

**FACULDADE SETE LAGOAS - FACSETE
ESPECIALIZAÇÃO EM IMPLANTODONTIA**

ANA CECILIA GOMES LEMOS

OSSEOINTEGRAÇÃO

SÃO PAULO – SP

2018

FACULDADE SETE LAGOAS – FAC SETE

ANA CECILIA GOMES LEMOS

OSSEOINTEGRAÇÃO

Monografia apresentada ao curso de Especialização Lato Sensu da FACSETE, como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Implantodontia.

Área de concentração: Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Dario Paterno Júnior

SÃO PAULO – SP

2018

Lemos, Ana Cecilia Gomes.

Osseointegração / Ana Cecilia Gomes Lemos, 2018.

121 f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Dario Paterno Júnior

Monografia (Especialização) – Faculdade Sete Lagoas, 2018.

1. Osseointegração. 2. Implantes Dentários.

I. Título.

II. Dario Paterno Júnior.

FACULDADE SETE LAGOAS – FAC SETE

Monografia intitulada "Osseointegração" de autoria da aluna Ana Cecilia Gomes Lemos, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Dario Paterno Júnior - NEO – NÚCLEO DE ESTUDOS ODONTOLÓGICOS
Orientador

Prof. Dr. Rodrigo Balan
Examinador

São Paulo, 14 de maio de 2018.

DEDICATÓRIA

A minha família, razão de minha
existência.

A Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus professores pelos
grandes ensinamentos.

EPÍGRAFE

**“Conheço muitos que não puderam quando deviam
porque não quiseram quando podiam”.**

(François Rabelais)

RESUMO

A osseointegração, definida como uma conexão estrutural e funcional direta entre o osso vivo ordenado e a superfície de um implante, é crítica para a estabilidade do implante e é considerada um pré-requisito para o carregamento do implante e o sucesso clínico a longo prazo dos implantes dentários ósseos finais. A interface implante-tecido é uma região extremamente dinâmica de interação. Essa interação complexa envolve não apenas questões de biomaterial e biocompatibilidade, mas também a alteração do ambiente mecânico. Os processos de osseointegração envolvem um intertravamento inicial entre o osso alveolar e o corpo do implante e, posteriormente, a fixação biológica por aposição óssea contínua e remodelação em direção ao implante. O processo em si é bastante complexo e há muitos fatores que influenciam a formação e manutenção do osso na superfície do implante. O objetivo desta revisão é analisar a compreensão atual de avaliações clínicas e fatores que determinam o sucesso e o fracasso de implantes dentários osseointegrados. A osseointegração, a assimilação estrutural direta do osso a um implante, é um tópico de particular importância para os cirurgiões ortopédicos. Na artroplastia (por exemplo, ao redor da prótese) e no trauma (por exemplo, em torno dos parafusos), a ancoragem óssea na superfície do implante pode fazer a diferença entre sucesso e insucesso da cirurgia reconstrutiva. Modificações de superfície podem aumentar as propriedades osseointegrativas dos implantes, e a otimização do crescimento ósseo tem sido objeto de extensa literatura de investigação há anos.

Palavras-chaves: 1. Titânio; 2. Interface osso-metal; 3. Implantes endósseos; 4. Trava mecânica; 5. Estabilidade do implante.

ABSTRACT

Osseointegration, defined as a direct structural and functional connection between ordered, living bone and the surface of a load-carrying implant, is critical for implant stability, and is considered a prerequisite for implant loading and long-term clinical success of endosseous dental implants. The implant–tissue interface is an extremely dynamic region of interaction. This complex interaction involves not only biomaterial and biocompatibility issues but also alteration of mechanical environment. The processes of osseointegration involve an initial interlocking between alveolar bone and the implant body, and later, biological fixation through continuous bone apposition and remodeling toward the implant. The process itself is quite complex and there are many factors that influence the formation and maintenance of bone at the implant surface. The aim of this present review is to analyze the current understanding of clinical assessments and factors that determine the success & failure of osseointegrated dental implants. Osseointegration, the direct structural assimilation of bone to an implant, is a topic of particular importance to orthopaedic surgeons. In arthroplasty (e.g., around the prosthesis) and in trauma (e.g., around screws), bony anchorage onto the implant surface can make the difference between success and failure of reconstructive surgery. Surface modifications may increase the osseointegrative properties of implants, and optimizing bony ingrowth has been the subject of extensive investigation literature for years.

Keywords: 1. Titanium; 2. Bone–Metal interface; 3. Endosseous implants; 4. Mechanical interlock; 5. Implant stability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES / TABELAS

Figura 1 – Dente natural versus implante.....	Pág.19
Figura 2 – Gráfico de avaliação de energia superficial com tratamento com plasma atmosférico	Pág.28
Figura 3 – Gráfico <i>in vivo</i> do osso e do implante.....	Pág.30
Figura 4 – Gráfico BIC.....	Pág.31
Figura 5 – Gráfico BAFO.....	Pág.32
Figura 6 – Local Sham, em 10 dias.....	Pág.45
Figura 7 – Local do implante de titânio, em 10 dias.....	Pág.46
Figura 8 – Local Sham curado, em 28 dias.....	Pág.46
Figura 9 – Local do implante de titânio, em 28 dias.....	Pág.47
Figura 10 – Local do implante de titânio, em 28 dias.....	Pág.47
Figura 11 – Gráfico de resposta inflamatória de células RAW 264.7 em revestimentos CLT.....	Pág.55
Figura 12 – Seção histológica de implante de titânio.....	Pág.67
Figura 13 – Possíveis aplicações de entrega local de medicamentos.....	Pág.70
Figura 14 – Formação óssea em rato com osteoporose.....	Pág.71
Figura 15 – Gráfico de adsorção de FN7-10.....	Pág.75
Figura 16 – Fluorescência do hMSCs.....	Pág.77
Figura 17 – Gráfico de bloqueio com anticorpos para integrinas.....	Pág.78
Figura 18 – Gráfico de fixação mecânica dos parafusos SS ao osso sadio.....	Pág.78
Figura 19 – Estado osteoporótico em ratos ovariectomizados.....	Pág.80
Figura 20 – Gráficos comparativos de fixação mecânica dos parafusos SS ao osso OVX e operados de forma simulada.....	Pág.81
Figura 21 – Contato implante-osso.....	Pág.82
Figura 22 – Implante na tíbia de ratos.....	Pág.84
Figura 23 – Superfície de TiO ₂	Pág.85
Figura 24 – Lâminas histológicas de células próximas ao implante tratado e não tratado com magnésio.....	Pág.86

Figura 25 – Lâminas histológicas do coágulo sanguíneo com e sem magnésio.....	Pág.87
Figura 26 – Lâminas histológicas de titânio com e sem magnésio.....	Pág.88
Figura 27 – Procedimento de radioterapia.....	Pág.97
Figura 28 – Análise quantitativa de interface osso-implante.....	Pág.99
Figura 29 – Interface osso-implante revelando o volume ósseo.....	Pág.100
Tabela 1 – Resultados do uso de sinvastatina.....	Pág.35
Tabela 2 – Proteínas e suas funções.....	Pág.38

LISTA DE ABREVIATURAS

APP: plasma à pressão atmosférica
BAFO: fração de ocupação da área óssea
BIC: contato osso-implante
BMP: proteína morfogenética óssea
BMP2: proteína morfogenética óssea 2
BP: bifosfonatos
b-TCP: beta-fosfato tricálcio
CaP: fosfato de cálcio.
CLT: clinoenstatite
EPC: células progenitoras endoteliais
ePTFE: politetrafluoroetileno expandido
FAK: proteína focal de adesão quinase
hMSC: Células-tronco mesenquimais humanas
MSCs: células estaminais mesenquimais
OFD: desbridamento de retalho aberto
OPG: osteoprotegerina
OVX: ovariectomizados
PDLSC: células-tronco do ligamento periodontal
PDT: terapia fotodinâmica
PRP: Plasma rico em plaquetas
qPCR: reação em cadeia de polimerizase-quantitativa
RANKL: ligante do receptor do fator nuclear kapa B
Sh: procedimento falso
Sham: falso
SS: aço inoxidável
Ti: titânio
XPS: espectroscopia fotoelétrica de raios-X

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Pág.14
2. PROPOSIÇÃO	Pág.16
3. REVISÃO DE LITERATURA	Pág.17
3.1 Mecanismos de Osseointegração.....	Pág.17
3.2 Fatores que determinam o sucesso e a falha de implantes.....	Pág.20
3.2.1 Interface de Implantes Ósseos.....	Pág.21
3.2.2 Biocompatibilidade de implantes.....	Pág.21
3.2.3 Óxido de titânio.....	Pág.21
3.2.4 Características da superfície do implante.....	Pág.22
3.2.4.1 Propriedades mecânicas.....	Pág.22
3.2.4.2 Propriedades topográficas.....	Pág.23
3.2.4.3 Rigidez da superfície.....	Pág.23
3.2.4.4 Características físicas.....	Pág.24
3.2.5 Área cirúrgica do implante.....	Pág.24
3.2.6 Técnica Cirúrgica.....	Pág.25
3.2.7 Condições de carregamento.....	Pág.25
3.2.8 Inovações recentes na tecnologia de implantes dentários para melhorar a osseointegração.....	Pág.25
3.3 Avaliação de tratamento de Plasma a Pressão Atmosférica para a Osseointegração.....	Pág.26
3.4 O efeito da Sinvastatina na osseointegração.....	Pág.33
3.5 Osseointegração e os avanços nas superfícies.....	Pág.36
3.5.1 Osseointegração em superfícies bioinertes e ósseas condutoras.....	Pág.40
3.6 Osseointegração e reação a corpo estranho.....	Pág.42
3.6.1 Análise de expressão de genes – qPCR.....	Pág.43
3.6.2 Histologia descalcificada.....	Pág.43
3.6.3 Histologia microscópica.....	Pág.43
3.6.4 Resultado da análise de expressão de genes.....	Pág.44

3.6.5 Resultado da histologia.....	Pág.44
3.7 Osseointegração e os revestimentos de clinoenstatita.....	Pág.52
3.7.1 Resultados.....	Pág.53
3.7.1.1 Força de ligação e liberação de íons funcionais dos CLT.....	Pág.53
3.7.1.2 As propriedades ósseo imunomoduladoras dos CLT.....	Pág.55
3.8 Re-osseointegração de implantes dentários após periimplantite.....	Pág.58
3.8.1 Descontaminação da superfície.....	Pág.58
3.8.2 Terapia regenerativa.....	Pág.61
3.9 Osteoporose - cura de fraturas e osseointegração.....	Pág.64
3.9.1 Osseointegração em condições saudáveis vs. Osteoporose.....	Pág.66
3.10 Revestimentos com fragmento de fibronectina melhoram a osseointegração do parafuso de aço inoxidável em ratos saudáveis e osteoporóticos.....	Pág.72
3.10.1 Implantações de parafusos.....	Pág.74
3.10.2 Análise de osteointegração.....	Pág.74
3.10.3 Adsorção passiva de FN7-10 em SS.....	Pág.75
3.10.4 O revestimento FN7-10 promove a adesão das células hMSC e a diferenciação osteoblástica.....	Pág.76
3.10.5 O revestimento FN7-10 melhora a osseointegração do implante SS em ratos saudáveis.....	Pág.77
3.10.6 O revestimento FN7-10 melhora a osseointegração de parafusos SS em ratos osteoporóticos.....	Pág.79
3.11 O efeito do magnésio na osseointegração em osso osteoporótico.....	Pág.82
3.12 Gálio e silício podem promover sinergicamente a osseointegração de ossos osteoporóticos.....	Pág.89
3.13 Tabagismo e Diabetes na Osseointegração.....	Pág.92
3.14 Osseointegração de implante em osso irradiado.....	Pág.96
4. DISCUSSÃO.....	Pág.103
5. CONCLUSÃO.....	Pág.115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	Pág.116

1- INTRODUÇÃO

A substituição bem sucedida do dente natural perdido por meio de implantes integrados nos tecidos representa um grande avanço no tratamento clínico. A base para a osseointegração, que leva à união permanente e funcional entre o titânio e o osso, é estabelecida quando o local receptor é topograficamente harmonioso, geometricamente ajustado e gentilmente preparado à anatomia do acessório fixador. O osso reage à colocação do implante com um processo de cicatrização que é muito semelhante à ossificação intramembranosa produzida após a fratura óssea, exceto que o osso recém-formado está em contato com a superfície de um material aloplástico - o implante.

A osseointegração é definida como um tempo dependente do processo de cicatrização pelo qual a fixação rígida clinicamente assintomática de materiais aloplásticos é alcançada e mantida no osso durante o carregamento funcional (ZARB e ALBREKTSSON, 1991). A aparência histológica se assemelha a uma anquilose funcional sem intervenção de tecido fibroso ou conjuntivo entre o osso e a superfície do implante. A osseointegração da superfície do implante é o que permite que o implante seja submetido a cargas de mastigação, que são transmitidas ao osso (ALBERTINI, FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2015).

Diversos fatores podem contribuir para o sucesso ou insucesso da osseointegração em implantes dentais, como o biomaterial que o compõe, seu formato, seu tratamento de superfície e variáveis inerentes ao paciente, como quantidade e qualidade de tecido ósseo. A estabilidade primária do implante pode diminuir de forma expressiva em ossos de baixa densidade, aumentando significativamente a possibilidade de fracasso.

A gênese da osseointegração como conceito foi introduzida por Per-Ingvar Branemark (1969), professor do Instituto de Biotecnologia Aplicada da Universidade de Gotemburgo. Ele a chamou de "Uma conexão estrutural e funcional direta entre o osso vivo organizado e a superfície do implante de cobertura de carga" (RAGHAVENDRA S JAYESH, 2015). O TiO_2 forma-se sobre a superfície do implante de titânio devido à oxidação, esta formação de superfície O_2 provoca a osteointegração. Este novo campo do uso clínico da biotecnologia tem trazido benefícios para os pacientes que perderam dentes e anexos. O titânio apresenta

boa biocompatibilidade, resistência à corrosão e excelentes propriedades mecânicas.

A osseointegração do implante dentário é um fenômeno que tem sido estudado há muito tempo. No entanto, a bioengenharia recente nos permitiu compreender os diferentes eventos biológicos que o caracterizam - em vez disso, adsorção de proteínas, formação de coágulos, formação de tecido de granulação, formação provisória de matrizes, formação de interface, aposição e remodelação óssea (ALBERTINI, FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2015).

Os implantes metálicos são amplamente utilizados para fornecer suporte estrutural e estabilidade em tratamentos cirúrgicos atuais para fraturas ósseas, fusões espinhais e artroplastias articulares, bem como aplicações craniofaciais e dentárias. A fixação mecânica inicial do implante-osso é um requisito importante para o desempenho bem sucedido de tais implantes. No entanto, a osseointegração adequada foi difícil de alcançar, especialmente em estados de doença desafiantes, como a osteoporose devido à redução da massa e força óssea. Porém, será apresentada uma estratégia de revestimento simples com base na adsorção passiva de FN7-10, um fragmento recombinante de fibronectina humana que engloba o principal adesivo celular, local de ligação à integrina, em aço inoxidável de 316^o (SS) (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

2- PROPOSIÇÃO

O objetivo desse trabalho é, através de revisão de literatura, expor o mecanismo de osseointegração, avaliar a resistência da interface implante-osso e determinar quais os fatores que determinam o sucesso e a falha de implantes dentários osseointegrados, visando aprimorar o conhecimento para uma resolução clínica eficaz.

3- REVISÃO DE LITERATURA

Desde 1952, o conceito de próteses integradas em tecidos foi estudado no laboratório de microscopia óptica da Universidade de Lund e, posteriormente, no laboratório de biologia experimental da Universidade de Gotemburgo.

O conceito inicial de osseointegração decorreu de estudos microscópicos da medula óssea da fíbula de coelho, que foi dissecada para inspeção visual em um microscópio de alta resolução. Com instrumentação especial, a medula pode ser estudada em transiluminação in vivo e in situ, após o osso ter sido cortado a uma espessura de apenas 10-20 µm. A circulação foi mantida nesta fina camada de osso e com poucos sinais de dano microvascular, que é a primeira e mais sensível indicação de lesão tecidual. Estes estudos intravasculares da circulação da medula óssea também revelaram uma conexão circulatória íntima entre medula, ossos e articulações. Estudos subsequentes da regeneração do osso e da medula enfatizaram a íntima conexão funcional entre a medula e o osso no reparo de defeitos ósseos.

