milímetros quadrados. Esta representa a superfície delimitada pela espiras dos implantes vistas nos cortes histológicos. Uma linha tangenciando os ápices das espiras completa a delimitação destas áreas que assumem aspecto triangular. O percentual da área de referência que apresenta neoformação óssea foi calculado para os três grupos (Figura 7).

Estes procedimentos seguiram a metodologia descrita por JANSEN (2003).



**Figura 7** - Análise quantitativa da interface osso-implante. Todas as imagens mostram a mesma região entre duas espiras de implante que foi analisada por meio do *software* IMAGE ProPlus 5.1.2.59. A grande área negra é o titânio do implante. Em 7A, a linha vermelha mostra a extensão de referência. Em 7B, a linha amarela mostra a extensão do contato osso-implante entre espiras. Em 7C pode ser vista a área de referência. A figura 7D mostra a área ocupada por osso neoformado dentro da área de referência. Coloração pelo azul de toluidina. Aumento original de 40X referente à objetiva.

### 3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram avaliados:

- 1) O percentual da extensão dos implantes em contato com tecido mineralizado nos três grupos;
- 2) O percentual da extensão dos implantes em contato com material osteóide nos três grupos;
- 3) O percentual da superfície delimitada entre as espiras dos implantes que foi preenchida por tecido ósseo nos três grupos;
- 4) O percentual de implantes mal-sucedidos nos três grupos, entendendo como insucesso a mobilidade do implante detectável clinicamente;

As variáveis investigadas foram:

- 1) A extensão de implante em contato com tecido ósseo (em porcentagem);
- 2) A extensão de implante em contato com osteóide (em porcentagem);
- 3) A superfície entre as espiras do implante preenchida por tecido ósseo (em porcentagem)
- 4) Mobilidade (presença ou ausência).

Para o cálculo da amostra, foram considerados os achados de LARSEN et al. (1993) que apontam que a média de integração óssea em implantes não irradiados é de 83,5% e em irradiados de 47,3% após 12 semanas. Assim, calculou-se amostra igual a 24 implantes em cada grupo

num total de 72 implantes e estabeleceu-se nível de significância de 5% para os testes estatísticos.

As médias de extensão total de implante, extensão do contato com tecido ósseo, do contato com osteóide, da área de referência e da área de tecido ósseo neoformado entre as espiras dos implantes dos grupos I e II, dos grupos I e III e dos grupos II e III foram comparadas pela utilização do método *t de Student*.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ACHADOS CLÍNICOS

Foram operados 18 coelhos sendo que 12 foram submetidos à irradiação e desses, seis receberam o gel de PRP antes da instalação dos implantes. Foram instalados, portanto 24 implantes por grupo (quatro por coelho, dois implantes em cada tíbia), num total de 72 implantes.

Analisando as características clínicas durante a fase experimental, levantamos algumas observações:

- Grupo I: Todos os locais operados apresentaram características normais de reparação/cicatrização para o tipo de cirurgia realizada.
- Grupo II e III (irradiados): Todos os coelhos apresentaram alopecia na área irradiada que foi observada no momento da instalação dos implantes (40 dias após a irradiação) (Figura 8).
- No Grupo II todos os sítios cirúrgicos, em todos os animais, apresentaram deiscência de sutura e inflamação 40 dias após os procedimentos (no momento do sacrifício). Contudo, no Grupo III, em duas tíbias (dois sítios cirúrgicos) em animais diferentes, não houve deiscência ou inflamação (Tabela 1).
- Todos os 72 implantes instalados nos três grupos apresentaram torque maior ou igual a 40N-cm. Nenhum apresentou mobilidade no momento final da instalação. Dos 24 implantes instalados nos coelhos do Grupo I, todos

apresentavam estabilidade clínica após 40 dias da instalação; nos coelhos do Grupo II, três implantes apresentavam mobilidade e nos coelhos do Grupo III, apenas um dos 24 implantes instalados apresentava mobilidade clinicamente detectável após 40 dias da instalação.



**Figura 8** - Alopecia nas tíbias irradiadas. Nos animais dos Grupos II e III, após 40 dias da irradiação, foi verificada alopecia nos locais determinados para a instalação dos implantes.

**Tabela 1** - Alterações observadas nos coelhos, em todos os grupos no momento da instalação dos implantes e do sacrifício dos animais.

Variáveis	Grupo I (n=12)	Grupo II (n=12)	Grupo III (n=12)
Alopecia*	0	12 (100%)	12 (100%)
Deiscência**	0	12 (100%)	10 (83,33%)

\* Avaliado no momento da instalação, \*\* Avaliado no momento do sacrifício

## 4.2 ANÁLISE QUALITATIVA (HISTOLÓGICA)

Todos os implantes foram vistos nos cortes histológicos atravessando o canal medular das tíbias. Em todos eles, a região superior (cervical) mostrava-se perfurando a parede da tíbia e a região inferior (apical) em contato com a parede oposta.

A análise histológica mostrou neoformação óssea tanto nas paredes das tíbias quanto nas adjacências da superfície dos implantes nos três grupos avaliados. Em todos os casos, as regiões cervical e apical dos implantes foram as regiões onde o processo de neoformação óssea se deu preferencialmente. Entretanto, as regiões das paredes das tíbias que se encontravam mais distantes dos implantes também mostraram potencial de desenvolvimento ósseo, que pode ser notado pela formação de trabéculas que se dirigiam ao implante cruzando espaço do canal medular (Figura 9).

O recobrimento das espiras se deu a partir de trabéculas ósseas surgidas da face interna da parede da tíbia em progressão rumo ao corpo do implante. Isso se dava a partir do ápice das espiras e seguia em direção ao espaço entre elas, como demonstra a diferença de coloração nas lâminas (quanto mais recente o osso, mais intensamente corado pelo azul de toluidina ele se mostra). Portanto, o tecido ósseo mais recentemente formado estava presente profundamente no espaço entre as espiras. Onde o tecido ósseo se mostrou em grau mais avançado de organização, um padrão osteônio pareceu ser a tendência assumida para os três grupos.

As trabéculas ósseas em formação, em muitos casos, apresentavam

material osteóide em seu arranjo arquitetural. Também o implante mostrou recobrimento por osteóide. Muitas vezes, fileiras de osteoblastos foram vistas recobrando o tecido ósseo em formação. Isso foi mais frequentemente observado nas lâminas referentes ao Grupo I. Entre os três grupos, não foi possível notar diferença a não ser a quantidade de tecido ósseo ou material osteóide em formação ou em contato com o corpo dos implantes (Figura 10).

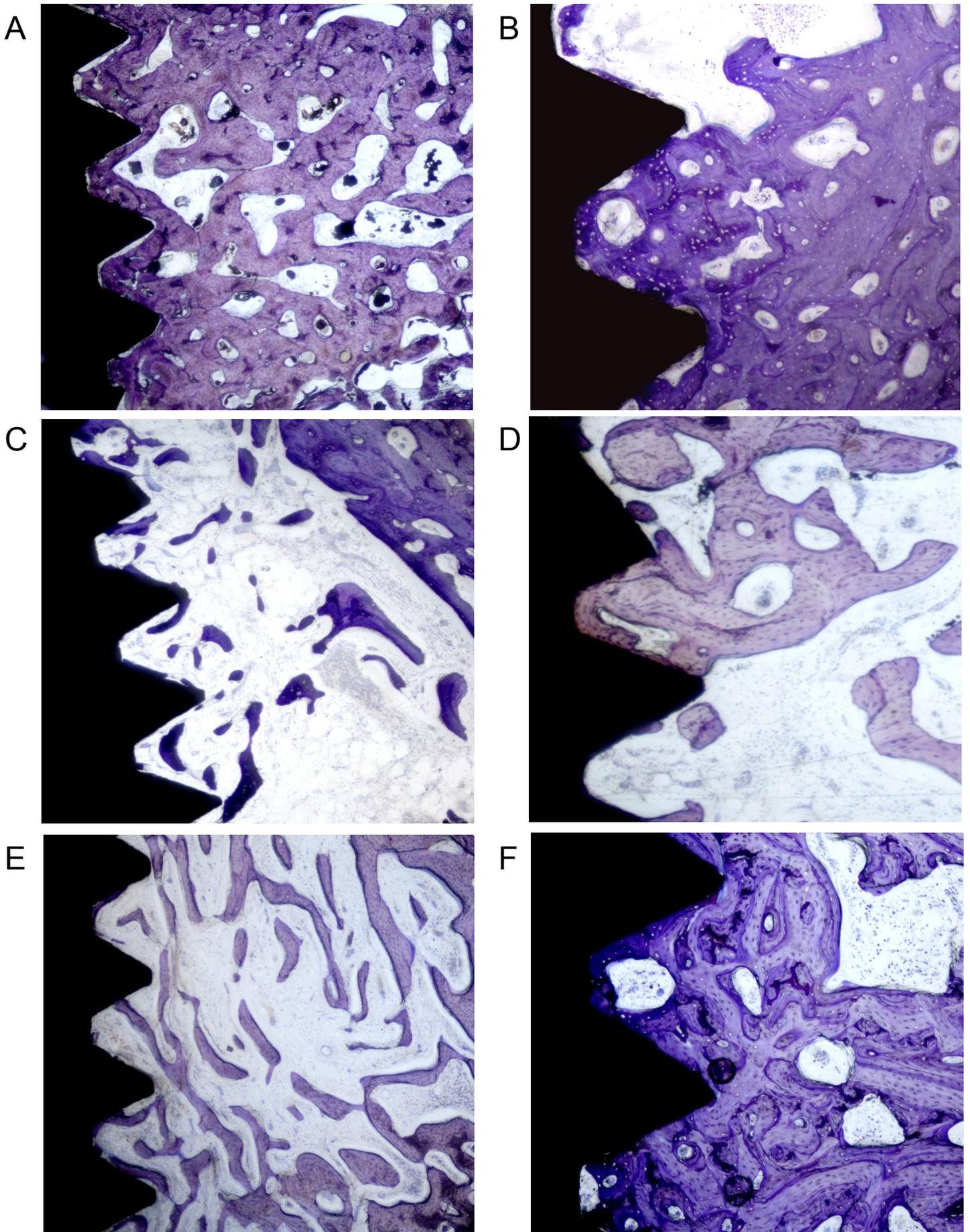
Em relação aos implantes que foram considerados perdidos, não foi observado grau algum de integração óssea. Algumas faces ósseas voltadas para os implantes apresentaram evidências de atividade osteoclástica e em regiões da tíbia mais afastadas dos implantes pode ser notado evidência de atividade metabólica óssea (Figura 11).

### **4.3 ANÁLISE QUANTITATIVA (HISTOMORFOMÉTRICA)**

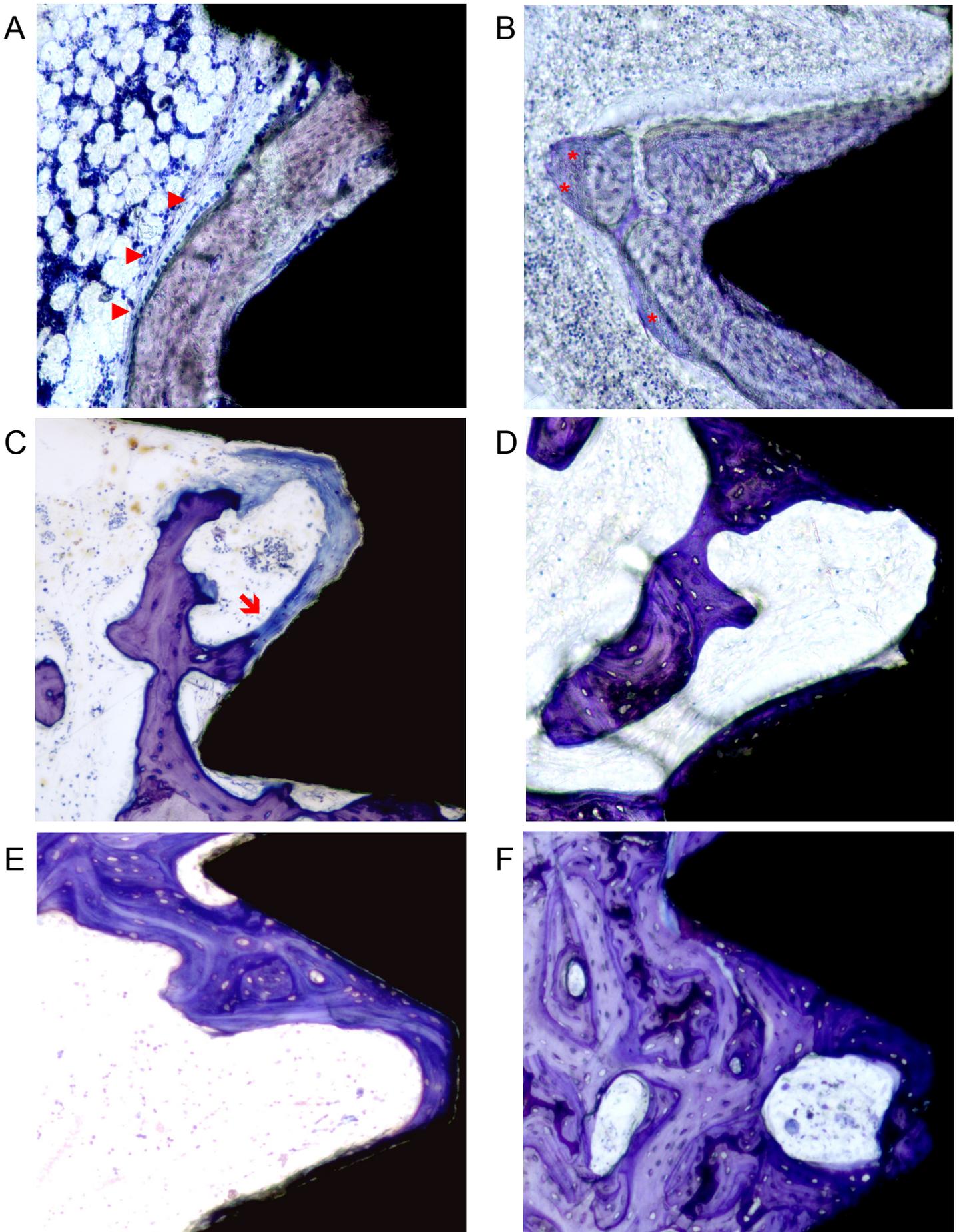
#### **4.3.1 Análise da osteointegração**

No caso do grupo controle, foi notado algum grau de neoformação óssea em contato direto com o implante (independente de qualidade óssea) entre todas as espiras de um dos lados, em 18 lados dos 48 possíveis (24 implantes), representando 37,50% das faces analisadas.