A osseointegração também é uma medida pela estabilidade do implante, o que pode ocorrer em 2 estágios diferentes: primário e secundário. A estabilidade primária de um implante vem principalmente da fixação mecânico com osso compacto. A estabilidade secundária, por outro lado, oferece estabilidade biológica através da regeneração e remodelação óssea. O primeiro é um requisito para a estabilidade secundária. O último, porém, determina o tempo de carregamento funcional.

A estabilidade do implante, uma indicação indireta de osseointegração, é uma medida da imobilidade clínica de um implante. Atualmente, foram sugeridas várias análises de diagnóstico para definir a estabilidade de implantes: radiografias padronizadas, teste de resistência ao torque, análise modal e Análise de Frequência de Ressonância (RFA) (PARITHIMARKALAINAN e PADMANABHAN, 2013).

3.1 Mecanismos de Osseointegração

A cicatrização óssea direta, a cicatrização primária da fratura e a osseointegração são ativados por qualquer lesão da matriz óssea pré-existente. Quando a matriz é exposta à extras fluidos celulares e às proteínas não colágenas

os fatores de crescimento são liberados e ativam o reparo ósseo. Uma vez ativado, a osseointegração segue um programa biologicamente determinado, subdividido em 3 etapas: Incorporação por formação tecido ósseo; Adaptação da massa óssea a carga (deposição óssea); e Adaptação da estrutura óssea à carga (remodelação óssea) (PARITHIMARKALAINAN e PADMANABHAN, 2013).

O processo de cicatrização dos implantes é semelhante à cicatrização óssea primária. Inicialmente, o sangue está presente entre o acessório e o osso e depois o coágulo de sangue se forma. O coágulo de sangue é transformado por células fagocíticas, como leucócitos polimorfonucleares, células linfóides e macrófagos. O nível de atividade fagocítica atinge um pico durante o período entre o 1º e o 3º dia após a cirurgia. Por volta desse tempo, a prótese é anexada ao cicatrizador e ocorre a remodelação óssea. As calcificações ósseas tornam-se densas e homogêneas. Os estresses oclusais estimulam o osso circundante. À medida que a remodelação ocorre, os implantes osseointegrados podem suportar funções de mastigação (RAGHAVENDRA e DHINAKARSAMY, 2015)

Podemos reconhecer principalmente diferentes eventos biológicos durante a cicatrização óssea que envolve o implante - reabsorção de proteína, formação de coágulos, formação de tecido de granulação, formação provisória de matriz, formação de interface, aposição e remodelação óssea (ALBERTINI, FERNANDEZ-YAGUE, *et al.*, 2015).

Os implantes osseointegrados sob cargas oclusais são cercados por osso cortical e esponjoso. Quando a osseointegração é estabelecida, e a prótese é projetada para uma boa distribuição do estresse, ossos corticais formam-se ao longo da superfície do implante com alguns milímetros de espessura. A superfície da interface cortical-osso tem participação nos canalículos que transportam eletrólitos perto da camada de óxido. Uma rede de feixes de colágeno circunda os osteócitos e insere-se em uma camada de glicoproteína. É formada uma camada de glicoproteína de 0.1 nanômetros. O osso de Havers se torna bem organizado e forma ósteon (RAGHAVENDRA e DHINAKARSAMY, 2015)

Durante os anos de desenvolvimento, os implantodontistas começaram a reconhecer que, para que os implantes fossem bem-sucedidos e sobrevivessem durante longos períodos de tempo na cavidade oral, deveria haver um selo biológico efetivo entre o material do implante e os tecidos dos maxilares. Weinmann teorizou o conceito de um selo em torno dos implantes. Mais recentemente, Lavelle enfatizou a

necessidade da gengiva inserida para adaptar-se ao implante, proporcionando uma barreira às bactérias e toxinas orais no espaço entre os implantes e os tecidos biológicos.

Um estudo científico sistemático para investigar este fenômeno do selo foi conduzido mais tarde, usando uma combinação de microscopia de luz e microscopia eletrônica. Foi demonstrado que o epitélio gengival se regenerou após a cirurgia e que eram consistentemente semelhantes às observadas no epitélio do dente natural. Outros relatórios mostraram a presença de hemidesmossomos associados às células epiteliais regeneradas e a presença de deposição de oricina-positivo na superfície do implante, que sugeriu a presença de uma estrutura semelhante a uma lâmina cutânea ou lâmina basal que ajudaria a criar um anexo positivo entre o epitélio gengival e a superfície do implante, e este mecanismo se desenvolveu muito rapidamente após a implantação. Assim, a presença de um aparelho de fixação gengival com componentes epiteliais semelhantes aos vistos em torno de dentes naturais foi firmemente estabelecida (figura 1).

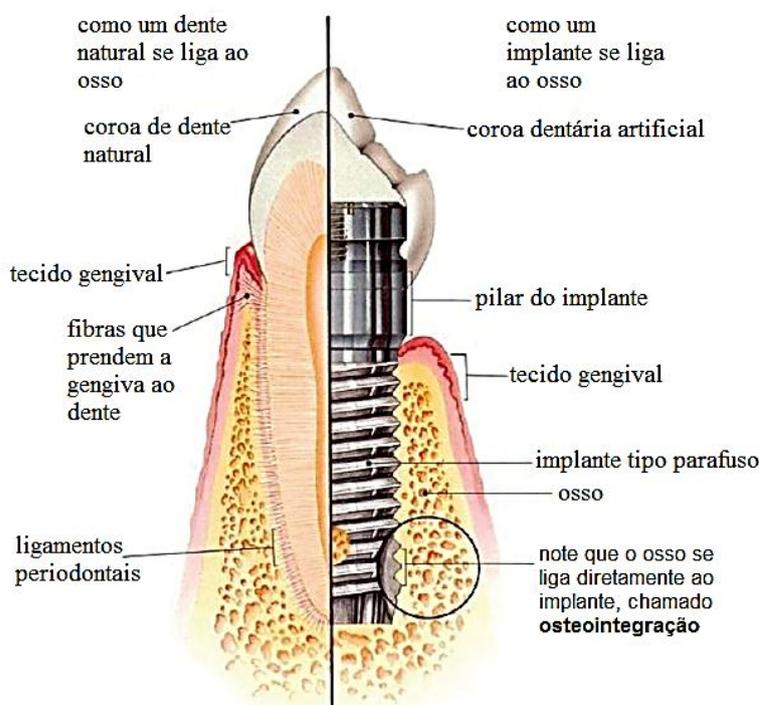


Figura 1: Dente natural versus implante. Fonte: (RAGHAVENDRA e DHINAKARSAMY, 2015)

Todos os implantes dentários, sejam endósseo, transósseo ou subperióstico, devem ter parte coronal suportada pela submucosa (lâmina própria) e epitélio escamoso estratificado de cobertura na cavidade bucal. Um "elo fraco" é criado entre a aderência do implante e o suporte ósseo do implante. Esta é a área onde começa a ruptura inicial do tecido que pode resultar em eventual necrose e destruição do tecido ao redor do implante.

O selo biológico torna-se assim um fator importante e crucial na longevidade dos implantes dentários. Ele serve como uma barreira fisiológica efetiva para prevenir a entrada de toxinas, placas bacterianas, detritos orais e outras substâncias deletérias na cavidade bucal. Todos esses agentes são conhecidos causadores de lesões de tecidos e células e devem ser impedidos de ter acesso ao ambiente interno que fornece suporte para o implante.

Se o selo é violado, os tecidos moles adjacentes se inflamarão. Isto será seguido por atividade dos osteoclastos no tecido duro subjacente e reabsorção crônica do osso de suporte. Com a perda contínua do osso de suporte, a discrepância irá se preencher com tecido de granulação e o implante se tornará móvel, resultando na entrada das toxinas bacterianas e agentes degenerativos no ambiente interno ao redor do implante. Em última análise, ocorrerá uma destruição suficiente para dar origem a uma inflamação supurativa aguda ou inflamação aguda com dor, particularmente após a mastigação ou mobilidade excessiva o que torna o suporte da prótese dentária impraticável. O único tratamento efetivo é a remoção do implante e o desbridamento da lesão. Além disso, se ocorrer perdas suficientes de osso devido a este procedimento destrutivo, o suporte subsequente de implantes adicionais ou outros dispositivos restauradores pode ser severamente comprometido.

3.2 Fatores que determinam o sucesso e a falha de implantes.

A osseointegração é a base de um implante endósseo bem sucedido. Para entender completamente o que influencia a osseointegração, é importante primeiro examinar os traços de uma superfície que permite a biocompatibilidade e as superfícies utilizadas e estudadas, como óxido de titânio e hidroxiapatita.

3.2.1 Interface de Implantes Ósseos

A osseointegração é um fenômeno em que o osso fixa diretamente contra a superfície do implante sem qualquer interposição de colágeno ou matriz fibroblástica. Estudos desenvolvidos por PARITHIMARKALAINAN e PADMANABHAN, 2013 concluíram que a força de um implante osseointegrado é muito maior que o de um implante encapsulado fibroso. Além disso, a força da interface entre o osso e o implante aumenta logo após a colocação do implante (0-12 semanas). Essa força pode, de fato, estar relacionada à quantidade de osso que circunda as superfícies do implante. De outros fatores que podem afetar a força da interface é a estimulação biofísica e o tempo de cura. Estudos mostraram que ocorrem aumentos mensuráveis nas interações de implante ósseo em pelo menos 3 anos.

3.2.2 Biocompatibilidade de implantes

O titânio puro (CpTi) é amplamente utilizado como material de implante, pois é altamente biocompatível, tem boa resistência à corrosão, nenhuma toxicidade a macrófagos ou fibroblastos, nenhuma resposta inflamatória a tecidos periimplantares e é composto por uma camada de óxido que tem a capacidade de se reparar por reoxidação quando danificado. Outro material utilizado para implantes, a liga de titânio-6 alumínio-4 vanádio (TI-6AL-4 V) exibe suaves reações a tecidos, muito semelhantes às relatadas a CpTi .

3.2.3 Óxido de titânio

Quando Ti (titânio) ou ligas de Ti são expostas ao ar ou ambientes fisiológicos normais, há uma reação com oxigênio o que faz com que a camada de óxido seja formada. Geralmente, o óxido é na forma de TiO_2 . A camada de óxido protege contra a corrosão. Os íons de cálcio e fosfato foram encontrados nas camadas de óxido, o que sugere que existe uma troca ativa de íons na interface do implante ósseo.

Além do mais, superfícies porosas demonstraram melhorar as interações iônicas, iniciar um duplo sistema de âncora físico-química e aumentar a capacidade de carga. Além disso, superfícies porosas podem aumentar a resistência à tração através do crescimento de osso em três dimensões, bem como aumentar taxas de cicatrização. A maioria dos implantes comercialmente disponíveis é coberta por pulverização de plasma. Pulverização de plasma de titânio envolve gotas derretidas sendo pulverizadas em forma em pó na superfície do implante a altas temperaturas. Assim, é obtida uma maior área superficial, o aumento do contato com o osso é alcançado e a capacidade de formar uma interligação tridimensional é aprimorada. A desvantagem da pulverização de plasma de titânio é o risco de descamação e rachaduras devido às altas temperaturas de processamento. Além disso, existe o risco de o material abrasivo ser implantado na interface osso-implante. A quantidade de fusão do titânio pulverizado por plasma contribui para esta abrasão. Ou seja, quanto maior a fusão, mais resistente será a superfície à abrasão (PARITHIMARKALAIIGNAN e PADMANABHAN, 2013).

Os revestimentos de hidroxiapatita (HA) têm a vantagem de aumentar a área de superfície, diminuir as taxas de corrosão e acelerar a formação do osso através de uma maior diferenciação dos osteoblastos. Além disso, devido à biomecânica aprimorada, os implantes revestidos de HA são mais capazes de suportar cargas. Outras vantagens do HA incluem o padrão ósseo mais organizado e maior grau de mineralização na interface, bem como aumento de penetração óssea (que melhora a fixação). As capacidades de ligação óssea do HA o tornam uma superfície muito desejável e provavelmente a mais confiável atualmente.

3.2.4 Características da superfície do implante

A qualidade da superfície determinará a reação dos tecidos a um implante oral. A qualidade da superfície pode ser dividida em três categorias: (1) propriedades mecânicas, (2) propriedades topográficas e (3) propriedades físico-químicas.

3.2.4.1 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das superfícies dos implantes relacionam-se a tensões potenciais na superfície que podem resultar em aumento da taxa de

corrosão e desgaste em relação à dureza do material. O desgaste está relacionado à força do material, mas também à rugosidade da superfície. Uma técnica para minimizar o desgaste é a implantação iônica.

3.2.4.2 Propriedades topográficas

A topografia superficial refere-se ao grau de rugosidade da superfície e à orientação das irregularidades da superfície. A composição química da interface da superfície do implante mostrou-se que afeta a conexão inicial da célula. Isto estimulou um grande interesse na modificação da superfície do implante como forma de acelerar a taxa de osseointegração.

3.2.4.3 Rigidez da superfície

Dependendo da escala dos recursos e com base na proposta de Wennerberg e Albrektsson, a rugosidade da superfície pode ser dividida em quatro categorias:

- Superfícies lisas: valor $A_s < 0,5 \mu\text{m}$ (por exemplo, superfície de pilar polido).
- Superfícies minimamente ásperas: valor S_a $0,5$ a $< 1,0 \mu\text{m}$ (por exemplo, implantes torneados).
- Superfícies moderadamente ásperas: valor S_a $1,0$ a $< 2,0 \mu\text{m}$ (por exemplo, os tipos mais utilizados).
- Superfícies ásperas: valor $S_a \geq 2,0 \mu\text{m}$ (por exemplo, superfície de plasma pulverizado).

Rugosidade moderada está associada a geometria do implante, assim como a estrutura do parafuso e os tratamentos superficiais macro porosos. Estudos anteriores demonstraram que esse tipo de rugosidade permitiu o crescimento do osso e proporcionou bloqueio mecânico logo após a colocação do implante. O contato de implante de osso mais elevado (BIC) e a força de torque de remoção sugeriram maior estabilidade secundária em comparação com implantes suaves e minimamente ásperos.

Existem duas teorias principais sobre a influência da micro topografia da superfície do implante na formação do tecido periimplantar - (1) a energia da superfície e (2) a deformação distorcional. O menor tamanho de grão na superfície resulta em maior energia superficial, o que é mais favorável para a aderência celular.

Além disso, as possíveis desvantagens da rugosidade da superfície do implante incluem problemas com a periimplantite e um maior risco de vazamento iônico.

3.2.4.4 Características físicas

Refere a fatores como energia de superfície e carga. Uma superfície com alta energia tem afinidade pela adsorção. Por outras palavras, um implante oral com alta energia superficial pode apresentar uma osseointegração mais forte.

O tratamento de uma descarga brilhante, “glow discharge”, resulta em alta energia superficial, bem como na esterilização de implantes. Uma maneira prática de medir a energia da superfície é a medida do ângulo de contato, um método também determina se uma superfície é hidrofóbica ou hidrofílica (molhabilidade da superfície).

3.2.5 Área cirúrgica do implante

É necessário um local receptor do implante saudável. No entanto, na realidade clínica; o leito hospedeiro pode ter sofrido de irradiação prévia e osteoporose, para mencionar alguns estados indesejáveis para implantação. A irradiação anterior não precisa ser uma contraindicação absoluta para a inserção de implantes orais. No entanto, é preferível que algum atraso seja permitido antes de um implante ser inserido num leito previamente irradiado. Além disso, cerca de 10 a 15% dos insucessos clínicos devem ser esperados após uma dose terapêutica de irradiação. Por causa do dano vascular, pelo menos em parte. Uma tentativa de aumentar as condições de cicatrização em um leito previamente irradiado é usando oxigênio hiperbárico, pois uma baixa tensão de oxigênio definitivamente tem efeitos negativos sobre o reparo tecidual.

Nos maxilares com volume insuficiente de osso para a instalação do implante, uma técnica de enxerto foi recomendada para aumentar a quantidade de

tecidos duros. Para criar mais osso alveolar sem enxertia, uma nova técnica cirúrgica foi testada, dependendo do princípio biológico da regeneração guiada do tecido. É de grande valor em situações com volume ósseo alveolar insuficiente.