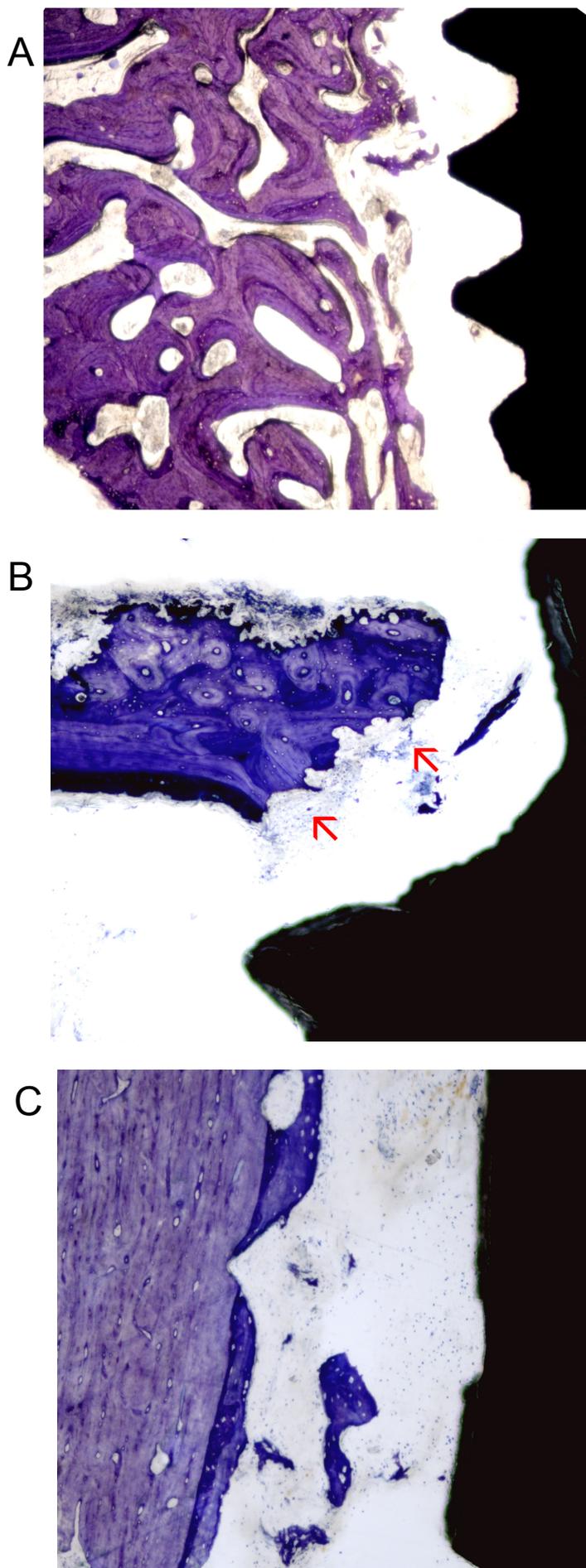
No Grupo II, como três implantes foram perdidos, foram considerados 42 lados na análise. Nesse caso, 12 lados apresentavam algum grau de formação óssea em contato direto com o implante entre todas as espiras, representando 28,57%. No Grupo III, esse percentual foi de 34,48% ou 16 lados, sendo considerados 46 lados apenas, uma vez que um implante neste grupo foi perdido e, portanto, não foi considerado na análise.



**Figura 9:** Interface osso-implante nas regiões de canal medular e cervical. Nos três grupos, algum grau de osteointegração na parte dos implantes que atravessa o canal medular foi observado. Entretanto, para os três grupos, a atividade de neoformação óssea foi mais intensa junto às espiras da região cervical. Grupo I: osteointegração na região medular (9A) e cervical (9B); Grupo II: osteointegração na região medular, menos intensa que no grupo controle (9C) e na região cervical (9D); Grupo III: osteointegração na região medular, menos evidente que o notado para o Grupo I, porém maior que no Grupo II (9E) e região cervical (9F); Figuras à esquerda (9A,9C,9E) - Aumento original de 20X. Figuras à direita (9B,9D,9F) – Aumento original de 40X. Coloração pelo azul de toluidina



**Figura 10:** Análise histológica do processo de osteointegração. Em muitas ocasiões, fileiras de osteoblastos puderam ser observadas juntas ao tecido ósseo em formação (pontas de setas vermelhas em 10A). Material osteóide também foi frequentemente observado, recobrendo o tecido em formação (asteriscos vermelhos em 10B) ou junto ao implante (seta vermelha em 10C). Maior formação óssea foi observada próximo ao ápice das espiras (10D e 10E), enquanto que na região profunda do espaço entre elas o tecido apresentou processo de neoformação mais recente, o que foi evidenciado pela coloração mais intensa (10F). 10A e 10B – grupo I, 10C e 10D – grupo II, 10E e 10F – grupo III. Aumento original de 100X. Coloração pelo azul de Toluidina.



**Figura 11:** Falha no processo de osteointegração. Nos implantes que foram considerados perdidos, não foi observada neoformação óssea junto ao metal (11A – Grupo III. Aumento original de 20X). Foi observado em superfícies ósseas voltadas para os implantes sinais de atividade de osteoclastos (Setas vermelhas em 11B – Grupo II. Aumento original de 100X). Foi notada, também, presença de osteoblastos e formação de osso primário, na parede da tíbia irradiada. (11C – Grupo II. Aumento original de 100X). Coloração pelo azul de toluidina.

### 4.3.2 Avaliação da extensão do contato osso-implante em relação à extensão de referência

#### → Comparação entre os Grupos I e II

A Tabela 2 mostra que, comparando-se os achados entre grupo controle (I) e grupo de osso irradiado sem PRP (II), não houve diferença estatisticamente significativa para a extensão de referência (extensão total medida em milímetros) e contato do implante com material osteóide, tanto valores percentuais como em milímetros. Entretanto, foi estatisticamente significativa a diferença da quantidade de tecido ósseo em contato com implante e também da ossificação total entre os referidos grupos para todos os valores (percentuais e milímetros).

**Tabela 2** - Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais, da extensão total do implante e contato osso-implante; comparativo entre Grupo I e Grupo II.

Variáveis	Grupo I (24 implantes)		Grupo II (21 implantes)		Valor p % - mm
	% (DP)	mm (DP)	%(DP)	mm (DP)	
Extensão total	100	20,4(2,68)	100	20,0(1,99)	0,613
Contato com tecido ósseo	50,9(13,69)	10,3(2,78)	17,4(8,42)	3,5(1,75)	<b>0,001 - 0,001</b>
Contato com osteóide	6,9(4,66)	1,4(0,94)	8,5(4,68)	1,6(0,82)	0,261 -0,373
Ossificação total	57,8(14,28)	11,7(2,93)	25,9(8,35)	5,2(1,69)	<b>0,001 - 0,001</b>

DP=desvio padrão; mm = milímetros

### → Comparação entre os Grupos I e III

Na comparação entre os dados do grupo controle (I) e grupo de osso irradiado com PRP (III), verificaram-se diferenças estatisticamente significantes para todas as medidas obtidas exceto para os valores percentuais do contato do implante com material osteóide (Tabela 3).

**Tabela 3** - Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à extensão total do implante, de contato osso-implante; comparativo entre Grupo I e Grupo III.

Variáveis	Grupo I (24 implantes)		Grupo III (23 implantes)		Valor p % - mm
	% (DP)	mm (DP)	%(DP)	mm (DP)	
Extensão total	100	20,4(2,68)	100	17,5(2,52)	<b>0,001</b>
Contato com tecido ósseo	50,9(13,69)	10,3(2,78)	26,9(10,56)	4,8(2,06)	<b>0,001 - 0,001</b>
Contato com osteóide	6,9(4,66)	1,4(0,94)	4,7(2,59)	0,8(0,47)	0,053 - <b>0,009</b>
Ossificação total	57,8(14,28)	11,7(2,93)	31,7(10,26)	5,6(2,04)	<b>0,001 - 0,001</b>

DP=desvio-padrão; mm = milímetros

### → Comparação entre os Grupos II e III

Comparando-se os achados entre grupo de osso irradiado sem PRP (II) e irradiado com PRP (III), observa-se que, com exceção da ossificação total expressa em milímetros, houve diferença estatisticamente significativa para todas as variáveis: extensão total, contato osso-implante, contato do implante com material osteóide e ossificação total em valores percentuais (Tabela 4).

**Tabela 4** - Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à extensão total do implante, de contato osso-implante; comparativos entre Grupo II e Grupo III.