3.2.6 Técnica Cirúrgica

A mínima violência aos tecidos durante a cirurgia é essencial para a osseointegração. Este objetivo depende de um resfriamento contínuo e cuidadoso, enquanto a perfuração cirúrgica é realizada a baixa velocidade.

Se uma técnica cirúrgica muito violenta for usada, o calor da fricção causará um aumento de temperatura no osso e as células que devem ser responsáveis pelo reparo ósseo serão destruídas. No entanto, a relação crítica tempo / temperatura para a necrose do tecido ósseo é de cerca de 47° C aplicada durante 1 min.

3.2.7 Condições de carregamento

O principal fator de sucesso no momento da colocação é alcançar a estabilidade primária. Qualquer micro movimento durante as fases iniciais da cicatrização óssea causará uma falta de integração. A falha é mais frequentemente causada por sobrecarga devido a forças transmucosas do motor cirúrgico sobre o local do implante.

Qualquer tentativa de manter um paciente com restauração fixa provisória durante as fases de cicatrização do tratamento permitirá um gerenciamento mais fácil do paciente.

Se o carregamento imediato no momento da colocação final do implante definitivo for considerado, não só a estabilidade inicial deve ser extremamente apertada, mas também, o controle da oclusão na restauração provisória deve ser ajustado e monitorizado cuidadosamente durante o período de cicatrização inicial.

3.2.8 Inovações recentes na tecnologia de implantes dentários para melhorar a osseointegração

1. Uso de plano de tratamento radiográfico auxiliado por computador e fabricação de guia cirúrgico usando o design avançado ajudado por computador / software de fabricação assistido por computador.

2. Superfícies de implante com propriedades hidrófilas que promovem a osteocondução de crescimento ósseo.
3. Uso de fatores de crescimento humanos recombinantes na superfície do implante ou como parte da colocação.
4. Modificações da química da superfície para acelerar o crescimento ósseo (superfície de óxido de titânio modificada com flúor).

3.3 Avaliação de tratamento de Plasma a Pressão Atmosférica para a Osseointegração

As superfícies texturizadas de Ti foram obtidas através de granulação / corrosão Ti-6Al-4V de 3,5 mm de diâmetro por 8 mm de comprimento. Foram utilizados também implantes revestidos com fosfato de cálcio (CaP). O conjunto experimental de implantes foi tratado imediatamente antes da implantação com uma aplicação APP (Plasma a pressão atmosférica) de ar comprimido durante um total de 80 segundos (20 segundos por quadrante de implante). A caracterização física / química detalhada anterior dessas superfícies mostrou que os revestimentos de CaP apresentaram uma espessura de ~ 20 a 30 μm e apresentaram ~ 40% de conteúdo de HA cristalino. A avaliação da rugosidade da superfície também mostrou que a rugosidade da superfície da hidroxiapatita pulverizada pelo plasma era maior ($1.8 \pm 0.25 \mu\text{m}$) do que as superfícies com granito / ácido ($0.66 \pm 0.10 \mu\text{m}$) (DANNA, BEUTEL, *et al.*, 2015).

O plasma foi aplicado com um KinPen (INP™, Greifswald, Alemanha). O KinPen foi usado para a geração de um jato de plasma à pressão atmosférica conectado a uma fonte de alimentação de alta frequência. O fornecimento de ar foi conectado a um controlador de gás, que foi configurado para fluir a 5 litros padrão por minuto (l pm). A composição do ar comprimido era a mesma que a composição atmosférica regular com 16% de oxigênio, 1% de hidrogênio e 78% de nitrogênio.

A energia superficial foi avaliada utilizando o método Owens Wendt-Rabel-Kaelble. Utilizou-se uma micropipeta para depositar 0,5 ml de gotículas de água destilada (DI-H₂O), etileno glicol (C₂H₆O₂) e diiodometano (CH₂I₂) na superfície de um membro de cada implante. A caracterização química da superfície foi realizada por espectroscopia fotoelétrica de raios-X (XPS) em três pontos de superfície diferentes ao longo do comprimento do implante.

Para o estudo *in vivo*, utilizaram-se sete cães adultos machos com aproximadamente 1,5 anos de idade. Foram colocados quatro implantes (Ti não tratado, Ti tratado com APP, CaP não tratado e CaP tratado com APP) ao longo de cada osso rádio. Os implantes foram ajustados à pressão em furos de 3,5 mm feitos com uma broca de energia (1200 rpm para o orifício piloto, 800 rpm para bits sequencialmente maiores) sob irrigação salina contínua. Na cirurgia inicial, os implantes foram colocados apenas no membro esquerdo para serem analisados seis semanas pós-operatório. Três semanas depois, em um segundo procedimento os implantes foram colocados no membro direito para uma avaliação pós-operatória de três semanas.

A eutanásia foi realizada por sobre dosagem de anestesia seis semanas após o primeiro procedimento cirúrgico. Na necropsia, os raios com implantes foram recuperados por dissecação afiada. Os blocos ósseos foram mantidos em solução de formalina tamponada a 10% durante 24 horas, lavados em água corrente durante 24 horas e gradualmente desidratados em uma série de soluções de álcool variando de 70 a 100% de etanol. Após a desidratação, as amostras foram incorporadas em uma resina à base de metacrilato. Os blocos foram então cortados em fatias (~ 300 μm de espessura) centrando o implante ao longo de seu eixo longo com uma serra de diamante de precisão e colado em placas acrílicas com um cimento à base de acrilato, e após 24 horas foi permitido esmerilhamento e polimento. As seções foram então reduzidas para uma espessura final de ~ 30 μm por meio de uma série de papéis abrasivos de carboneto de silício sob irrigação com água. As seções foram então coradas com azul de toluidina e submetidas a microscopia óptica para avaliação histomorfológica.

As micrografias SEM das superfícies do implante revelaram uma superfície texturizada de areia jateada no implante de Ti e uma superfície texturizada de microestrutura no implante de CaP. A avaliação da energia superficial mostrou um aumento substancial de aproximadamente 15 mN/m no componente polar e um pequeno aumento (5 mN/m) do componente disperso do grupo de implante Ti imediatamente após o tratamento com plasma (figura 2). Ambos os componentes polares e dispersos do grupo de implante de CaP mostraram aumentos (9 mN/m e 5 mN/m, resp.) após a aplicação de plasma.

A análise da pesquisa XPS dos implantes tratados com controle e aplicação de ar mostrou picos de Ti e O para superfícies de Ti tratadas e não

tratadas. A avaliação do espectro de alta resolução demonstrou que, para ambas as superfícies, o carbono (C) foi observado principalmente como hidrocarboneto (C-C, C-H) com níveis mais baixos de formas C oxidadas. Para as superfícies de Ti não tratadas, o XPS detectou os valores percentuais atômicos (média \pm DP) de 45.0 ± 5.1 para C, 1.5 ± 0.5 para alumínio (Al), 0.1 ± 0.2 para nitrogênio (N), 14 ± 4.7 para Ti e 37.0 ± 3.6 para oxigênio (O). Vanadium (V) foi detectado em níveis de traço. Em comparação com o grupo de controle, as superfícies de Ti tratadas com APP apresentaram níveis reduzidos de C (38.0 ± 4.7) e níveis aumentados de Ti (19.0 ± 3.9) e O (43.0 ± 4.3). Valores semelhantes foram observados para Al, N e V nos grupos controle e experimental.

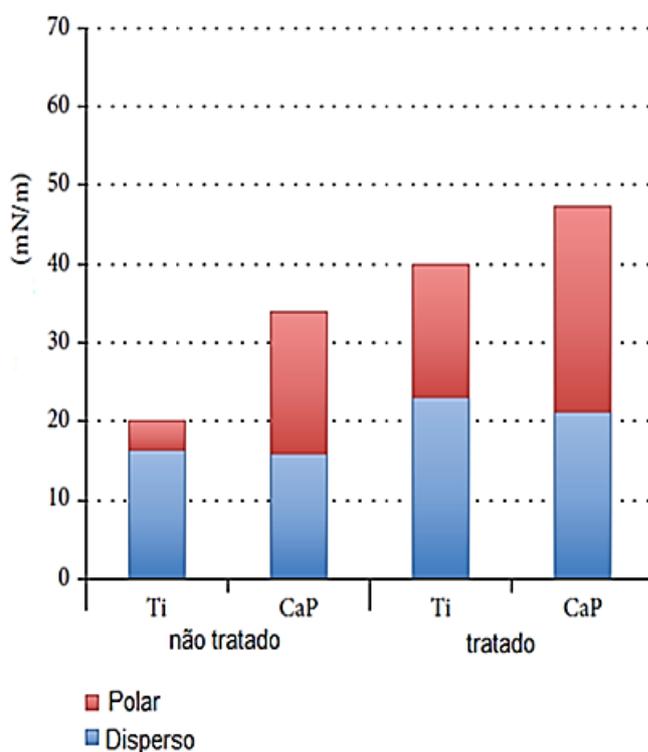


Figura 2: Gráfico de barras de energia de superfície para componentes polares e dispersos dos grupos de titânio (Ti) e fosfato de cálcio (CaP) antes (não tratado) e após o tratamento com plasma atmosférico (tratado). Fonte: (DANNA, BEUTEL, *et al.*, 2015)

Para as superfícies de CaP, a análise de XPS da superfície do implante mostrou picos de cálcio (Ca), carbono (C), oxigênio (O) e fósforo (P) para ambas as amostras a controle e a ar APP. A avaliação do espectro de alta resolução revelou que, para ambas as superfícies, C foi observado principalmente como hidrocarboneto com níveis mais baixos de formas C oxidadas. Para os grupos

tratados e não tratados, Ca e P foram detectados em concentrações atômicas variadas. Para o grupo CaP, os valores percentuais atômicos (média \pm DP) foram 38.0 ± 4.2 para C, 42.0 ± 5.2 para O, 11.0 ± 2.5 para Ca e 7.0 ± 1.3 para P. Quando comparado ao grupo CaP de controle, os implantes de CaP tratados com APP apresentaram aumentos em O (48.0 ± 3.1), Ca (12.0 ± 2.3) e P (10.0 ± 2.4) níveis de percentagem atômica. Uma diminuição no teor de C foi observada em 22.0 ± 4.5 por cento atômico (DANNA, BEUTEL, *et al.*, 2015).

Os procedimentos cirúrgicos e o acompanhamento dos animais não demonstraram complicações ou outras preocupações clínicas. Portanto, nenhum implante foi excluído por instabilidade clínica, clinicamente determinada após a eutanásia. O BIC (Contato osso-implante) resulta em função do tempo *in vivo* e a superfície do implante apresentou diferenças significativas (ambos $P < 0,001$) (Figura 3). Não houve diferença entre os grupos tratados e não tratados da superfície de CaP ou Ti em três semanas (Figura 4). Observou-se uma diferença significativa ($P < 0,001$) no BIC para o implante de Ti, mas não para o CaP um às seis semanas. As medições de BAFO (Fração de ocupação da área óssea) não mostraram diferença significativa ($P = 0,57$) entre os grupos tratados e não tratados. No entanto, houve uma diferença significativa no BAFO entre 3 e 6 semanas *in vivo* ($P < 0,001$) (Figura 3). Não foram observadas diferenças em BAFO entre quaisquer grupos em três ou seis semanas *in vivo* (Figura 5).

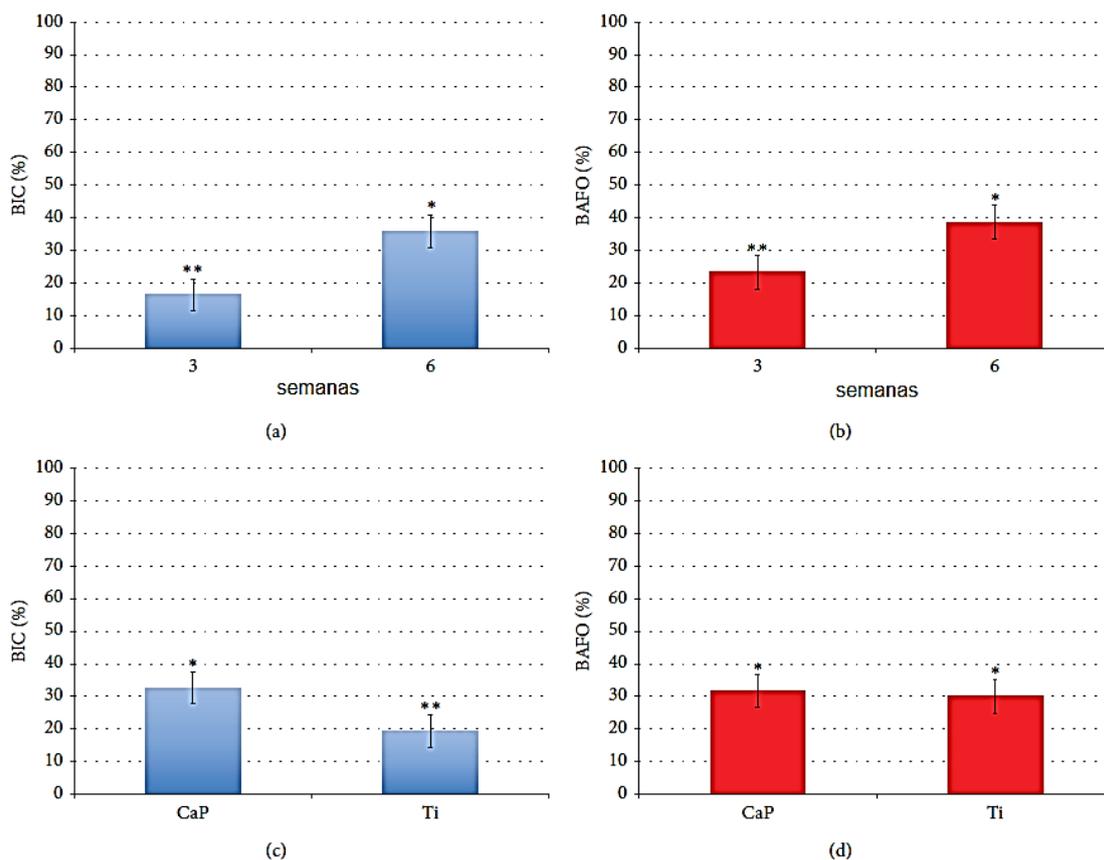


Figura 3: Características *in vivo* do osso e do implante em função de ((a) e (b)) tempo *in vivo* colapsado sobre o tipo de superfície e ((c) e (d)) tipo de superfície do implante colapsado ao longo do tempo *in vivo*. BIC: contato osso-implante; BAFO: fração de ocupação da área óssea; Ti: titânio; e CaP: fosfato de cálcio. Os asteriscos indicam grupos estatisticamente homogêneos (diferentes números de asteriscos representam que os grupos foram estatisticamente diferentes em $P < 0,05$) avaliados para $n = 7$ animais. Fonte: (DANNA, BEUTEL, *et al.*, 2015).

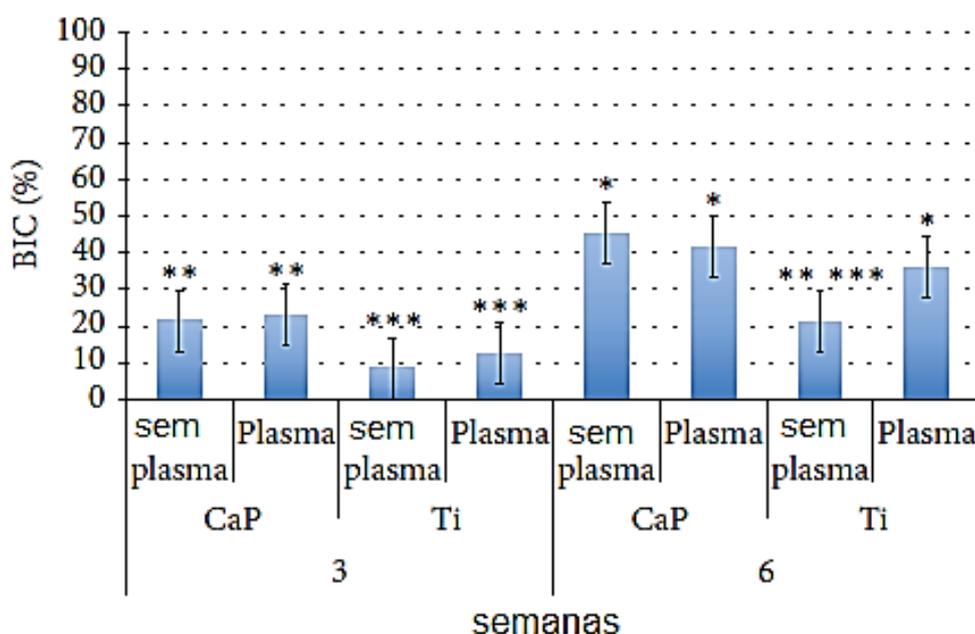


Figura 4: Osseointegração de implantes por contato de implante de osso (BIC). Os valores médios com barras de desvio padrão são fornecidos para os grupos de titânio (Ti) e fosfato de cálcio (CaP) não tratados (sem plasma) e plasma de plasma (plasma), nos respectivos períodos de tempo experimentais. Os asteriscos indicam grupos estatisticamente homogêneos (diferentes números de asteriscos representam que os grupos foram estatisticamente diferentes em $P < 0,05$) avaliados para $n = 7$ animais. Fonte: (DANNA, BEUTEL, *et al.*, 2015).