Variáveis	Grupo II (21 implantes)		Grupo III (23 implantes)		Valor p % - mm
	% (DP)	mm (DP)	%(DP)	mm (DP)	
Extensão total	100	20,0(1,99)	100	17,5(2,52)	<b>0,001</b>
Contato com tecido ósseo	17,4(8,42)	3,5(1,75)	26,9(10,56)	4,8(2,06)	<b>0,002 - 0,037</b>
Contato com osteóide	8,5(4,68)	1,6(0,82)	4,7(2,59)	0,8(0,47)	<b>0,001 - 0,001</b>
Ossificação total	25,9(8,35)	5,2(1,69)	31,7(10,26)	5,6(2,04)	<b>0,049 - 0,461</b>

DP=desvio-padrão; mm = milímetros

#### **4.3.3 Avaliação da superfície óssea neoformada em relação à área de referência entre os três grupos**

Não houve diferença para a área de referência (área total medida), mas houve diferença para a superfície óssea neoformada, tanto em mm<sup>2</sup> como percentualmente, sendo menor nos irradiados sem PRP que no grupo controle (Tabela 5).

Ao compararmos os Grupos I e III, verificamos que não houve diferença estatisticamente significativa para a superfície óssea neoformada em termos percentuais. Entretanto houve diferença estatisticamente significativa para área de referência e também para a superfície óssea neoformada em mm<sup>2</sup>, sendo menor nos irradiados com PRP que no grupo controle (Tabela 6).

**Tabela 5** - Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros quadrados e valores percentuais em relação à área de referência, da superfície óssea neoformada; comparativos entre Grupo I e Grupo II.

Variáveis	Grupo I (DP)	Grupo II (DP)	Valor p
Área de referência (mm <sup>2</sup> )	1,4(0,19)	1,4(0,11)	0,327
Superfície óssea neoformada (mm <sup>2</sup> )	0,6(0,26)	0,3(0,14)	<b>0,001</b>
Superfície óssea neoformada (%)	41,3(15,90)	25,1(10,78)	<b>0,001</b>

DP=desvio-padrão

**Tabela 6** - Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à área de referência, da superfície óssea neoformada; comparativos entre Grupo I e Grupo III.

Variáveis	Grupo I (DP)	Grupo III (DP)	Valor p
Área de referência (mm <sup>2</sup> )	1,4(0,19)	1,3(0,27)	<b>0,032</b>
Superfície óssea neoformada (mm <sup>2</sup> )	0,6(0,26)	0,4(0,19)	<b>0,016</b>
Superfície óssea neoformada (%)	41,3(15,90)	33,4(12,45)	0,067

DP=desvio-padrão

Na comparação entre os Grupos II e III levando-se em conta os dados de superfície, verificamos que houve diferença estatisticamente significativa somente para superfície óssea neoformada em valores percentuais, sendo menor no Grupo II (irradiados sem PRP) do que no Grupo III onde o PRP foi utilizado (Tabela 7).

**Tabela 7** - Valores médios e desvio-padrão, expressos em milímetros e valores percentuais em relação à área de referência, da superfície óssea neoformada; comparativos entre Grupo II e Grupo III.

<b>Variáveis</b>	<b>Grupo II (DP)</b>	<b>Grupo III (DP)</b>	<b>Valor p</b>
Área de referência (mm <sup>2</sup> )	1,4(0,11)	1,3(0,27)	0,109
Superfície óssea neoformada (mm <sup>2</sup> )	0,3(0,14)	0,4(0,19)	0,097
Superfície óssea neoformada (%)	25,1(10,78)	33,4(12,45)	<b>0,022</b>

DP=desvio-padrão

## 5 DISCUSSÃO

A radiação exerce efeitos deletérios sobre o tecido ósseo, podendo comprometer seu metabolismo, reduzir o suprimento sanguíneo (YERIT et al. 2006), reduzir localmente a expressão de fatores de crescimento (AGHALOO et al. 2006), prejudicar a remodelação e a reparação óssea (JOHNSSON et al. 2000; VISCH et al. 2002), além de poder causar osteorradionecrose (MCGREGOR e MACDONALD 1995). Na prática odontológica, esses fatos levam ao receio de que o tratamento reparador por meio de implantes em pacientes irradiados na região da cabeça possa resultar em insucesso e trazer malefícios e complicações. Atualmente, busca-se maneiras de contornar esses efeitos nocivos da radioterapia e aproximar os índices de sucesso àqueles obtidos em pacientes normorreativos.

Segundo MCGREGOR E MACDONALD (1995) os aparelhos de megavoltagem estão ajudando a reduzir os riscos de osteorradionecrose. Os autores afirmam também que, apesar da irradiação provocar estenose dos vasos principais, pode ocorrer um aumento compensatório do número de artérias e veias do periósteo. A este raciocínio, MARX e MORALES (1998) acrescentam ainda que o periósteo passa a ser a mais importante fonte de suprimento sanguíneo do tecido ósseo irradiado em substituição aos vasos maiores que podem se encontrar trombosados.

MARX (1983) conclui em seu trabalho que a osteorradionecrose não

é derivada de uma infecção primária do osso irradiado, mas resulta da deficiência homeostática e metabólica decorrente da lesão celular provocada pela radiação. Conclui também que a osteorradionecrose não pode ser definida como a tríade clássica formada por radiação, trauma e infecção, mas sim como uma sequência: radiação, alteração do metabolismo tecidual (hipóxia, hipovascularização e hipocelularidade), morte celular e lise do colágeno e finalmente ausência de reparação das feridas. Ainda segundo o autor, o mecanismo da osteorradionecrose pode ser definido como a inabilidade tanto do tecido mole quanto ósseo de manter o ponto do *turn over* celular e a síntese de fibras colágenas. Portanto, apenas o trauma ou a infecção, individualmente, podem não ser capazes de provocar osteorradionecrose. Finalmente, segundo o autor, a osteorradionecrose espontânea está relacionada a altas doses finais de radiação. Segundo MARX e JOHNSON (1987), o principal sinal clínico característico de osteorradionecrose é a exposição de tecido ósseo irradiado desvitalizado incapaz de se reparar sem intervenção.

Podemos dizer que, em nosso estudo, nenhum implante apresentando estabilidade clínica ao final do período de recuperação, estava associado à osteorradionecrose uma vez que havia sinais, histologicamente, de atividade do metabolismo ósseo, comprovado pela própria osteointegração. Os nossos achados foram compatíveis com os de VIDIGAL et al. (2008) que irradiaram cinco coelhos com dose única de 15Gy para instalação de implantes em suas tíbias e não observaram sinais de osteorradionecrose em animal algum até o momento do sacrifício, após três

meses.

Além dos efeitos nocivos sobre o tecido ósseo, a radioterapia pode provocar vários efeitos colaterais sobre os tecidos moles, tais como alopecia e gerar complicações como a deiscência de sutura (YERIT et al. 2006). Em nosso trabalho, todos os coelhos submetidos à irradiação apresentaram alopecia. Quanto à deiscência de sutura, LARSEN et al. (1993), estudando implantes em tíbias de coelhos, observaram em 54% dos animais irradiados. Quando a oxigenação hiperbárica foi utilizada este percentual reduziu-se para 7%. Os autores notaram, ainda, uma incidência de 15% de deiscência nos animais não irradiados que representavam o grupo controle. Comparando esses dados com os do presente estudo, em que observamos 100% de deiscência nos sítios cirúrgicos nos animais do Grupo II e 83,33% nos do Grupo III, podemos dizer que os grupos irradiados apresentaram incidência de deiscência mais elevada. Importante ressaltar que a presença de deiscência, segundo o estudo de ALSAADI et al. (2008), não afeta os índices de sucesso dos implantes instalados.