A avaliação qualitativa das secções histológicas coradas dos grupos não tratados após três semanas in vivo demonstrou o mínimo de tecido ósseo na proximidade da superfície do implante. Suas amostras tratadas com APP, no entanto, apresentaram uma formação óssea mais bem distribuída dentro do platô e um grau mais alto de formação óssea na proximidade da superfície do implante. Durante seis semanas, as superfícies não tratadas apresentaram graus mais baixos de formação óssea na proximidade da superfície do implante em relação às suas homólogas tratadas com APP. Essas diferenças foram mais pronunciadas entre as superfícies de Ti tratadas e não tratadas com APP. Um grande aumento geral na formação óssea ocorreu para todos os grupos de 3 a 6 semanas.

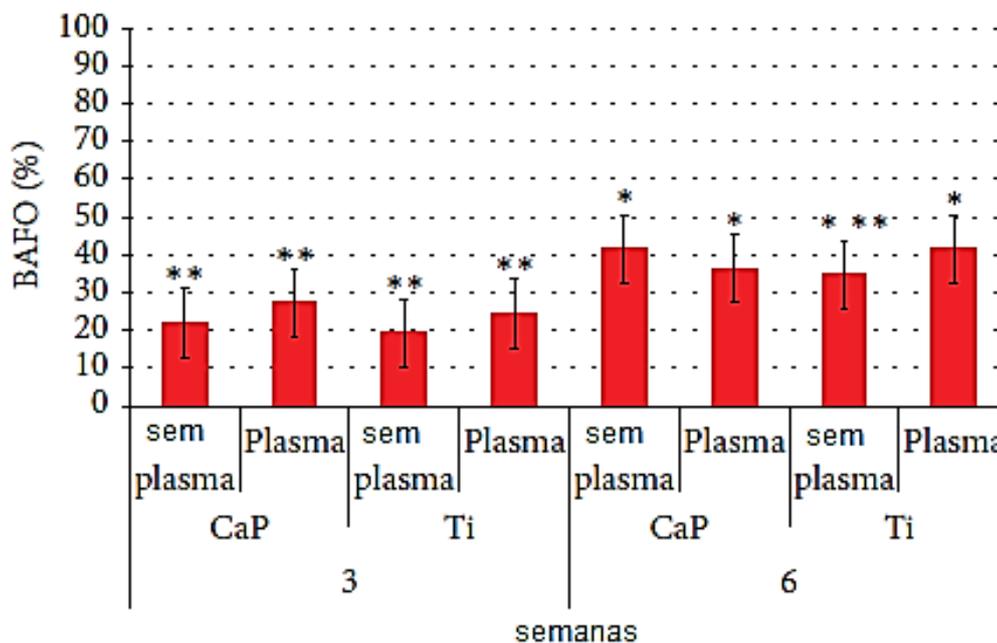


Figura 5: Osseointegração de implantes por ocupação de fração de área óssea (BAFO). Os valores médios com barras de desvio padrão são fornecidos para os grupos de titânio (Ti) e fosfato de cálcio (CaP) não tratados (sem plasma) e plasma de plasma (plasma), nos respectivos períodos de tempo experimentais. Os asteriscos indicam grupos estatisticamente homogêneos (diferentes números de asteriscos representam que os grupos foram estatisticamente diferentes em $P < 0,05$) avaliados para $n = 7$ animais. Fonte: (DANNA, BEUTEL, et al., 2015)

Estudos anteriores usaram o dispositivo KinPen fornecido com gás argônio e indicaram que o tratamento aumentou a osseointegração em momentos iniciais *in vivo*. Destes, alguns avaliaram as mesmas superfícies de Ti e CaP utilizadas no presente estudo e, enquanto um aumento de 300% na osseointegração foi obtido para superfícies de Ti tratadas com APP - argônio em relação ao controle de três semanas *in vivo*, um efeito de tamanho muito menor, de aproximadamente 80%, foi observado para as superfícies CaP tratadas com APP com base em argônio em relação às suas contrapartes não tratadas implantadas no mesmo tempo.

A presente avaliação investigou se a troca de argônio para ar comprimido na aplicação APP forneceu os mesmos benefícios osseointegrativos. Em relação aos estudos anteriores, os resultados físico-químicos e *in vivo* demonstraram que o tratamento de APP com ar comprimido aumentou a energia superficial e facilitou a osseointegração anterior em relação aos controles, mas esses aumentos não foram tão notáveis como os resultados obtidos com o gás argônio. A energia da superfície e os resultados XPS mostraram que a química da superfície elementar foi

modificada pelo tratamento de AP à base de ar e que esta alteração resultou em um maior grau de exposição dos elementos químicos de superfície, principalmente à custa da remoção de espécies de C adsorvidas imediatamente após o tratamento com plasma. Para ambas as superfícies Ti e CaP, os aumentos foram observados, mas não foram tão altos quanto o relatado anteriormente para o gás argônio. Uma limitação da investigação atual é que nenhuma avaliação da modificação da textura da superfície na escala micrométrica e nanométrica foram feitas após os diferentes regimes de APP serem realizados, garantindo uma avaliação adicional desse importante parâmetro superficial (DANNA, BEUTEL, *et al.*, 2015).

A avaliação histológica revelou que a interação entre o tecido e a superfície do implante ocorreu três semanas *in vivo* para ambos os grupos experimentais (CaP tratado com APP e Ti tratado com APP), enquanto os grupos CaP e Ti não tratados apresentaram graus mais baixos de formação óssea na superfície do implante até seis semanas *in vivo*. Em geral, a superfície do implante de CaP não se beneficiou do tratamento com APP, enquanto o contato aumentado de osso-implante às 6 semanas foi observado para a superfície de Ti tratada com APP. Comparando a avaliação atual com estudos prévios do tratamento com base de argônio, o plasma à base de ar comprimido não aumentou a energia da superfície ao mesmo grau que o argônio. Além disso, o carbono presente na superfície do implante não diminuiu na mesma medida que com o tratamento de argônio-APP. Assim, pode-se concluir que o tratamento de APP baseado no ar não é tão eficaz como o baseado em argônio.

3.4 O efeito da Sinvastatina na osseointegração

As estatinas são agentes terapêuticos de grande importância no tratamento da hipercolesterolemia, devido à redução dos altos níveis de colesterol no sangue. Competitivamente, as estatinas inibem a enzima 3-hidroxi-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) que catalisa a biossíntese do colesterol. A redução na concentração de colesterol hepático resulta no aumento da expressão de receptores de lipoproteínas de baixa intensidade ou LDL no fígado, reduzindo seus níveis e seus precursores da circulação sanguínea. Pesquisas recentes demonstraram que os efeitos das estatinas não estão limitados às suas propriedades de redução lipídica. As estatinas também estão envolvidas com atividades antioxidantes, anti-

inflamatória, anticoagulante, estabilização da placa aterosclerótica, inibição na rejeição de pacientes transplantados, ações antitumorais em animais de laboratório e efeitos anabólicos no tecido ósseo.

Estudos *in vitro* e *in vivo* revelaram que as estatinas reduzem a atividade osteoclástica e ativam a diferenciação osteoblástica, aumentando a formação óssea. Em particular, elas aumentam a expressão da proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2) e do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (SENDYK, DEBONI, *et al.*, 2016). Muitos estudos experimentais têm demonstrado relação entre o uso de sinvastatina e a osseointegração em modelos de baixa densidade óssea. Um exemplo é a região posterior da maxila, que representa um grande desafio aos clínicos quanto à estabilização de implantes osseointegrados. Esta região apresenta uma delgada camada cortical e baixa densidade óssea medular, prioritariamente composta de osso tipo IV, além da presença do seio maxilar que, com frequência, restringe o volume ósseo disponível no rebordo ósseo. Em muitos casos, técnicas reconstrutivas e de enxertia são necessárias.

Foram incluídos estudos transversais em animais nos quais houvesse grupo-controle e grupo-teste (sinvastatina). A análise qualitativa dos estudos foi realizada por meio da verificação de riscos de viés e análise quantitativa quanto aos resultados obtidos nos desfechos primários, como aumento da área de contato osso/implante (BIC) e remoção do implante por torque. Os resultados podem ser observados na Tabela 1.

A utilização de sinvastatina, local ou sistêmica, parece ser uma estratégia que pode melhorar o processo de osseointegração. Com o aumento das aplicações de implantes dentais com carga precoce ou imediata, e da instalação de fixações em osso de baixa qualidade, há uma necessidade real de acelerar e aprimorar o processo de osseointegração e de regeneração óssea periimplantar, especialmente em regiões com baixa densidade óssea, que apresentam índices mais elevados de falhas de implantes.

Tabela 1 - Resultados

Autor	Tipo de estudo	N	Forma de aplicação	Follow-up	Desfechos principais
Ayukawa et al	<i>In vivo</i>	10 ratas	Injeções de sinvastatina	30 dias	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Du et al	<i>In vivo</i>	54 ratas ovariectomizadas	Sinvastatina via oral	4 e 12 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Ayukawa et al	<i>In vivo</i>	60 ratas	Injeções de sinvastatina	30 dias	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Yin et al	<i>In vivo</i>	15 cães	Injeções subcutâneas de sinvastatina	12 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar, das áreas de contato osso/implante (BIC) e da força de remoção por torque
Yang et al	<i>In vivo</i>	48 ratas	Implantes revestidos com sinvastatina	1, 2, 4 e 12 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Faraco-Schwed et al	<i>In vivo</i>	16 cães	Gel de sinvastatina	4 e 8 semanas	Aumento da força de remoção por torque
Mansour et al	<i>In vivo</i>	10 cães	Grânulos contendo sinvastatina	1 e 3 meses	Aumento da angiogênese, osteogênese e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Nyan et al	<i>In vivo</i>	16 ratas	Implantes revestidos com sinvastatina	2 e 4 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Zhao et al	<i>In vivo</i>	16 ratas	Implantes revestidos com sinvastatina	4 e 12 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Fang et al	<i>In vivo</i>	36 ratas ovariectomizadas	Implantes revestidos com sinvastatina	2, 4 e 12 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar e das áreas de contato osso/implante (BIC)
Tan et al	<i>In vivo</i>	50 ratas ovariectomizadas	Sinvastatina via oral	12 semanas	Aumento do volume ósseo peri-implantar, das áreas de contato osso/implante (BIC) e da força de remoção por torque

Fonte: (SENDYK, DEBONI, *et al.*, 2016)

Inicialmente, associada à redução lipídica na circulação sanguínea em pacientes com hipercolesterolemia, revelou-se capaz de aumentar a expressão da

BMP-2, promover neoformação óssea e reduzir a atividade osteoclástica⁶⁻¹⁰. Além das propriedades osteogênicas, a sinvastatina também promove o aumento da expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), revelando uma natureza angiogênica essencial para a remodelação e o crescimento ósseo. Os testes *in vitro*, mesmo considerando suas limitações, sugerem resultados promissores, fornecendo as bases para estudos experimentais em animais, que indicaram a plausibilidade biológica do fármaco em um modelo de osseointegração.

Nesse sentido, os testes *in vivo* abordaram, em um primeiro momento, uma metodologia de administração sistêmica da sinvastatina, mimetizando a realidade clínica dos pacientes hipercolesterolêmicos. Apesar de indicarem resultados positivos, aumentando a área de contato osso/implante, as injeções de estatinas podem causar reações adversas, como a exacerbação do processo inflamatório local. Ademais, a sinvastatina apresenta uma rápida metabolização no fígado, requerendo uma concentração muito maior para expressar uma função osteogênica. A aplicação local desvelou-se uma alternativa mais viável, especialmente quando associada a um veículo que diminua o seu metabolismo hepático. Portanto, a sinvastatina sistêmica ou local, em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, promove a melhora do processo de osseointegração (SENDYK, DEBONI, *et al.*, 2016).

3.5 Osseointegração e os avanços nas superfícies.

-Adsorção de proteínas.

Em um primeiro momento após a colocação do implante dentário, este será embebido pelo coágulo e as proteínas presentes serão posteriormente absorvidas. O grau de molhamento da superfície do implante desempenha um papel relevante na adsorção de proteínas sanguíneas, uma vez que foi comprovado que tanto a hidrofilia excessiva como a hidrofobia impedem a adsorção de proteínas. Posteriormente, os neutrófilos e os macrófagos “examinam” o implante e, de acordo com a formação, orientação e tipo de proteínas absorvidas, os macrófagos interagem com a superfície do implante e segregam um determinado tipo e número de citocinas (mensageiros moleculares biológicos) que podem reunir as células osteoblásticas responsáveis pela formação óssea em contato direto com o implante

de superfície ou as células fibroblástica que encapsula biomateriais nos tecidos conectivos fibrosos e resulta na falha na osseointegração. (ALBERTINI, FERNANDEZ-YAGUE, et al., 2015).

A adsorção de proteínas ocorre praticamente instantaneamente, inibindo assim o contato direto do biomaterial celular. Na verdade, depois de expor a superfície ao contato com sangue, o tempo de adsorção é de cerca de 5 segundos. A superfície do implante de uma única camada de proteínas absorvidas constitui o fator chave da resposta celular. Particularmente, os osteoblastos exigem interações específicas para aderir, proliferar e diferenciar, e essas interações são definidas pelo número e tipo de proteínas adsorvidas na superfície do implante. A natureza química e topográfica da superfície do implante determinará a adsorção e a conformação das proteínas na (sua) superfície.

- Tipos de proteínas

Para os osteoblastos serem capazes de iniciar a formação óssea em torno do implante, eles devem aderir-se previamente à superfície do implante. Estudos *in vitro* observaram que a adesão dessas células depende de algumas proteínas específicas absorvidas nas superfícies do implante, como fibronectina, osteopontina e vitronectina. A última proteína, provada em estudos *in vitro* e *in vivo*, como aquela que geralmente predomina nos processos de adesão celular, seguida pela fibronectina (Tabela 2). No entanto, a última geralmente adquire mais e mais relevância uma vez que as células iniciam seu processo de diferenciação.

As superfícies de implantes desempenham um papel determinante nos primeiros estágios de adesão celular, pois, são suas características topográficas e físico-químicas que são capazes de inibir a adsorção das proteínas que facilitam a migração das células indesejadas que provocam a fibrointegração do implante. TGF- α é um exemplo disso, uma vez que é uma proteína que favorece a adesão da linha celular fibroblástica. Por exemplo, os fibroblastos podem desencadear a migração para o implante de células indesejadas. Pegueroles et al. (2012) provou em um estudo *in vitro* que o tratamento superficial de implantes dentários de titânio com um tamanho específico (A6) de alumina de areia melhora a adsorção de fibronectina em relação às superfícies lisas de titânio.

Tabela 2 - Proteínas e suas funções.

Fibronectina	ligação de células, integrinas, heparina e colágeno
Vitronectina	proteína de ligação celular que liga colágeno, plasminogênio e heparina
Albumina	transporte de proteínas e inibição do crescimento de cristais de hidroxiapatita
Fosfatase alcalina	hidrolisação dos inibidores da deposição mineral (transportador Ca ₂₊)
Osteonectina	mediação da deposição de hidroxiapatita
Osteocalcina	regulação da atividade dos osteoclastos

Fonte: (SENDYK, DEBONI, *et al.*, 2016)

-Formação de coágulos sanguíneos

Alguns minutos após a inserção do implante, um coágulo sanguíneo se forma entre a superfície do implante e as paredes ósseas. Isso contém principalmente glóbulos vermelhos, plaquetas e macrófagos juntamente com fibrina. Durante os primeiros dias, uma série de citocinas ou fatores de crescimento (PDGF, TNF α , TGF α , TGF β , FGF, EGF) são liberados para estimular a cicatrização da ferida cirúrgica. Dois a três dias após a colocação do implante, os leucócitos e os macrófagos completam tarefas de "limpeza" através do processo de fagocitose e o coágulo sanguíneo é simultaneamente desconstruído através da fibrinólise para deixar espaço para novos vasos sanguíneos.