Como todos os implantes instalados apresentaram resistência maior que 40N-cm, independentemente do grupo, podemos dizer que nossos dados vão ao encontro do que foi relatado por VERDONCK et al. (2008), uma vez que os autores também não notaram diferença de estabilidade primária entre os grupos (irradiados ou não) no momento da instalação dos implantes em alvéolos de maxila de cobaias. Após oito semanas, os autores verificaram perda de 60% dos implantes instalados em osso irradiado e apenas 25% nos implantes instalados no osso não irradiado. Os autores

sugeriram ainda que a integração óssea foi prejudicada no osso irradiado. BROGNIEZ et al. (2002) observaram mobilidade clínica em três implantes de um total de 16 instalados em mandíbulas irradiadas de cães após seis meses da instalação sendo que o mesmo não foi verificado no grupo controle. Em relação os índices de perda de implantes, em todos os trabalhos avaliados, este é maior nos grupos irradiados, ainda que no presente trabalho tais índices não sejam tão elevados como o relatado pelos autores previamente citados.

Quanto à parte histológica, nos três grupos avaliados, as partes dos implantes em contato com regiões corticais do osso mostraram-se mais favoráveis à osteointegração do que as regiões atravessando espaços medulares. Esses aspecto vai ao encontro do que foi relatado por KÖNIG (1998). Os autores afirmaram, ainda, que na região medular não é esperado encontrar tecido ósseo algum mas, na presença do implante, até mesmo tecido com características de osso cortical pode se desenvolver ao redor de sua superfície.

O PRP atua estimulando a mitose e a angiogênese, conforme explica MARX (2001). Segundo o autor, o número aumentado de plaquetas leva a uma maior quantidade de fatores de crescimento por elas liberados. Uma vez ativadas no processo de coagulação, ocorre a liberação de 70% dos fatores armazenados nos primeiros 10 minutos. Nos oito dias seguintes, as plaquetas continuam sintetizando novos fatores até se extinguirem.

Diversos estudos, discutidos adiante, sugerem que o plasma rico em plaquetas pode ajudar na resposta óssea periimplantar de implantes de uso

odontológico. Estudo de YAMADA et al. (2004) realizado em cães reforçam essa hipótese. Os autores extraíram dentes das mandíbulas dos animais e prepararam cavidades cirúrgicas preenchidas com PRP ativado por trombina bovina em pó ou com PRP preparado da mesma forma, porém adicionado de células mesenquimais caninas (dMSC). Após um período de reparação tecidual de oito semanas, as referidas áreas receberam implantes os quais foram acompanhados no processo de osteointegração por outras oito semanas. Como resultado do experimento, os autores notaram que havia diferença significativamente favorável aos grupos onde o PRP foi utilizado em comparação com o grupo controle, sendo os números iguais a 26,4% de contato osso-implante para o grupo controle e de 44,2% e 58,6% para os grupos onde foram utilizados PRP unicamente e PRP com células mesenquimais, respectivamente.

ITO et al. (2006) deram continuidade ao estudo de YAMADA et al. (2004). Comparando o contato osso-implante após a instalação de implantes em regiões de reparação tecidual induzida por PRP+fibrina+dMSC, fibrina+dMSC ou fibrina, os autores verificaram uma diferença estatisticamente significativa favorável para o grupo onde o PRP foi utilizado em relação a todos os outros grupos (nos períodos correspondentes à quarta e oitava semanas após a instalação).

Outro estudo que sustenta os efeitos benéficos do PRP é o de SCHLEGEL et al. (2003). Os autores instalaram implantes no osso frontal de suínos adultos que foram sacrificados duas, quatro e oito semanas após a cirurgia. Cada animal recebeu quatro implantes tendo cada implante

recebido um tratamento de superfície diferente. Em um dos grupos, os implantes foram instalados tendo o PRP sido usado concomitantemente, tanto revestindo os implantes como sendo injetado no interior das cavidades cirúrgicas. Como resultado os autores observaram que o contato osso-implante era de 31% no grupo controle e de 47% no grupo com PRP após duas semanas. Após três semanas, os números do grupo controle e do grupo com PRP eram de 39% e 42% respectivamente. Na oitava semana os números eram 51% para o grupo controle e 62% para o grupo com PRP. Nestes casos, apenas para a quarta semana a diferença entre os grupos não foi significativa. Nos outros dois casos, a diferença foi favorável ao grupo com o PRP.

Ao confrontarmos os resultados obtidos em nosso trabalho com os de BROGNIEZ et al. (2000), notamos que são semelhantes. Estes autores observaram que o contato osso-implante está reduzido de maneira estatisticamente significativa no grupo de mandíbulas de cães irradiadas quando mensurado 16 semanas após a instalação dos implantes (28%) em comparação com o grupo controle (69%). Os autores também observaram que, na região dos implantes em que há contato direto com o osso cortical no momento da instalação, há maior contato osso-implante do que em regiões onde não havia osso originalmente. Essas observações são compatíveis com nossos achados uma vez que notamos maior formação óssea adjacente às paredes das tíbias dos coelhos do que na região do canal medular. As regiões que originalmente encontravam-se vazias e no momento da análise apresentavam neoformação óssea, como por exemplo

a parte do implante que atravessa o canal medular, podem ser consideradas como sinal de osteocondução, segundo os autores.

Quando comparamos os resultados obtidos para o Grupo II (coelhos irradiados) com os do Grupo III (coelhos irradiados com PRP) de nosso trabalho, notamos que em valores percentuais a ossificação total no contato osso-implante está significativamente aumentada neste último. Isso também ocorre para os números referentes ao contato do implante com tecido ósseo. Em relação ao contato do implante com material osteóide ocorre o inverso: os animais do Grupo II apresentaram índices melhores. Entretanto, como a ossificação total é significativamente maior no Grupo III, podemos levantar a hipótese de que, ainda que os animais fossem submetidos a um período maior de recuperação pós-operatória e todo o material osteóide sofresse o processo final de maturação e mineralização, ainda assim, o contato osso-implante seria melhor no grupo onde o PRP foi utilizado. Ainda sobre a maior quantidade de material osteóide observada nos coelhos do Grupo II em relação ao III, podemos inferir que isso se deve a um processo de reparação retardado. Sustentação para tal afirmação pode ser vista no estudo de AGHALOO et al. (2006). Esses autores concluíram que a expressão de PDGF, bFGF e TGF- $\beta$  está diminuída nas tíbias irradiadas em comparação com as não irradiadas, tanto em osso cortical como medular. Tanto o PDGF como TGF, presentes em grande quantidade no PRP, podem ser providos ao osso irradiado pelo gel. O PRP, portanto, pode apresentar reais benefícios terapêuticos, principalmente em casos onde a vascularização está comprometida e a reparação prejudicada, concluem os autores.

Em relação à densidade óssea, YAMADA et al. (2004) observaram diferença significativa apenas entre os grupos controle e PRP com células mesenquimais: 63,2% e 79,4% respectivamente. A diferença em relação ao grupo onde o PRP foi utilizado isoladamente (68,2%) não foi estatisticamente significativa. MONOV et al. (2005) também mensuraram a densidade óssea periimplantar de implantes instalados em região anterior de mandíbulas de humanos, num total de 10 pacientes. Ao compararem implantes instalados da maneira convencional com implantes instalados imediatamente após a injeção de PRP nas cavidades, não observaram diferenças significativas em nenhum momento do estudo (levado até o 44º dia pós-operatório). Entretanto, para os dois grupos, foi verificada uma diminuição da densidade óssea no momento da segunda medida (realizada no quarto dia pós-operatório) em relação à primeira medida (feita imediatamente após a cirurgia de instalação dos implantes). Ao final do estudo, todos os implantes, em ambos os grupos, apresentaram valores de densidade semelhantes aos achados no momento imediatamente após a instalação. Em nossos estudos os valores obtidos para a densidade óssea refletem a situação do 40º dia pós-operatório em coelhos.