-Formação de tecido de granulação

Quatro dias após a colocação, o crescimento dos vasos sanguíneos produz um tecido de granulação que ocupa o espaço entre o implante e o osso. Este tecido é caracterizado pela presença de células mesenquimais não diferenciadas em torno de estruturas de vasos com fibrina. A preparação do leito cirúrgico - devido ao próprio trauma tecidual, que libera citocinas específicas, como BMP2 e BMP4 - induz a diferenciação de células mesenquimais não diferenciadas na medula óssea e peri-vasculares em primeiro lugar nos pré-osteoblastos e posteriormente nos osteoblastos maduros .

- Formação de matriz provisória

As células osteoblásticas se movem fisicamente no espaço entre o osso e o implante, e sua migração é guiada pela fibrina. Em superfícies ósseo-indutoras como aquelas obtidas por ataque ácido, as células aderem-se às proteínas absorvidas na superfície do implante e começam a formar uma matriz óssea provisória. Se a fibrina é removida da superfície do implante durante a migração, os osteoblastos não o alcançarão diretamente e, portanto, não haverá formação óssea a partir da superfície do implante. No entanto, a adesão de fibrina ao implante depende do tipo de superfície do implante. Sobre os de titânio liso ou mecanizado, a fibrina é removida durante a migração osteoblástica, enquanto em superfícies ásperas a força de adesão da fibrina é maior e as células podem migrar para alcançar a superfície do implante.

Assim, podem distinguir-se dois tipos principais de osseointegração: osteogênese de contato como descrito por Osborn et al. (1980), Em que o contato progressivo entre o osso recém-formado da periferia para o implante; e a neoformação óssea descrita por Davies et al. (1996), onde os osteoblastos que podem migrar para a superfície do implante através da fibrina, formam o novo osso ao redor do implante.

-Formação óssea

A neoformação óssea começa nos estágios de cicatrização precoce e, após 7 dias, começa a se formar uma matriz provisória rica em fibras de colágeno, estruturas vasculares, osteoblastos e alguma área óssea recém-formada (aposição óssea). Alguns fatores de crescimento, como BMP 2 e 4, participam estimulando a migração posterior de células mesenquimais não diferenciadas e diferenciando-se em osteoblastos (BMP 7). Após 14 dias, o espaço implante-osso é ocupado por osso recém-formado ou tecido, que é rico em fibras de colágeno, estruturas vasculares e osteoblastos, que formam uma estrutura reticular. Nesta fase, os osteoblastos produzem o osso da interface e podem ser encontrados, paralelamente à superfície, nas superfícies ósseas condutivas em contato com o implante. A neoformação do osso na superfície do implante em estágios iniciais parece mais característica das superfícies rugosas que do titânio mecanizado. No centro do tecido ósseo recém-

formado, alguns osteócitos podem ser observados enquanto os osteoclastos aparecem na superfície óssea, indicando a reabsorção óssea necrótica.

Durante o processo de aposição, a estrutura óssea se transforma progressivamente de reticular para lamelar. O osso reticular é frágil e pobre em cristais de fosfato de cálcio e transforma-se primeiro em tecido ósseo rico em fibras paralelas e depois em osso lamelar, tecido mineralizado capaz de suportar cargas mecânicas. A duração desse processo de aposição óssea pode variar de acordo com o tipo de superfície do implante, sendo cerca de 4 semanas em superfícies rugosas e com ataque ácido.

-Remodelagem

Uma vez formado, o osso peri-implantário sofre um processo de remodelação em que o osso de fibra paralelo é principalmente substituído pela arquitetura do osso lamelar e a arquitetura óssea se adapta progressivamente à sua carga funcional. Nesta fase, osteoblastos e osteoclastos funcionam de forma sinérgica, apontando e reabsorvendo o osso de acordo com as necessidades funcionais.

A interface osso-implante está em contínua remodelação e o contato próximo entre os ossos peri-implantários e o implante é essencial para mantê-lo funcionando no longo prazo.

3.5.1 Osseointegração em superfícies bioinertes e ósseas condutoras

O implante em forma de parafuso desenvolvido por Adell et al. foi um pioneiro em implantodontia e seu uso provou bons resultados clínicos de longo prazo. Este implante de titânio é caracterizado pela sua superfície lisa ou minimamente áspera ($Sa < 0,5 \mu m$), resultante da perfuração, que lhe proporciona uma irregularidade característica que se repete mostrando uma orientação clara em todo o implante (superfície anisotrópica).

Este tipo de superfície foi melhorado ao longo dos anos com a criação de maior rugosidade para facilitar a adesão celular e assim acelerar a osseointegração do implante. Enquanto as primeiras superfícies rugosas foram obtidas através de processos de partículas aditivas tais como as obtidas por pulverização de plasma de titânio, as superfícies rugosas mais modernas são obtidas por métodos de

subtração. Entre os mais amplamente utilizados para obter superfícies rugosas, destacam-se o jateamento de óxido de alumínio, o ataque ácido, a oxidação superficial e as combinações dos métodos acima mencionados.

Estes diferentes procedimentos podem produzir principalmente três tipos de superfícies de implante: superfícies rugosas microestruturadas ($Sa = 0,5-1 \mu m$), superfícies moderadamente ásperas ($Sa = 1-2 \mu m$) e superfícies altamente rugosas ($Sa > 2 \mu m$). Os resultados na literatura confirmam a maior eficácia das superfícies ásperas em relação ao titânio mecanizado, uma vez que uma proporção maior de superfície óssea entra em contato com o implante e eles levam a uma osseointegração melhorada e mais rápida.

No entanto, Davies et al. (1996) afirmam que uma osseointegração mais favorável é devido à maior força de adesão do coque de fibrina em superfícies rugosas versus lisas. A fibrina permite a migração osteoblástica em direção à superfície do implante antes que essas células comecem a produzir cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatita). Se a capacidade de adesão de fibrina à superfície do implante exceder o limiar, deve ser suficiente para permitir que os osteoblastos migrem através do andaime e entrem em contato com a superfície do implante.

Em superfícies de titânio mecanizadas, não ocorre uma ligação suficientemente estável entre ela e a fibrina de modo a suportar o "peso" dos osteoblastos durante a sua migração, produzindo assim a separação entre o implante e o andaime de fibrina. Nesta situação, os osteoblastos não atingem a superfície do implante e os novos núcleos de formação óssea serão colocados mais perto do implante e longe da superfície do implante. Pelo contrário, o andaime de fibrina em superfícies rugosas não se liberta do implante durante a migração osteoblástica devido à sua ligação superficial mais apertada, permitindo assim que os osteoblastos cheguem à superfície e iniciem o processo de aposição óssea.

Assim, a diferença pode ser feita entre as superfícies bioinertes de titânio mecanizadas em que ocorre "osseointegração de contato", aposição progressiva do osso da periferia do leito à superfície do implante; e, por outro lado, superfícies ósseo-indutoras, onde a "neoformação do osso" pode ser observada - isto é, aposição óssea contemporânea da superfície do implante e do leito.

3.6 Osseointegração e reação a corpo estranho

Segundo TRINDADE, ALBREKTSSON, et al. (2018) a relação entre o hospedeiro e o biomaterial está no centro de todas as reações que ocorrem em torno de implantes, uma vez que teoricamente a presença de um material estranho estimula uma maior resposta imunológica, através do complemento e ativação de macrófagos, estes supostamente controlando inflamação, cura e resposta em longo prazo a diferentes estímulos e mudanças ambientais. Assim, diferentes respostas imunológicas do hospedeiro e padrões inflamatórios, potencialmente determinam diferentes resultados em uma reação a entidades estranhas usadas para fins biomédicos, como implantes orais.

O experimento concentrou-se na comparação da cicatrização óssea com e sem a presença de um implante de titânio em fêmur de coelhos. De um lado, realizou-se um procedimento falso (Sh) (ocorreu uma osteotomia equivalente à colocação do implante, mas nenhum implante foi introduzido no osso) e, do outro lado, foi colocado um implante de titânio grau IV (Ti) transformado, com desenho rosqueado Branemark MkIII. Este estudo foi realizado em 15 coelhos brancos femininos da Nova Zelândia.

Uma única incisão foi realizada em cada lado da área interna do joelho e o osso foi exposto para osteotomias e inserções de implantes nos locais mencionados. As osteotomias foram produzidas com uma sequência de brocas de torção de diâmetro crescente, de 2 a 3,15 mm de largura, e uma fresa de corte também preparou a parte cortical do osso. Os implantes utilizados foram de 3,75 mm de diâmetro. Aos 10^o e 28^o dias, os coelhos foram sacrificados com uma injeção letal de pentobarbital de sódio. Dos 15 coelhos utilizados para este estudo, seis foram sacrificados ao 10^o dia (para estudos de histologia e genética) e nove foram sacrificados ao 28^o dia (para estudos de histologia e genética).

Aos 10 dias, seis animais tiveram os implantes removidos através do desrosqueio e os ossos de três desses foram coletados com uma broca de torção de 2 mm da periferia dos locais Sh (falso) e Ti (implante) na porção mais distal. Foram processados para Análise de Expressão Genética através de reação em cadeia de polimerizase-quantitativa (qPCR), enquanto o restante das amostras dos seis indivíduos teve os locais Sh e Ti removidos em bloco, para histologia óssea

descalcificada. Aos 28 dias, de três animais que foram sacrificados, os implantes de Ti foram removidos e o osso foi coletado da periferia dos locais de Ti e Sh para qPCR, como descrito acima, enquanto os outros seis animais, os implantes foram removidos e os locais Sh e Ti removidos em bloco e processados para histologia descalcificada.

3.6.1 Análise de expressão de genes - qPCR

As amostras ósseas para análise de expressão genética foram coletadas da extremidade distal das osteotomias de ambos os grupos (após a remoção do implante nos locais de implante), com uma broca de torção de 2 mm que removeu o osso cortical e medular em toda a profundidade da osteotomia, para permitir o estudo da área óssea do peri-implante de 2 mm de cada local Sh e Ti. Juntamente com o Ti (implantes de titânio recuperados), as amostras foram imediatamente transferidas para recipientes de plástico estéreis separados contendo RNA^{later} médio™ (AmbionInc, Austin, Texas), para preservação. As amostras foram então refrigeradas a 4 ° C e depois armazenadas a - 20 ° C até o processamento (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

3.6.2 Histologia descalcificada

Após a remoção de implantes dos locais de Ti, o osso dos locais Sh e Ti foi removido em bloco e preservado em 10% de formalina (4% de formaldeído tamponado, VWR Internacional, Leuven, Bélgica) durante 48 horas para a fixação. As amostras foram então descalcificadas suavemente em ácido etileno diamina tetra acético (10% de EDTA sem tampão, Milestone srl, BG, Itália) durante 4 semanas, com substituição semanal da solução de EDTA. Após a descalcificação, as amostras foram desidratadas e incorporadas em parafina. As amostras foram seccionadas (4 mm de espessura) com um micrótomo e coradas com hematoxilina-eosina (HE) para análise histológica.

3.6.3 Histologia microscópica

As seções histológicas foram analisadas usando microscopia de luz (microscópio Eclipse 80i™, Nikon Corporation, Japão) e foram digitalizadas (scanner

de histologia Nano Zoomer™, Hamamatsu Photonics K. K., Japão) utilizando o objetivo de 340 (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

3.6.4 Resultado da análise de expressão de genes

A análise de expressão de genes para genes alvo foi realizada através de qPCR. Os resultados mostram que, aos 10 dias, a principal diferença entre o falso (Sh) e titânio (Ti) é um aumento estatisticamente significativo no ARG-1 (arginase-1) em torno de Ti, o que indica uma maior ativação de macrófagos tipo 2 (M2-macrófagos) ou outras células linfóides inatas do grupo 2 (ILC2) com um fenótipo reparativo - sugerindo uma ativação imune na presença de Ti já aos 10 dias. IL-13 é então significativamente reduzido. Não há muitas diferenças, de outra forma, mas uma tendência para uma atividade de reabsorção óssea mais baixa em relação ao Ti quando comparada aos locais de Sh, bem como a baixa regulação de C3 e IL-4 (o último indicando uma atividade de fusão de macrófagos mais baixa, se visto em conjunto com IL-13 perfil, neste momento). Há também uma regulação ascendente de fatores associados às células T (CD4) e Neutrófilos (NCF-1), mas não atingindo níveis significativos.

Aos 28 dias, após o período inflamatório, as diferenças se tornam mais óbvias, com os locais de Ti mostrando uma elevação significativa da CD11b (M1-macrófagos, outros leucócitos), ARG-1 (M2-macrófago, ILC2), NCF1 (Neutrófilos) e C5aR1 (complemento, muitas células inflamatórias e imunes) - todos os componentes do sistema imune inato. Além disso, há uma significativa redução de regulação dos seguintes marcadores de reabsorção óssea: ligante do receptor ativador do fator nuclear kapa B (RANKL), osteoprotegerina (OPG), fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) e catepsina K (CathK). Além disso, embora não significativo, há uma tendência contínua para ajustar para baixo o C3, enquanto a CD14 (associado ao fenótipo de célula dendrítica [DC]) parece ser também suprimida (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

3.6.5 Resultado da histologia

Nos locais Sh, o isolamento do local da osteotomia é observado aos 10 dias, com formação óssea inicial na periferia da área da osteotomia (Figura 6). Essa área de vedação óssea progride para a localização cortical original, que é vista aos

28 dias, reestabilizado a proteção original do córtex ao valioso conteúdo celular da medula óssea (Figura 8).

Comparativamente, os locais de Ti mostram uma formação óssea inicial em 10 dias ao longo do local Ti (Figura 7), mas após 28 dias continua em torno da mesma área do implante (Figuras 9 e 10), com remodelação ativa e formação óssea mais organizada visivelmente ao redor da área do implante, isto é, na parte cortical e na parte da medula, com vários graus de calcificação - dependendo de quão perto a área do implante está de uma fonte de osso calcificado maduro.