A esses dados vêm se somar os resultados de FONTANA et al. (2004). Estes relataram que, em implantes instalados e recobertos com gel de PRP em tíbias de ratos, poderia ser observado significativo aumento do volume ósseo periimplantar ( $30\text{cm}^2$ ) quando em comparação com o grupo controle ( $16\text{cm}^2$ ). A densidade óssea verificada em nosso estudo também foi melhorada, no osso irradiado, pelo uso do PRP: de 25,1% a 33,4% de

preenchimento ósseo entre as espiras dos implantes, entretanto, o benefício proporcionado ao osso pelo uso do PRP não foi suficiente para tornar o seu metabolismo semelhante ao do grupo controle, o qual apresentou 41,3% de formação óssea entre espiras e foi significativamente melhor que os dois outros grupos.

No trabalho de SCHLEGEL et al. (2003), os números em relação à densidade óssea para o grupo controle foram iguais a 31%, 47% e 50% nas segunda, quarta e oitava semanas, respectivamente, após a cirurgia. Para o grupo com PRP a densidade óssea foi de 39%, 50% e 51% nestes mesmos respectivos períodos, sendo que a diferença foi significativa apenas na segunda semana. Ao comparar os dados obtidos por SCHLEGEL et al. (2003) com os nossos, podemos afirmar que o PRP tem a tendência de acelerar a neoformação óssea, mas que esse fato provavelmente pode ficar mais evidente quando o PRP é associado a osso que teve seu metabolismo comprometido pela irradiação.

Nossos achados vêm concordar tanto com os resultados de SCHLEGEL et al. (2003) como com os de FONTANA et al. (2004). Apesar de os referidos estudos não terem sido realizados com animais submetidos à radiação, levantam fortes indícios de que o PRP tem potencial para melhorar o contato osso-implante e a densidade óssea periimplantar.

Quanto à metodologia utilizada nos estudos de YAMADA et al. (2004) ou mesmo ITO et al. (2006), podemos apontar alguns pontos divergentes em relação ao nosso trabalho: enquanto em nossos experimentos os implantes foram instalados no osso sem que o mesmo

tivesse passado por qualquer processo (além da irradiação), tal como fizeram FONTANA et al. (2004) e SCHLEGEL et al. (2003), esses autores criaram cavidades e as preencheram com materiais biocompatíveis num primeiro momento, para, somente após a reparação, instalarem os implantes de acordo com os procedimentos tradicionais.

É inegável, entretanto, que a publicação de YAMADA et al. (2004) também sugere um efeito positivo do PRP sobre o tecido ósseo, no sentido que, segundo os autores, a maior concentração de fatores de crescimento provocada pelo PRP leva a uma melhor regeneração óssea e conseqüentemente melhor osteointegração dos implantes.

Alguns autores, que discutiremos adiante, também avaliaram a ação do PRP sobre o osso, porém em situações bastante específicas. AGHALOO et al. (2005), por exemplo, avaliaram histologicamente os efeitos do PRP associado a enxertos de osso congelado, tanto mineralizado (*freeze-dried mineralized bone* - FMB) quanto desmineralizado (*freeze-dried demineralized bone* - FDDB). Foram criadas cavidades no crânio de coelhos e preenchidas com FMB, FDDB, FMB+PRP ou FDDB+PRP. Os animais foram sacrificados após uma, duas e quatro semanas. Os cortes histológicos das peças embebidas em parafina foram observados ao microscópio de luz para cálculo da área de ossificação. Apesar de os resultados apontarem no sentido de uma maior densidade óssea nos grupos nos quais o PRP foi utilizado, a diferença não foi estatisticamente significativa.

Em consonância com os trabalhos de AGHALOO et al. (2005) está o trabalho de SANCHEZ et al. (2005). Os autores extraíram dentes pré-

molares e molares de cães para, após dois meses, realizarem nova cirurgia para instalação de implantes. Defeitos no osso foram criados com brocas nas paredes que sustentavam os implantes. Esses defeitos receberam osso desmineralizado congelado (*demineralized freeze-dried bone graft* - DFDBG) ou DFDBG com PRP. Os animais foram sacrificados em um, dois e três meses após a última cirurgia. Para este estudo não foram realizados preparos histológicos uma vez que a densidade óssea foi medida por densitômetro. Apesar de todos os números de densidade óssea terem sido maiores no grupo onde o PRP foi utilizado (exceto na avaliação após três meses, quando os resultados foram favoráveis para o grupo onde DFDBG foi utilizado isoladamente), a diferença para os demais grupos não foi estatisticamente significativa. Podemos afirmar, entretanto que os dados dos autores não se referem à osteointegração dos implantes pois os mesmos não investigaram o tecido ósseo localizado entre as espiras, mas sim o tecido ósseo formado na região dos defeitos criados.

CASATI et al. (2007), realizaram estudo com metodologia semelhante, entretanto, no preenchimento do defeito criado, não associaram ao PRP material algum. Ao contrário de SANCHEZ et al. (2005), CASATI et al. (2007) não utilizaram densitômetro; analisaram o contato osso-implante e a densidade óssea entre as espiras de titânio através da análise direta em microscópio, mas chegaram a resultados que corroboram os primeiros.

KIM et al. (2002), estudaram o efeito do PRP quando utilizado no auxílio do fechamento de defeitos ósseos do tecido periimplantar em cães. Esses autores, entretanto, ao contrário de CASATI et al. (2007) e SANCHEZ

et al. (2005) viriam a fazer, criaram os defeitos ósseos simplesmente através da não inserção total do implante no osso: deixaram três espiras expostas. Estas espiras eram recobertas ora com osso desidratado e congelado em forma pulverizada (*demineralized freeze-dried bone powder* - DBP) associado ao PRP, ora apenas com DBP. Os animais eram sacrificados com seis e doze semanas após a cirurgia e as peças assim obtidas eram incluídas em resina para posterior observação ao microscópio de luz. Os resultados que KIM et al. (2002) obtiveram são bastante divergentes dos que CASATI et al. (2007) e SANCHEZ et al. (2005) registraram: em todos os períodos analisados os grupos que receberam enxerto xenógeno apresentaram melhores resultados que o grupo controle e, ainda, o grupo onde o PRP foi associado apresentou resultados melhores estatisticamente significantes em relação aos demais.

KIM et al. (2002), entretanto, instalaram os implantes na crista ilíaca dos cães, enquanto que CASATI et al. (2007) e SANCHEZ et al. (2005) o fizeram no osso mandibular, em regiões de onde haviam extraído dentes previamente. Os modelos destes últimos autores, portanto, submetem os implantes a um desafio microbiológico que, se por um lado recriam melhor o ambiente onde os implantes seriam utilizados se instalados em humanos, por outro lado, levam a um experimento sobre o qual se tem menor controle sobre as variáveis.

Poucos trabalhos foram realizados até o momento no sentido de avaliar a influência do PRP sobre o osso irradiado. Trabalhos experimentais com animais e avaliação histomorfométrica são raros, como os de

AGHALOO et al. (2006). Esses autores realizaram ensaios imunohistoquímicos em osso da tíbia e do crânio de coelhos. As tíbias desses animais foram expostas à radiação gama de 65cGy em oito sessões e os coelhos foram sacrificados após quatro meses da irradiação. Os crânios, entretanto, não foram irradiados, mas receberam perfurações criadas com brocas do tipo trefina que foram preenchidas com osso autógeno ou osso autógeno com PRP. Esses animais foram sacrificados em um e dois meses após a cirurgia. Em todas as amostras, obtidas por descalcificação e inclusão em parafina, foram pesquisadas a expressão de PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), bFGF (fator básico de crescimento de fibroblastos) e TGF- $\beta$  (fator de transformação de crescimento  $\beta$ ). Apesar de não terem investigado a expressão desses fatores em osso irradiado e sob influência do PRP, chegaram à conclusão que tal expressão está aumentada nos grupos onde o PRP foi adicionado. Também mostraram que a expressão desses mesmos fatores está diminuída nas tíbias irradiadas.