A diferença entre o perfil de expressão gênica dos sítios Sh e Ti mostra claramente que, após o período inflamatório (28 dias), o titânio desencadeia uma ativação imune pronunciada, aparentemente focada no sistema imune inato, como sugerido anteriormente. Partes importantes do sistema imune inato estão envolvidas e reguladas positivamente: complemento, macrófagos ou outros ILC2s e neutrófilos (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

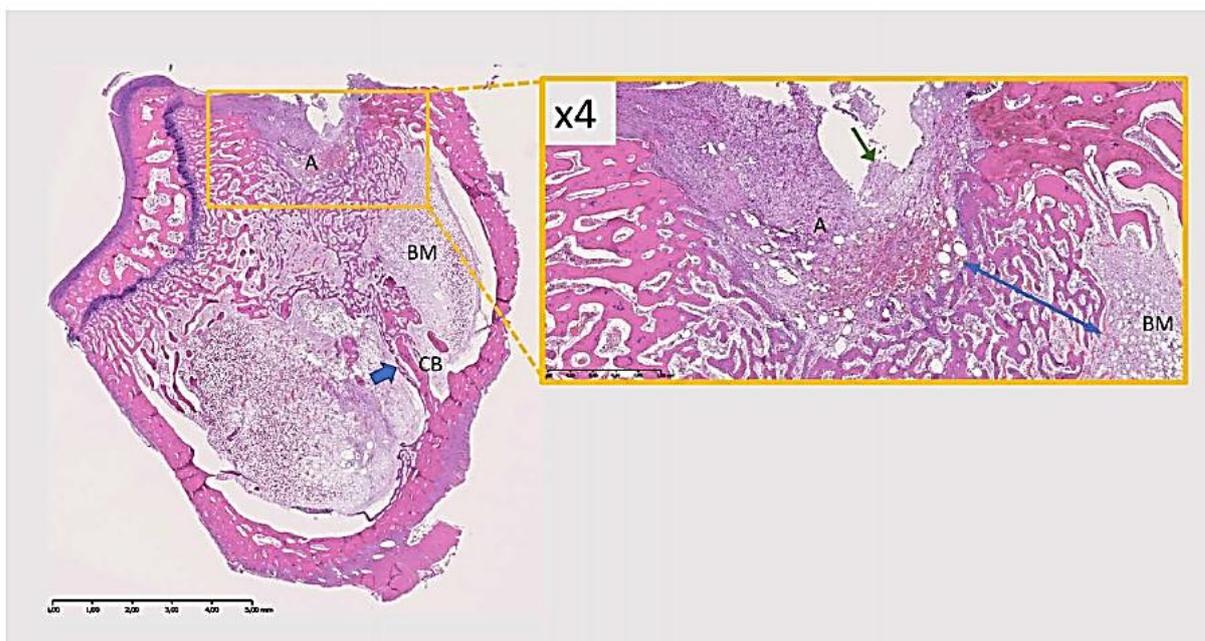


Figura 6: 10 dias, local Sham. Área do sítio de osteotomia (A) separada da medula óssea (BM) por camada espessa de osso recém-formado (seta azul de dupla extremidade), criando uma área de selamento para o BM; Fibra verde - coágulo de fibrina que preenche o local da osteotomia. Osso cortical (CB) aparentemente se separando e progredindo em direção ao local da osteotomia (seta azul completa). Ampliação x4. Barra de escala 5 mm (esquerda) e 1 mm (direita). Fonte: (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018)

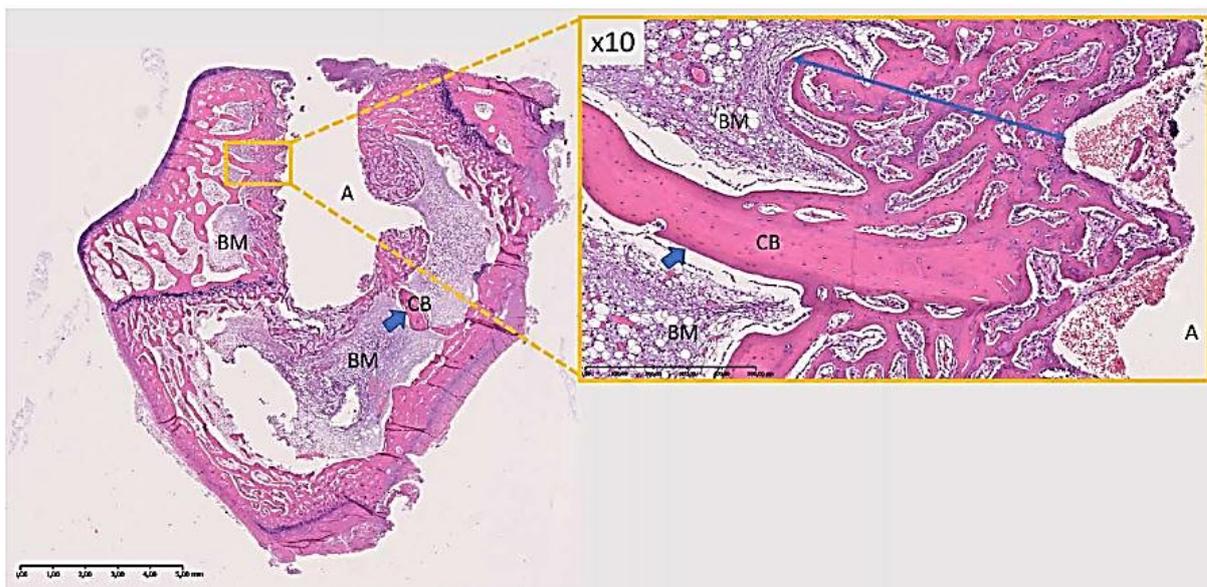


Figura 7: 10 dias, local implante de titânio. Medula óssea (BM) separada da área do implante (A) por camada espessa de osso recém-formado (seta azul de dupla extremidade). O osso cortical / maduro (CB - setas azuis cheias) parecem se separar do córtex em direção à área óssea recém-formada em torno do implante, tanto na porção apical quanto na média do implante. Ampliação x10. Barra de escala 5 mm (esquerda) e 500 μ m (direita). Fonte: (TRINDADE, ALBREKTSSON, et al., 2018)

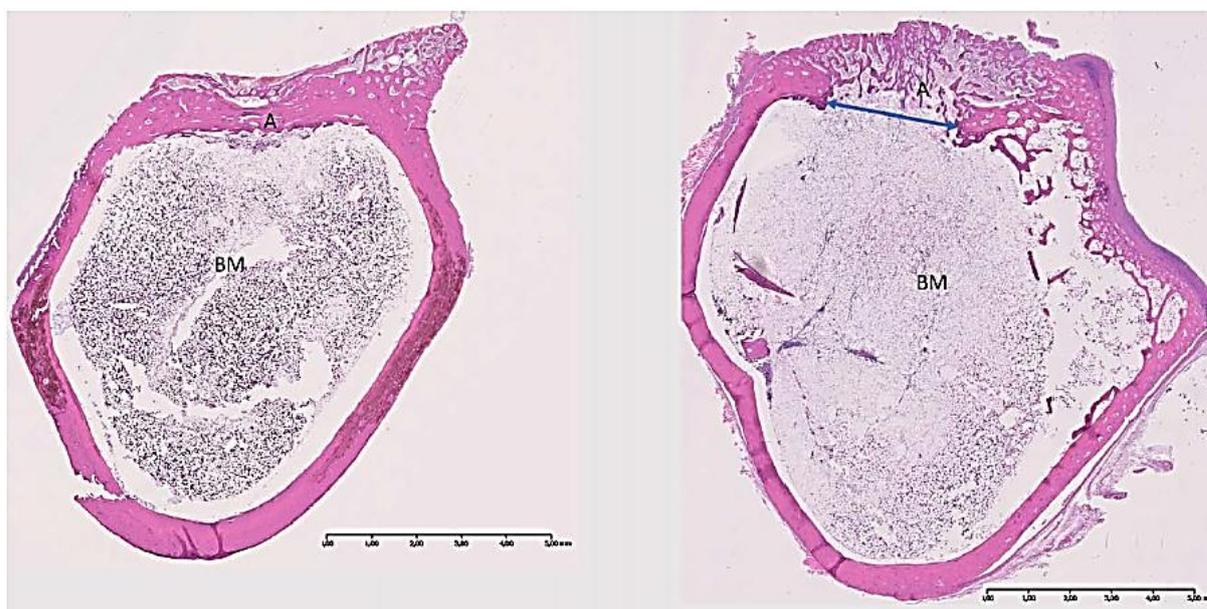


Figura 8: Dois exemplos de 28 dias, local Sh curado. (A), antigo local de osteotomia, agora curado na área original do córtex - imagem à esquerda, quase não é possível distinguir a osteotomia original, com o osso bastante organizado intercalando com novas áreas de formação óssea; imagem à direita, o local original da osteotomia ainda é visível (seta azul de extremidade dupla) e uma formação óssea tipo calosa se desenvolveu, com osso menos organizado ainda em remodelação. BM, medula óssea; agora selada do ambiente exterior - praticamente nenhuma trabécula cortical ou espiral encontradas na área BM. Barra de escala 5 mm. Fonte: (TRINDADE, ALBREKTSSON, et al., 2018)

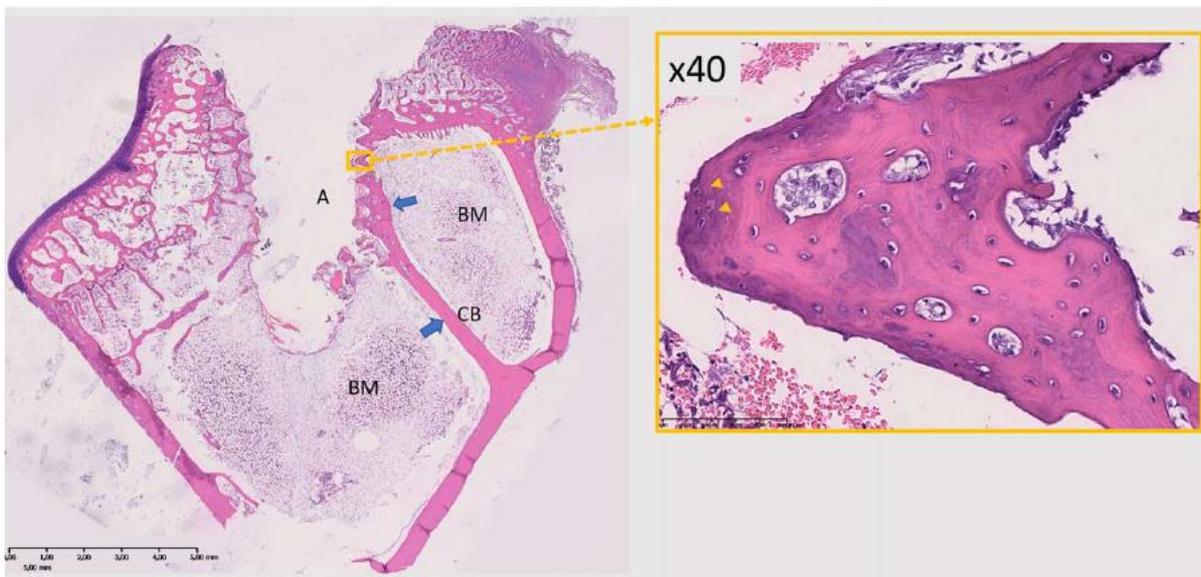


Figura 9: 28 dias do local Ti. Observe o osso mais organizado na área de rosca na ampliação x40, enquanto ainda está sofrendo uma leve remodelação, algumas áreas mais jovens dos ossos, com osteoblastos recentemente aprisionados (ponta de flecha amarela). Aos 28 dias, um osso mais maduro circunda a área de osteotomia de Ti (A), separando-a da medula óssea (BM). Uma trabécula de osso cortical (CB) constrói uma ponte do córtex original com a porção média do osso em formação ao redor do implante (flechas azuis cheias) - uma formação óssea mais rápida é vista nesta área, como na área contígua ao córtex da entrada de osteotomia (área ampliada). Barra de escala 5 mm (esquerda) e 100 μ m (direita). Fonte: (TRINDADE, ALBREKTSSON, et al., 2018)

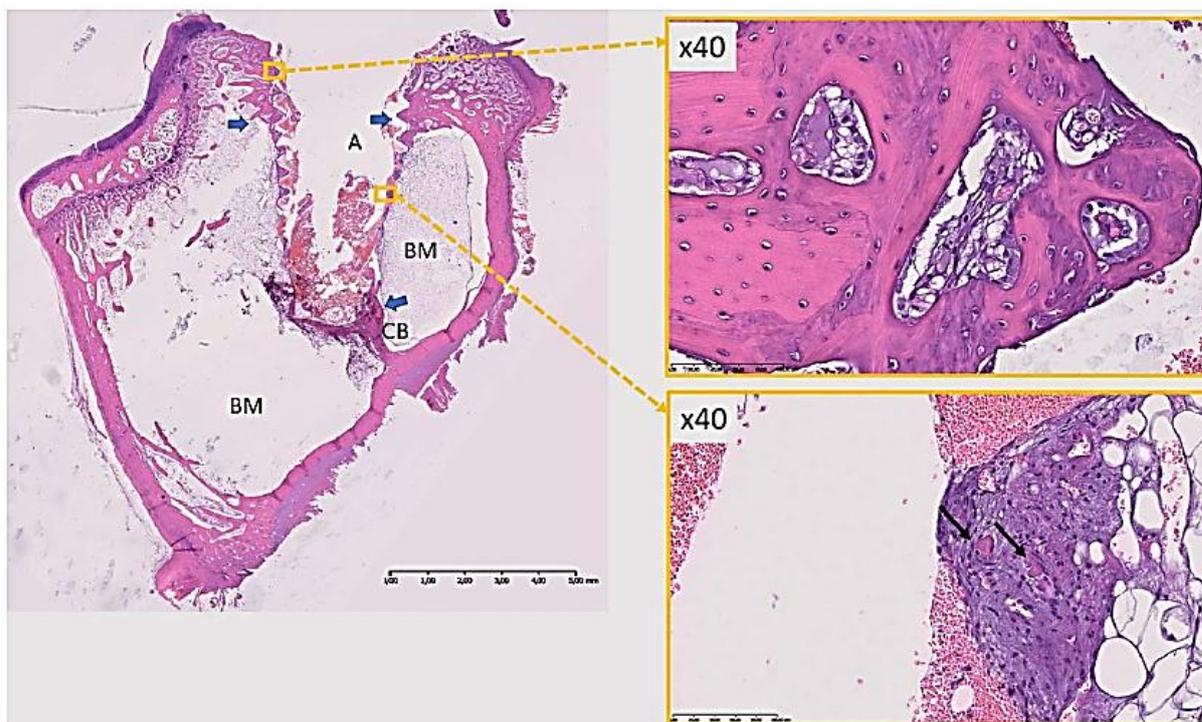


Figura 10: 28 dias, local Ti. (A), área do implante. (BM), medula óssea. (CB), osso cortical, não derivado do córtex de osteotomia. As áreas de formação de osso em torno do implante mais perto do osso cortical apresentam uma calcificação mais avançada (setas azuis cheias e figura superior direita) do que áreas mais próximas do osso cortical onde apenas algumas ilhas de osso calcificadas são visíveis (figura inferior direita, setas pretas). Fonte: (TRINDADE, ALBREKTSSON, et al., 2018)

A presença de neutrófilos foi uma surpresa, além do período inflamatório. Os neutrófilos são uma marca da inflamação aguda e as primeiras células a serem recrutadas para locais de trauma (Sham e Implante). No entanto, em torno do Titânio, parece que há uma presença prolongada de neutrófilos (expressa por uma regulação positiva de NCF-1 adjacente às amostras de Ti), o que pode ser explicado pelo importante papel dos macrófagos na relação entre o hospedeiro e os implantes de titânio: Sabe-se que os macrófagos suprimem a apoptose de neutrófilos quando esta se ajusta à resposta imunológica, portanto, a participação em um perfil inflamatório mais crônico por neutrófilos é mais provavelmente baseada em um controle macrofágico dos eventos. Essa maior presença de neutrófilos também pode estar relacionada à formação do tecido ativo (osso) ao redor do implante e à necessidade de maior vascularização para suprir esse esforço, uma vez que os neutrófilos demonstraram participar e promover a vascularização na hipóxia tecidual transplantada e invasão tumoral. NCF-1, uma unidade citosólica funcional da NADPH oxidase, também foi encontrada em monócitos, embora seja mais comumente relacionada a neutrófilos. O NCF-1 é mais conhecido por ser importante no desenvolvimento de artrite em experimentos de autoimunidade, neste caso, um dos polimorfismos NCF-1 é responsável pelo desenvolvimento de artrite, o que indica uma susceptibilidade individual no desenvolvimento de artrite reumatóide e talvez outras doenças, destacando a importância de novos estudos para compreender o comportamento do grupo de pacientes na perda de implantes, mencionado nas notas introdutórias do presente manuscrito.

Considera-se que os eventos do biomaterial hospedeiro são grandemente controlados pelos macrófagos. O extremo CD11b regulado para cima após 28 dias demonstra como os macrófagos e outras células inflamatórias e imunes estão altamente envolvidas na reação aos implantes de titânio. Além disso, este marcador foi recentemente implicado na fusão de macrófagos, que em um ambiente onde a reabsorção óssea foi suprimida (marcadores de reabsorção óssea significativamente regulada negativamente) significa que a fusão de macrófagos não é provável para a formação de osteoclastos, mas sim em células gigantes do corpo estranho (FBGC), que são uma característica de uma reação de corpo estranho. A tendência mostrada para a supressão de CD14 (mesmo se não significativa) suporta ainda a última afirmação, uma vez que FBGCs param de expressar CD14 após a fusão de macrófagos, ao contrário de osteoclastos. É sugerido que FBGCs podem expressar

ambos os fenótipos de macrófagos M1 e M2, dependendo o ambiente, semelhante aos seus precursores mononucleares. Assim, um tipo crônico de inflamação mediada pelo sistema imunológico provavelmente está presente para o tempo de vida *in vivo* do implante de titânio no osso (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

A presença do fenótipo de M2-macrófagos (indicada pela regulação ascendente de ARG1 - neste caso muito provavelmente os micrófagos M2a, que se pensa estar relacionado à cicatrização de feridas) é significativamente maior no local de Ti, mesmo durante o período inflamatório, já que ARG -1 é significativamente regulado tanto em 10 como em 28 dias. Isso indica que há ativação do sistema imunológico em relação ao Ti desde os estágios de cura precoce (dias). Complementando, um sistema de componente imune inato é devidamente ativado no início de qualquer ameaça à integridade do tecido, que inclui tanto o trauma quanto as entidades estrangeiras. Portanto, não é surpreendente que, durante o período inflamatório (10 dias), a osteotomia pós-Sh e a inserção do implante (Ti), as diferenças não foram significativamente visíveis, uma vez que ambos os procedimentos exigem uma osteotomia traumática. No entanto, após 28 dias e após o período inflamatório, a regulação positiva estatisticamente significante do C5a Receptor-1 (C5aR1) mostra a ativação prolongada da imunidade inata também através da ativação contínua do sistema do complemento. CaR1 mostrou-se ainda mais regulado durante a diferenciação osteogênica.