Sobre PRP em forma de gel, NIKOLIDAKIS et al. (2008) relatam que talvez seja possível alcançar mais e melhores benefícios com PRP caso este seja utilizado em fase líquida. Esses autores instalaram implantes em tíbias de cabras. Esses implantes eram inseridos nas cavidade juntamente com o gel de PRP ou, em outro grupo, após simplesmente embeber a superfície do implante com o PRP na forma líquida. Analisando histologicamente as amostras obtidas, os autores demonstraram que a extensão de osso medular em contato com a superfície do implante era significativamente

maior no grupo onde foi associado o PRP gel. O contato osso-implante total (levando em conta não apenas osso medular), entretanto, era maior no grupo onde o PRP foi utilizado na forma líquida. Os autores especularam que o gel de PRP, devido à sua viscosidade, pode representar uma injúria maior no osso que irá receber o implante uma vez que, após a inserção do gel na cavidade, o torque a ser aplicado para a instalação do implante terá que ser significativamente maior. Os autores, no entanto, não realizaram medições de torque para a realização de seus experimentos. Em nosso estudo optamos pelo PRP gel, pois esta apresentação proporciona mais fácil manuseio durante os procedimentos.

Inicialmente, a técnica da implantologia recomendada por Brånemark consistia em aguardar seis meses após a instalação dos implantes antes de submetê-los às forças mastigatórias. Também havia a necessidade de se aguardar um período de reparação antes da instalação de implantes em regiões de osso alveolar submetidas a extrações dentais. Na medida em que os estudos clínicos comprovavam ser possível a diminuição desses tempos de espera para recuperação tecidual e osteointegração, as investigações científicas passavam a se direcionar no sentido de eliminar os critérios de exclusão classicamente utilizados na implantologia. Também os estudos envolvendo o PRP foram se direcionando para averiguações dos efeitos deste numa utilização mais direta, ou seja, inserido em cavidades criadas para a instalação dos implantes. Os primeiros ensaios que visavam verificar a eficácia do PRP em associação com implantes, buscavam avaliar seus efeitos na regeneração do osso que viria receber futuramente um implante.

ANITUA (1999), por exemplo, apresentou estudo de análise qualitativa envolvendo 20 pacientes que, após sofrerem extrações dentais, tinham as cavidade remanescentes preenchidas com PRP (denominado no estudo como plasma rico em fatores de crescimento), PRP com osso autólogo ou osso autólogo somente. O autor realizou biópsias entre a 10<sup>o</sup> e a 16<sup>o</sup> semanas. As amostras desmineralizadas e embebidas em parafina eram observadas ao microscópio. Tais observações foram apenas qualitativas mas mostraram diferentes graus de organização trabecular, reparação da ferida cirúrgica e regeneração óssea, sendo que tais parâmetros foram melhores nos grupos em que o PRP foi aplicado.

O presente trabalho, por seu ineditismo, conta com pouca referência na literatura: como citado anteriormente, poucos são os trabalhos que envolvem o uso direto do PRP no osso irradiado, daí a dificuldade de confrontarmos nossos resultados com os de outros experimentos. Em nossos achados, as características dos animais integrantes do Grupo III (grupo de coelhos irradiados com PRP) encontraram-se numa situação intermediária entre as observadas nos animais do Grupo I e do Grupo II. Podemos dizer, com isso, que o PRP tem um fator positivo na osteointegração de implantes inseridos no osso irradiado, uma vez que notamos melhora estatisticamente significativa para todos os parâmetros importantes avaliados no Grupo III em comparação com o Grupo II: ossificação total no contato osso-implante e densidade óssea. Por fim, podemos afirmar que o PRP provavelmente proporciona pouco benefício quando associado a osso de metabolismo normal, mas pode trazer ganhos importantes quando usado para acelerar a osteointegração em osso irradiado.

## 6 CONCLUSÕES

1- Implantes instalados em tíbias irradiadas de coelhos apresentaram índices de sucesso inferiores a implantes instalados em osso não irradiado.

2- A extensão do contato osso-implante e a densidade óssea periimplantar foram reduzidas de maneira estatisticamente significativa quando o implante foi instalado em tíbias irradiadas de coelhos.

3- O PRP apresentou potencial de acelerar o processo de integração óssea, porém não o suficiente para torná-lo semelhante ao observado no osso não irradiado.

4- Nossos resultados apontam para a possibilidade de realização de implantes em osso irradiado. No entanto, mais estudos são necessários para confirmação.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. **Clin Oral Implant Res** 2005; 16:250-7.

Aghaloo TL, Le AD, Freymiller EG, Avera S, Shimizu K, Nishimura RD. Immunohistochemical analysis of cortical and cancellous bone after radiation and the effect of platelet-rich plasma on autogenous bone grafting. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2006; 21:535-42.

Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. **Clin Oral Implant Res** 2008; 19:670-6.

Anitua E. Plasm rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1999; 14:529-35.

Asikainen P, Klemetti E, Kotilainen R, et al. Osseointegration of dental implants in bone irradiated with 40, 50 or 60 Gy doses. **Clin Oral Implant Res** 1998; 9:20-5.

Beck TJ. **Avaliação da interface implante/osso de implantes de uso odontológico em tíbias de coelho**. São Paulo; 1997. [Tese de Doutorado-Instituto de Ciências Biomédicas-USP].

Behmer AO, Tolosa EMC, Freitas Neto AG. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart; 1976. Coloração do tecido conjuntivo; p.109-31.

Brogniez V, D'Hoore W, Grégoire V, Munting E, Reyhler H. Implants placed in an irradiated dog mandible: a morphometric analysis. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2000; 15:511-8.

Brogniez V, Nyssen-Behets C, Grégoire V, Reyhler H, Lengelé B. Implant osseointegration in the irradiated mandible. A comparative study in dogs with a microradiographic and histologic assessment. **Clin Oral Implant Res** 2002; 13:234-42.

Casati MZ, de Vasconcelos Gurgel BC, Gonçalves PF, et al. Platelet-rich plasma does not improve bone regeneration around peri-implant bone defects--a pilot study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2007; 36:132-6.

Esser E, Wagner W. Dental implants following radical oral cancer surgery and adjuvant radiotherapy. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1997; 12:552-7.

Fontana S, Olmedo DG, Linares JA, Guglielmotti MB, Crosa ME. Effect of platelet-rich plasma on the peri-implant bone response: an experimental study. **Implant Dentistry** 2004; 13:73-8.

Fuerst G, Gruber R, Tangl S, Sanroman F, Watzek G. Effects of fibrin sealant protein concentrate with and without platelet-released growth factors on bony healing of cortical mandibular defects: an experimental study in minipigs. **Clin Oral Implants Res** 2004; 15:301-7.

Granström G. Osseointegration in irradiated cancer patients: an analysis with respect to implants failures. **J Oral Maxillofac Surg** 2005; 63:579-85.

Granström G, Bergström K, Tjellström A, Brånemark PI. A detailed analysis of titanium implants lost in irradiated tissues. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1994; 9:653-62.

Harrison JS, Stratemann S, Redding SW. Dental implants for patients who have had radiation treatment for head and neck cancer. **Spec Care Dentist** 2003; 23:223-9

Ihde S, Kopp S, Gundlach K, Konstantinovic VS. Effects of radiation therapy on craniofacial and dental implants: a review of the literature. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 2009; 107:56-65.

Iizuka T, Häfliger J, Seto I, Rahal A, Mericske-Stern R, Smolka K. Oral rehabilitation after mandibular reconstruction using an osteocutaneous fibula free flap with endosseous implants: factors affecting the functional outcome in patients with oral cancer. **Clin Oral Impl Res** 2005; 16: 69-79.

Ito K, Yamada Y, Naiki T, Ueda M. Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. **Clin Oral Implant Res** 2006; 17:579-86.

Jansen JA. Histological analysis of bone-implant interface. In: An YH, Martin KL, editors. **Handbook of histology methods for bone and cartilage**. New Jersey: Humana Press Inc; 2003. p.353-60.