Além disso, uma tendência foi notada, mesmo que sem valores significativos, para a supressão de C3 em ambos os pontos de tempo. Isso indica que, em ambos os pontos de tempo, a reação mudou de uma resposta à lesão traumática (relacionada ao C3) para uma fase mais reparadora (mais relacionada ao C5 e ARG1) ocorrendo anteriormente em torno de Ti e também prolongada ao longo do tempo nesses sites. C3 mostrou potencializar a diferenciação dos osteoclastos, 15 e, portanto, sua regulação negativa percebida é provavelmente parte da supressão das vias de reabsorção óssea.

O perfil de expressão genética é mais do que suficiente para demonstrar o efeito de um corpo estranho de titânio no tecido ósseo, provocando a presença do sistema imunológico em relação aos implantes de titânio. Além disso, e para alguma surpresa, a análise da expressão gênica revelou uma forte supressão da reabsorção óssea nos locais Ti, em comparação com os locais Sh, indicados por uma redução

significativa da RANKL, OPG, TRAP e CathK. TRAP e CathK são causadores diretos da reabsorção óssea e sua supressão é, por si só, suficiente para indicar uma supressão da reabsorção óssea. Curiosamente, o balanço de regulação da reabsorção óssea RANKL / OPG é suprimido na sua totalidade, sugerindo que a reabsorção óssea tenha sido mantida ao mínimo em torno de Ti. Esses resultados suportam os achados de Botticelli e Lang, e os artigos citados nesse relatório em relação à reabsorção óssea antiga e à nova formação óssea durante as primeiras fases da cicatrização. Obviamente, a reabsorção óssea ainda ocorre em torno de Ti, uma vez que é um fenômeno central no processo de reparação / remodelação óssea, mas os resultados descritos acima sugerem que o tecido ósseo do hospedeiro é fortemente inclinado a produzir osso ao redor do Ti, também na cavidade da medula (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

No nível do tecido, esta formação óssea se traduz hipoteticamente no isolamento do material de Ti, estabelecendo um novo limite de estrutura cortical com o que ele sinaliza como não pertencente à medula óssea - o fenômeno que resulta na denominada osseointegração.

As seções histológicas confirmam o raciocínio acima e auxiliam ainda mais na compreensão da biologia óssea com respeito a uma osteotomia e uma osteotomia seguida da colocação de um biomaterial de titânio. Parece que o osso está programado para selar imediatamente qualquer área de violação à sua integridade, selando e protegendo o conteúdo da medula através do restabelecimento de uma barreira óssea cortical. A histologia mostra que já há 10 dias há uma atividade proficiente para a formação óssea em torno da osteotomia no site Sh, o que é equivalente no site de titânio, por deposição semelhante ao redor do implante. A diferença é que após 28 dias no local Sh, a vedação óssea avança para a localização original do córtex, enquanto que no local do Ti uma nova fronteira parece ser construída em torno do contorno do implante, daí o osso que circunda Ti tende a progredir para um mais organizado e maduro, principalmente não vascular e não regenerado, tipo cortical de osso - o que, novamente, usamos para fins biomédicos sob a forma de osseointegração. A supressão dos mecanismos de reabsorção óssea na presença de Ti sugere que os mecanismos do hospedeiro estão se concentrando na produção ávida de osso para criar uma vasta área de beira apertada com o novo elemento estranho, que é muito mais largo na área de

superfície do que a abertura da osteotomia Sh - como se estivesse produzindo uma barreira tipo cortical, mantendo a medula isolada do que for exterior.

Curiosamente, como se observa em muitas figuras, existem áreas afastadas da área de osteotomia cortical que parecem contribuir ao longo do tempo com áreas de formação óssea mais rápida - CB marcado (osso cortical) nas figuras. De 10 a 28 dias, essas áreas, que podem ser localizadas apicalmente ou no terço médio da área do implante, parecem contribuir para essa formação de osso mais rápida. Pode-se formular a hipótese de que, nessas zonas, mais "matérias-primas" (fosfato, cálcio, etc.) poderiam ser mais facilmente disponíveis através da remodelação óssea a partir de um tipo cortical de fonte óssea. Além disso, esta reação é visível em 10 dias em alguns locais Sh, mas não foi encontrada aos 28 dias. Do ponto de vista biomecânico, tais entidades semelhantes a pontes não só podiam apresentar uma osseointegração melhor e mais rápida, mas também constituem um pilar adicional para estabilizar o implante in situ. O que ainda não é conhecido no presente são se essas estruturas corticais maduras já estavam em sua posição, ou se elas são verdadeiramente produzidas ou mobilizadas do córtex através da medula óssea para o local da osteotomia (como as seções de 10 dias parecem sugerir) para auxiliar na rápida produção de osso novo para selar a área ofendida. Isso constitui uma descoberta interessante que exige uma investigação mais aprofundada, pois poderia indicar a importância da presença de uma maior quantidade de blocos de construção necessários para o desenvolvimento de tecidos calcificados ósseos em torno dos implantes (TRINDADE, ALBREKTSSON, *et al.*, 2018).

Se considerar a osseointegração como um processo imunologicamente conduzido, a barreira óssea recém-produzida com o objeto estranho é susceptível de manter elementos imunológicos perto da superfície de titânio, como macrófagos (que podem se fundir em FBGCs ou não) ou outros tipos de células inflamatórias de tipo 2. Essas "sentinelas" podem ser desencadeadas a qualquer momento, se houver mudanças indesejáveis no equilíbrio recém-estabelecido entre o osso hospedeiro e o implante. FBGCs foram mostrados na superfície do Ti osseointegrado humano após muitos anos contribuindo para a percepção comum de uma relação de vida in vivo entre biomaterial e hospedeiro. Isso significa que qualquer fator perturbador poderia potencialmente ativar o sistema imune e inflamatório e uma reação contra o material que é usado para fins clínicos.

Em resumo, a evidência atual sustenta:

- 1- O titânio ativa o sistema imunológico, pelo menos durante o período inicial;
- 2- O titânio suprime a reabsorção óssea - favorecendo a formação óssea;
- 3- A osseointegração ocorre após o reconhecimento do titânio pelo sistema imunológico e a formação de um meio de formação de osso;
- 4- Os implantes de titânio são isolados da medula óssea através da bainha superficial da acumulação óssea, resultando em osseointegração.

3.7 Osseointegração e os revestimentos de clinoenstatita

Clinoenstatita (CLT, $MgSiO_3$) é uma biocerâmica que contém Mg e Si e combina resistência mecânica com estabilidade química e citocompatibilidade. A cerâmica à base de silicato tem um coeficiente de expansão térmica semelhante ao Ti-6Al-4V e oferece algumas indicações quanto à alta força de adesão que os revestimentos CLT possuem com Ti-6Al-4V. O magnésio (Mg) desempenha um papel essencial no metabolismo ósseo e sua diminuição pode afetar negativamente todos os estágios do metabolismo esquelético, resultando em atraso no crescimento ósseo e nos comportamentos osteoblásticos e osteoclásticos anormais. O papel do Mg na resposta imune está bem estabelecido e o Mg tem função de diminuir a produção de citocinas inflamatórias. O silício (Si), por outro lado, é um elemento traço essencial para o desenvolvimento ósseo e parece ter um efeito direto na transformação de colágeno, a proteína mais abundante nos ossos. Os estudos de WU, CHEN, et al. (2015) mostram que a liberação de produtos iônicos a partir de biomateriais contendo Si aumenta a proliferação e diferenciação de células osteoblásticas. Esses estudos sugerem que Mg e Si têm efeitos ósteo imunomoduladores que favorecem a osteogênese.

Neste estudo, os substratos de Ti-6Al-4V foram revestidos com CLT e HA usando um método de pulverização por plasma e propriedades físico-químicas, tais como força de ligação, taxa de liberação de íons e efeitos ósteo imunomoduladores testados para determinar se o CLT desempenhou melhor que HA como material de

revestimento. Destacou-se a importância das propriedades físico-químicas das duas interfaces geradas pela introdução dos materiais de revestimento: revestimento vs. substrato e revestimento vs. osso. É sugerido que as três propriedades (1) força de ligação, (2) liberação de íons funcionais e (3) osteoimunomodulação devem ser otimizadas para melhorar significativamente a capacidade de carga e osseointegração de um implante e devem ser componentes fundamentais de quaisquer materiais de revestimento funcionais para implantes de titânio (WU, CHEN, *et al.*, 2015).

3.7.1 Resultados

Foi demonstrado uma osseointegração *in vivo* significativamente melhorada da liga de titânio Ti-6Al-4V quando revestida com clinoenstatita (CLT). Em comparação com os revestimentos de HA, os revestimentos de CLT apresentaram maior resistência à união. A baixa força de ligação é uma fraqueza significativa da HA como material de revestimento. Ti-6Al-4V revestido com CLT também melhorou a capacidade osteogênica e desempenhou melhor que HA ao se integrar ao tecido ósseo circundante. Esses resultados suportam a hipótese de que os materiais de revestimento com alta força de ligação e propriedades ósteoimunomoduladoras que favorecem os osteoblastos sobre a osteoclastos, levarão a uma melhor osseointegração *in vivo* de implantes ortopédicos baseados em titânio (WU, CHEN, *et al.*, 2015).

3.7.1.1 Força de ligação e liberação de íons funcionais dos CLT

Os revestimentos CLT preparados pelo nosso laboratório tiveram uma forte afinidade com o substrato Ti-6Al-4V, com a força de ligação de até 50,1 MPa. Este foi mais do que o dobro da resistência de ligação dos revestimentos HA (23,5 MPa), um material que já está em uso clínico, e mais forte do que outros revestimentos biocerâmicos à base de silicato, como o revestimento de akermanite (42,2 MPa), o revestimento de forsterita (41,5 MPa) revestimento de dióxido (32,5 MPa) e revestimento de sphene (33,2 MPa). Acreditamos que existem dois fatores importantes que contribuem para a resistência de ligação dos revestimentos CLT. Um dos fatores com especial relevância para a força de ligação dos revestimentos

pulverizados com plasma é o estado das partículas do material. Segundo WU, CHEN, et al. (2015) as partículas de CLT reconstituídas foram fabricadas por um método de esmagamento por sinterização, que produz partículas densas de aproximadamente 40/80 μm de tamanho (Figura 11). Esta gama de tamanhos parece melhorar a fluidez das partículas para os revestimentos densos de CLT no substrato Ti-6Al-4V produzido pelo processo de pulverização por plasma. Outro fator chave que determina a força de ligação é a microestrutura interna dos revestimentos e a interface com o substrato. Os revestimentos CLT pulverizados por plasma tinham uma microestrutura interna densa e também uma interface apertada com o substrato Ti-6Al-4V, o que pode contribuir de forma sinérgica para a alta resistência de ligação dos revestimentos CLT.

Os revestimentos de CLT impediram que o tecido ósseo do hospedeiro se integrasse diretamente ao substrato metálico no estágio inicial antes que os revestimentos de CLT fossem completamente degradados. A força de ligação deve ser maior do que a força de integração entre o material de revestimento e o tecido ósseo do hospedeiro, senão ele se tornará o elo fraco na capacidade de carga geral. Os revestimentos de CLT parecem ter uma força de ligação ideal que resultou em uma maior capacidade de carga in vivo em comparação com revestimentos de HA e Ti-6Al-4V sozinhos.

Os revestimentos de CLT foram capazes de libertar íons de Mg e Si fisiológicos a uma taxa controlável. Os revestimentos de CLT embebidos em meio de cultura liberaram íons Mg (0 a 2 dias: ~ 300 ppm) no meio de cultura nos pontos de tempo iniciais. A taxa de liberação, em seguida, caiu gradualmente e estabilizou após 8 dias para uma concentração de ~ 165 ppm. A taxa acumulada de liberação de íons de Mg durante 14 dias em meio de cultura foi de aproximadamente 10,5%. Quanto aos íons Si, a taxa de liberação foi bastante estável durante 14 dias, mantendo-se a uma concentração de ~ 60 ppm, com uma taxa de liberação acumulada de $\sim 2,5\%$. A liberação de íons dos revestimentos de CLT foi relativamente estável e esta é uma característica importante para manter a vida útil dos implantes em longo prazo. A taxa de dissolução dos revestimentos de CLT parece apropriada, uma vez que, a essa velocidade, não teve efeitos citotóxicos nas células BMSCs ou RAW. Importante, os íons bioativos liberados pareciam criar um ambiente favorável à nova formação óssea (WU, CHEN, et al., 2015).

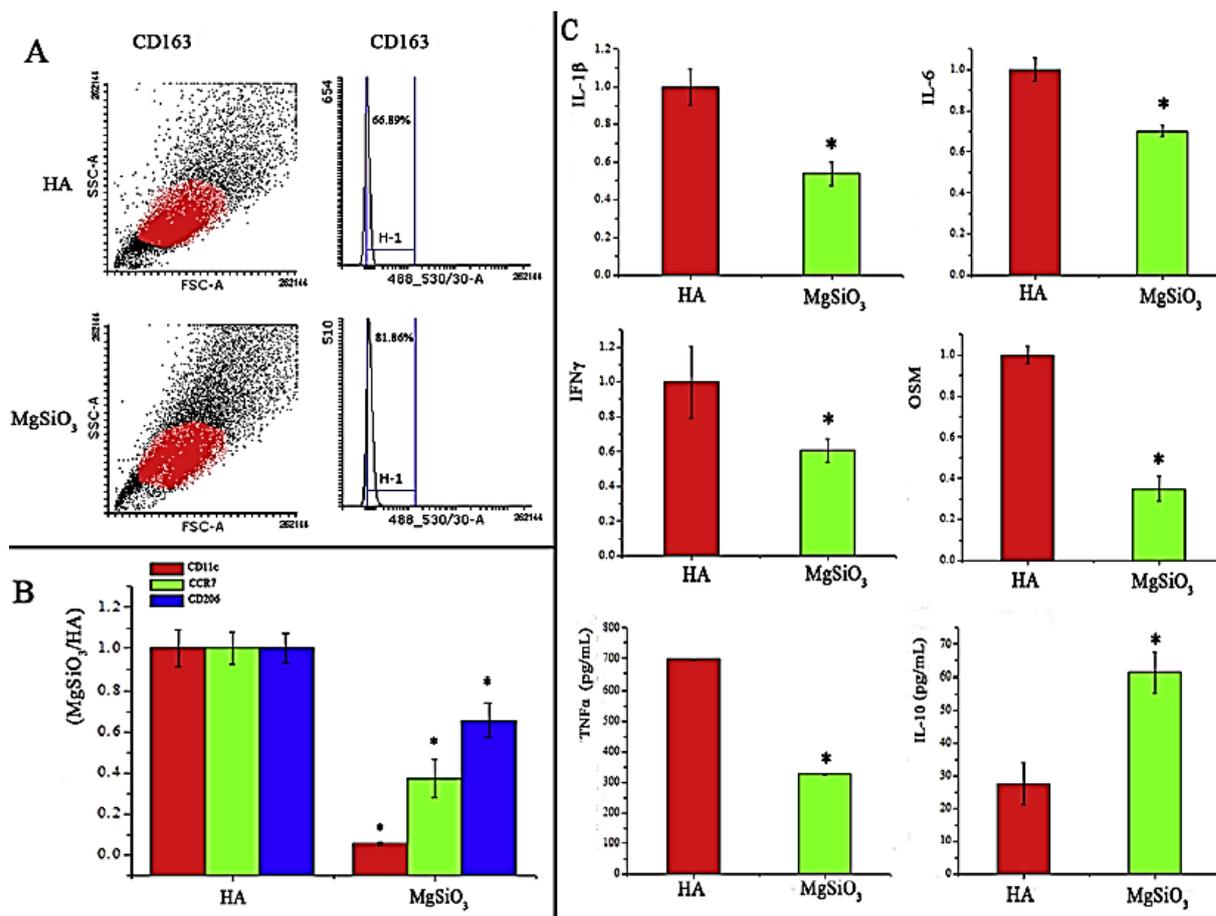


Figura. 11. (A) CD163 (marcador M2) FACS resultados de células RAW estimuladas por macrófagos / revestimento de mídia condicionada: parcelas de pontos indicam os parâmetros da morfologia celular. Células RAW apresentaram morfologia semelhante em diferentes tratamentos de meios condicionados. A mesma região (vermelho colorido) foi selecionada em cada grupo para a análise do histograma para mostrar as diferenças de expressão de CD163 em células RAW em diferentes tratamentos médios condicionados. (B) Dobre as alterações de expressão de genes marcadores de superfície de macrófagos detectados por RTqPCR: marcadores M1 (CD11c, CCR7), marcador M2 (CD206). (C) expressão mRNA dobra mudanças de inflamação relacionados à genes: *IL1β*, *IL6*, *IFNγ*, *OSM* em células RAW cultivadas em discos revestidos de HA e CLT. Mudança de dobra de expressão de proteína de TNFα e IL-10 de células RAW cultivadas em Ti-6Al-4V revestido, detectadas por ELISA. (*): Diferença significativa ($P < 0,05$). TNFα, IL1β, IL6, IFNγ e OSM são citocinas inflamatórias. IL-10 é uma citocina anti-inflamatória. Fonte: (WU, CHEN, *et al.*, 2015)