Johnsson AA, Sawaii T, Jacobsson M, Granström G, Turesson I. A histomorphometric and biomechanical study of the effect of delayed titanium implant in irradiated rabbit bone. **Clin Implant Dent Related Res** 2000; 2:42-9.

Johnsson K, Hansson A, Granström G, Jacobsson M, Turesson I. The effects of hyperbaric oxygenation on bone-titanium implant interface strength with and without preceding irradiation. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1993; 8:415-9.

Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. **J Oral Maxillofac Surg** 2002; 60:1018-25.

König Jr B. A Study of Different Calcification Areas in Newly Formed Bone Eight Weeks after Insertion of Dental Implants in Rabbit's Tibias. **Ann Anat** 1998; 180:471-5.

Larsen PE, Stronczek MJ, Beck FM, Rohrer M Osteointegration of implants in radiated bone with and without adjunctive hyperbaric oxygen. **J Oral Maxillofac Surg** 1993; 51:280-7.

Lugero GG, Caparbo VF, Guzzo ML, König Jr B, Jorgetti V. Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. **Implant Dentistry** 2000; 9:303-9.

Mayer MN, Yoshikawa H, Moriarity L, Sidhu N. Use of a petroleum-based bolus for photon radiation therapy of distal extremities in dogs. **Vet Radiol Ultrasound** 2009; 50:235-8.

Marx RE. Osteoradionecrosis: a new concept of its pathophysiology. **J Oral Maxillofac Surg** 1983; 41:283-8.

Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? **Implant Dentistry** 2001; 10:225-8.

Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. **J Oral Maxillofac Surg** 2004; 62:489-96.

Marx RE, Johnson RP. Studies in the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1987; 64:379-90.

Marx RE, Morales MJ. The use of implants in the reconstruction of oral cancer patients. **Dent Clin North Am** 1998; 42:177-202.

Mcgregor AD, Macdonald DG. Post-irradiation changes in the blood vessels of the adult human mandible. **Br J Oral Maxillofac Surg** 1995; 33:15-8.

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** 2005; 16:461-5.

Moy PK, Medina D, Shetty V, Aghaloo TL. Dental implant failure rates and associated risk factors. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2005; 20:569-77.

Nikolidakis D, Van der Dolder J, Wolke JG, Jansen JA. Effect of platelet-rich plasma on the early bone formation around Ca-P-coated and non-coated oral implants in cortical bone. **Clin Oral Implants Res** 2008; 19:207-13.

Oelgiesser D, Levin L, Barak S, Schwartz-Arad D. Rehabilitation of an irradiated mandible after mandibular resection using implant/tooth-supported fixed prosthesis: a clinical report. **J Prosthet Dent** 2004; 91:310-4.

Oeschlin CK, Zimmermann AP, Grätz KW, Hermann FS. Histologic evidence of osseointegration in the irradiated and reconstructed mandible: a case report. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1999; 14:113-7.

Parliament M, Alidrisi M, Munroe M, et al. Implications of radiation dosimetry of the mandible in patients with carcinomas of the oral cavity and nasopharynx treated with intensity modulated radiation therapy. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2005; 34:114-21.

Peled M, Ardekian, L, Tagger-Green N, Gutmacher, Z, Machtei E. Dental

Implants in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Clinical Study. **Int J Oral Implantol** 2003; 12:116-22.

Rossi Júnior R, Souza Filho MAP. Obtainment of autologous thrombin: proposition of simplify protocol and easy clinic reproduction. **Rev Paulista Odontol** 2004; 26:4-9.

Sanchez AR, Eckert SE, Sheridan PJ, Weaver AL. Influence of platelet-rich plasma added to xenogeneic bone grafts on bone mineral density associated with dental implants. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2005; 20:526-32.

Scarano A, Petrone G, Piattelli A. Staining techniques for plastic-embedded specimes. In: An YH, Martin KL, editors. **Handbook of histology methods for bone and cartilage**. New Jersey: Humana Press Inc; 2003. p.315-20.

Schlegel KA, Kloss FR, Kessler P, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Wiltfang J. Bone conditioning to enhance implant osseointegration: an experimental study in pigs. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2003; 18:505-11.

Schweiger JW. Titanium implants in irradiated dog mandibles. **J Prosthet Dent** 1989; 62:201-5.

Schön R, Ohno K, Kudo M, Michi K. Peri-implant tissue reaction in bone irradiated the fifth day after implantation in rabbits: histologic and histomorphometric measurements. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1996; 11:228-38.

Silva ASA, Del Carlo RJ, Rizzo D. Iliac crest autograft in rabbit dorsolateral spinal fusion. **Braz J Vet Res Anim Sci** 2004; 41:254-60.

Simsek B, Simsek S. Evaluation of success rates of immediate and delayed implants after tooth extraction. **Chin Med J** 2003; 116:1216-9.

Vendramin FS, Franco D, Nogueira CM, Pereira MS, Franco TR. Platelet-rich plasma and growth factors: processing technique and application in plastic surgery. **Rev Col Bras Cir** 2006; 33:24-8.

Verdonck HWD, Meijer GJ, Laurin T, et al. Implant stability during osseointegration in irradiated and non-irradiated minipig alveolar bone: an experimental study. **Clin Oral Impl Res** 2008; 19:201-6.

Vidigal GM, Crispino AF, Groisman M, Soares GA. Implants interface with irradiated and nonirradiated bone. **Implant Dentistry** 2008; 17: 414-21.

Visch LL, Van Waas MAJ, Schmitz PJM, Levendog PC. A clinical evaluation of implants in irradiated oral cancer patients. **J Dent Res** 2002; 81:856-9.

Wang R, Pilai K, Jones PK. Dosimetric measurement of scattered radiation from dental implants in simulated head and neck radiotherapy. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1998; 13:197-203.

Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. **J Oral Maxillofac Surg** 1997; 55:1294-9.

Yamada Y, Ueda M, Naiki T, Nagasaka T. Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. **Clin Oral Implant Res** 2004; 15:589-97.

Yerit KC, Posch M, Seemann M, et al. Implant survival in mandibles of irradiated oral cancer patients. **Clin Oral Impl Res** 2006; 17:337-44.

Zechner W, Tangl S, Tepper G, et al. Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2003; 18:15-22.

***ANEXOS***

---

São Paulo, 19 de Junho de 2006.

À

**Ricardo Pelletti Ocaña**

Aluno do Curso de Pós Graduação em Ciências da Fundação Antônio Prudente

**Ref.: Projeto de Pesquisa com Animais nº 008/006**

“Avaliação da interface osso-implante em tíbias de coelho irradiadas”

Prezado Aluno,

O seu projeto de pesquisa acima mencionado foi reavaliado e aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais para Experimentação do Centro de Tratamento e Pesquisa do Hospital do Câncer uma vez que as indagações feitas por esta comissão foram satisfatoriamente respondidas e que as alterações no projeto sugeridas por esta comissão serão acatadas conforme explicitado em sua carta de resposta encaminhada à CEUA em 23 de maio de 2006.

Atenciosamente,



Dra. Adriana Abalen Martins Dias  
Presidente



Dra. Aná Paula Lepique  
Membro



**ERASTO GAERTNER**

HOSPITAL ERASTO GAERTNER  
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE  
INSTITUTO DE REABILITAÇÃO  
CENTRO DE PROJETOS DE ENSINO E PESQUISA  
F E D E F E M I N I N A

### Comunicado de Aprovação de Projeto

Curitiba, 18 de abril de 2006.

Ilmo Sr./Dr  
Dr. Ricardo Pelletti Ocaña

Prezado Sr.,

Comunicamos que seu projeto de Pesquisa de nº 1251: Avaliação da Interface Osso-Implante em Tibias de Coelho irradiadas, foi aprovado pelo CEPEP no dia 17/04/2006 e pode ser iniciado de imediato.

Atenciosamente,

  
Andressa Krause Miranda  
CEPEP - Pesquisa

**Relatório Parcial Previsto  
para:**

**Outubro/2006**