3.7.1.2 As propriedades ósteo imunomoduladoras dos CLT

Os revestimentos de CLT apresentaram propriedades ósteo imunomoduladoras que favoreceram a formação de novo osso, inibindo a inflamação, eliminando os osteoclastos e aumentando a osteogênese *in vitro*. Os revestimentos de CLT alteraram o fenótipo dos macrófagos para o extremo M2, o que levou a uma inibição da reação inflamatória em comparação com os HA controles. O mecanismo molecular provável poderia ser a inibição das vias Wnt5A /

Ca²⁺ e TLR. A via de sinalização Wnt5A / Ca²⁺, em particular, é relatada como tendo efeitos pró-inflamatórios, atuando através do fator de transcrição NF-*κ*B. O CLT / macrófagos médio condicionado teve uma menor concentração de íons Ca²⁺ em comparação com o HA / macrófagos médio condicionado. Portanto, levanta-se a hipótese de que a menor concentração de Ca²⁺ inibe a via de sinalização Wnt / Ca²⁺, o que resulta em uma redução da inflamação (WU, CHEN, *et al.*, 2015).

A via TLR é relatada como sendo ativada nos macrófagos quando eles encontram corpos estranhos. Este processo induz uma resposta imune inata que tenta decompor os implantes. MyD88, Ticam1 e Ticam2 são componentes-chave neste caminho. No presente estudo, nas células submetidas ao revestimento CLT houve uma redução na expressão genética de *Ticam1* e *Ticam2*, enquanto que a expressão da proteína *IκB-α* foi significativamente maior. Isto indica que o efeito anti-inflamatório dos revestimentos CLT está associado à supressão da via TLR através do NF-*κ*B inibidor *IκB-α*. Um estudo recente mostrou que Mg²⁺ inibe a via TLR aumentando a expressão de *IκB-α*, eliminando assim a produção de citocinas inflamatórias. No presente estudo, mostramos que houve uma concentração significativamente maior de íons Mg²⁺ que foram liberados a partir de discos revestidos com CLT imersos no meio de cultura. Esta versão sustentada de Mg²⁺ é, portanto, muito provavelmente responsável pelo aumento da expressão de *IκB-α* e a subsequente expressão reduzida de marcadores inflamatórios. A inibição da resposta inflamatória sugere que os revestimentos de CLT são fisiologicamente mais compatíveis que os revestimentos de HA e evitam a formação de uma cápsula fibrosa em torno dos implantes.

Tanto a osteoclastogênese quanto as atividades osteoclásticas foram inibidas pelos revestimentos de CLT. Os resultados de RT-qPCR mostraram que os revestimentos de CLT reduziram significativamente as expressões de genes relacionados à atividade dos osteoclastos (*TRAP*, *CTSK*, *RANK*, *CA2* e *MMP9*). As células osteoblásticas regulam a osteoclastogênese através de *RANKL*, *MCSF*, que ativa e *OPG*, o que a inibe. Verificamos que as BMSCs cultivadas no meio CLT / macrófago condicionado tinham uma expressão significativamente maior de *OPG* em comparação com *RANKL* e *MCSF*, o que indica que osteoclastogênese estava sendo ativamente suprimida. O aumento da atividade dos osteoclastos resulta em baixa massa e densidade do novo tecido ósseo, o que leva à redução da capacidade de carga do implante. Esta é uma complicação comum com implantes ortopédicos

em pacientes com osteoporose. Ao inibir a osteoclastogênese, os benefícios clínicos do Ti-6Al-4V revestido com CLT podem revelar-se extensivos a esses pacientes.

Além de suprimir a osteoclastogênese, também havia evidências de que os revestimentos de CLT aumentassem a osteogênese *in vitro*. É provável que este seja associado à liberação de íons bioativos dos revestimentos CLT e aos efeitos moduladores que estes têm sobre a resposta imune. O Si aquoso mostrou aumentar a proliferação, a diferenciação e a produção de colágeno de osteoblastos, a uma faixa de concentração superior a 4 mM (112 ppm). A liberação de íons Si de revestimentos de CLT caiu dentro desse valor e, portanto, pode explicar os efeitos osteogênicos dos revestimentos de CLT (WU, CHEN, *et al.*, 2015).

As células imunológicas desempenham um papel ativo na dinâmica do metabolismo ósseo e o funcionamento anormal das células imunes pode levar a um desequilíbrio entre osteoclastos e osteoblastos e resulta na destruição patológica do osso. A regulação ascendente dos efetores inflamatórios (como o TNF α) liberado a partir de macrófagos estimulados por LPS é considerada um fator importante na falha na diferenciação osteogênica de MSCs. O TNF- α tem um efeito inibitório sobre a mineralização e a expressão de marcadores osteogênicos em células osteoblásticas. Da mesma forma, pensa-se que a regulação positiva de IFN- γ e TNF- α em resposta aos implantes é responsável pela falha na regeneração do tecido ósseo baseado em MSCs. Enquanto as citocinas pró-inflamatórias parecem suprimir a osteogênese, IL-6 e OSM são relatados para estimular a formação e função dos osteoclastos. A inflamação excessiva tende a favorecer a osteoclastogênese em relação à osteogênese; os efeitos inibitórios dos revestimentos de CLT na inflamação podem, portanto, ser o mecanismo-chave para inibir a osteoclastogênese e aumentar a osteogênese em comparação com os revestimentos de HA.

Os resultados experimentais *in vitro* indicam todos os resultados para os revestimentos de CLT, com sua alta resistência de ligação, liberação de íons bioativos e propriedades osteo imunomoduladoras, satisfazem os critérios sugeridos para materiais de revestimento ideais neste estudo. Os resultados dos estudos *in vivo* são evidências adicionais de que os revestimentos de CLT ajudariam a integrar implantes à base de titânio com tecido ósseo hospedeiro e resultar em aumento da força biomecânica. Portanto, a força de ligação, a liberação de íons funcionais e propriedades osteo imunomoduladoras devem ser parâmetros fundamentais para o

desenvolvimento e avaliação de materiais de revestimento com osseointegração *in vivo* (WU, CHEN, *et al.*, 2015).

Concluindo, os revestimentos de CLT foram preparados com sucesso por método pulverizado por plasma e demonstraram alta força de ligação, liberação de íons bioativos e ósteo imunomodulação benéfica. Estudos *in vivo* mostraram ainda que os revestimentos de CLT se integraram bem com o tecido ósseo do hospedeiro, apresentaram maior força biomecânica e uma maior taxa de formação de osso novo em comparação com os controles de HA. Esses resultados sustentam a visão de que a força de ligação, a liberação iônica funcional e as propriedades ósteo imunomoduladoras devem ser fatores-chave para o desenvolvimento e avaliação de materiais de revestimento avançados. Além disso, os revestimentos CLT justificam investigações adicionais para uso em aplicações ortopédicas.

3.8 Re-osseointegração de implantes dentários após periimplantite.

A periimplantite é definida como um processo inflamatório que afeta os tecidos em torno de um implante osseointegrado em função, resultando assim na perda de osso de suporte. Assim, a perda óssea contínua em torno de um implante endósseo pode pôr em perigo a estabilidade e a função do implante. As duas principais estratégias de tratamento em relação à periimplantite foram a remoção do implante ao invés de tentar salvar o implante falido ou a remoção da causa seguida de terapia regenerativa para restaurar a perdeu o osso (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

3.8.1 Descontaminação da superfície

Agentes químicos. Foram testadas várias soluções químicas (líquidos) para descontaminação das superfícies implantadas infectadas ou expostas. Schou *et al* (2003) compararam a capacidade de limpeza superficial da unidade abrasiva de ar-energia, ácido cítrico, clorexidina e solução salina; os resultados não mostraram diferença significativa. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Persson *et al*, em que usaram a combinação de CO₂ laser e H₂O₂ em comparação com o uso de grânulos de algodão embebidos em solução salina. Afirmaram que o método mais simples, juntamente com o desbridamento e a gaze embebida alternadamente em clorexidina e soro fisiológico, deve ser preferível para a

preparação da superfície do implante no tratamento cirúrgico da periimplantite. Também no estudo de Sennerby et al. (2005) foram utilizadas bolinhas de algodão embebidas em solução salina para limpar a superfície do implante contaminado, mas seu estudo foi analisar o uso da técnica de frequência de ressonância para detectar o contato ósseo-implante. Schwarz et al (2007) usaram pastilhas de algodão embebidas em solução salina e irrigação com solução salina como método para descontaminar a superfície do implante (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

Parlar et al (2009) usaram implantes personalizados que consistiam em cilindros de implantes intraósseos permutáveis (EICC) para cumprir a ideia de remover a porção de implante infectada e desintegrada e realizar esterilização fora da cavidade oral ou substituir por uma nova porção de implante. O objetivo deste experimento foi avaliar os vários métodos de descontaminação e configurações de superfície do implante na re-osseointegração de implantes dentários contaminados. Os resultados não provaram qualquer vantagem de trocar o EICC contra um novo ou um limpado sobre a limpeza *in situ* por solução salina por pulverização por 3 minutos.

Park et al (2015) usaram jato de água dental (Aqua-pikVR, Aquapik, Seul, Coréia) em um ajuste de alta pressão (1200 pulsos / min) e fio dental (SuperflossVR; P & G, Cincinnati, OH) embebido em clorexidina para descontaminação do cascalho exposto com superfícies de implante de alumina e acidez. Machtei et al (2016) usaram 24% de EDTA após o desbridamento de aba aberta para descontaminação superficial de trinta implantes com jateamento e ácido. Htet et al (2016) usaram ácido cítrico para descontaminação superficial de implantes de superfície anodizados em comparação com outros métodos de descontaminação (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

Método mecânico. O tratamento cirúrgico da periimplantite deve incluir a cirurgia de abertura aberta ou cirurgia de aleta de acesso. Juntamente com as técnicas mencionadas anteriormente, os autores realizaram o desbridamento da superfície do implante infectado usando vários métodos que vão desde curetas até lasers. O desbridamento dos tecidos de granulação e a realização da superfície do implante descontaminado são importantes no ambiente que facilitará a regeneração ou a reosseointegração. Em estudos realizados por Schou et al (2003) foram utilizadas combinações de cirurgia de abas, unidade abrasiva em pó, ácido cítrico e

irrigação salina para descontaminação superficial que resultou em maior reosseointegração (46%) do que outros grupos de estudo (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

Stübinger et al (2005) compararam o uso de laser de CO₂, abrasivo em pó e seus combinados utilizados para descontaminar implantes pulverizados com plasma de titânio em 6 cães. Os resultados mostraram que o laser de CO₂ sozinho (0,69%) ou combinado com abrasivo em pó (0,77%) teve efeito semelhante na aposição óssea que é significativamente maior que o solo abrasivo em pó (0,38%). No estudo de Schwarz et al (2006) a implantoplastia foi utilizada como método de escolha. Neste estudo, cães beagle foram usados como um modelo de estudo. Após a periimplantite experimental, os sítios de defeitos intraósseos foram preenchidos com um mineral ósseo natural derivado de bovino e os componentes do defeito supracrestal foram tratados pela aplicação de um bloqueio ósseo equino ou implantoplastia (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

A implantoplastia foi realizada após a limpeza da superfície do implante infectado com pastilhas de algodão embebidas em solução salina. Eles usaram batatas de diamante e pedras de Arkansas sob irrigação copiosa com solução salina estéril para suavizar a superfície do implante supracrestal exposto. Eles concluíram que a implantoplastia é uma técnica segura e eficiente como uma abordagem alternativa para o tratamento do defeito supracrestal periimplantite. Além disso, a terapia com laser foi avaliada em vários estudos, como em Shibli et al (2003) Persson et al. (2004) e Schwarz et al (2006). A terapia com laser torna-se uma abordagem em expansão que tem sido utilizada em muitas aplicações dentárias. Entre eles está a terapia fotodinâmica (PDT), que usa luz laser de baixa densidade com material fotossensibilizador que pode atingir células específicas, causando dano celular permanente. No estudo de Shibli et al (2003) eles usaram PDT usando laser de diodo GaAlAs e azul de toluidina. O fotossensibilizador visou a bactéria e limpar a superfície do implante após a periimplantite induzida. No entanto, outros estudos utilizaram diferentes dispositivos a laser para limpar a superfície do implante infectado sem o uso de fotossensibilizadores. Persson et al avaliaram a aplicação de laser de CO₂ juntamente com a irritação contínua da solução de peróxido de hidrogênio. Schwarz et al (2007) avaliaram o laser Er:YAG para examinar a cicatrização de feridas periimplantes em comparação com cureta de plástico com gel de metronidazol e dispositivo ultravioleta em que a energia da vibração vertical do instrumento foi transmitida para a superfície do implante e os tecidos periimplantes

por uma suspensão de hidroxiapatita partículas e água. Eles estudaram esses métodos na cura não submersa e submersa da periimplantite induzida por ligadura.

De acordo com seus resultados, observou-se o contato mais alto entre o osso e o implante para o laser Er: YAG com grupo de cicatrização submersa, que foi de 44,8%. Htet et al, 2016, usaram o laser Er:YAG (comprimento de onda de 2.940 nm, 100 mJ / pulso, 10 Hz) para descontaminação superficial de implantes com superfície anodizados em comparação com PDT usando laser de diodo GaAlAs (830 nm, 50 mW, 4 J / cm²) em relação à broca de titânio (ponta redonda de 1 mm de diâmetro) a 800 rpm sob irrigação salina copiosa durante 2 minutos. Seus resultados mostraram que os tratamentos mecânicos e químicos combinados (borracha de titânio com grupo de ácido cítrico) apresentaram elevação vertical substancialmente maior do que outros grupos e significativamente melhor o contato osso-implante (22,81% ± 14,45%) do que o Er:YAG, (13,76% ± 17,23%), PDT (2,7% ± 5,85%) e os grupos de Bur (8,09% ± 12,15%) (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

3.8.2 Terapia regenerativa

O objetivo de todas as modalidades de tratamento de periimplantite é conseguir re-osseointegração na superfície do implante previamente contaminado. Após a remoção do tecido de granulação e a eliminação do biofilme bacteriano, vários métodos para promover a re-osseointegração foram avaliados utilizando substitutos ósseos ou enxerto ósseo com ou sem membrana. Após o tratamento cirúrgico da periimplantite induzida por ligadura, vários métodos para promover a re-osseointegração foram testados. Geralmente, eles variaram com ou sem o uso de membrana junto com ou sem enxerto ósseo ou substituto ósseo. Schou et al, 2003, realizaram 3 experimentos quanto ao tratamento cirúrgico da periimplantite induzida por ligadura. Nos seus dois primeiros estudos, examinou-se a membrana de politetrafluoroetileno expandido (ePTFE) com enxerto ósseo autógeno e membrana ePTFE com Bio-Oss e concluiu que o enxerto ósseo autógeno ou os substitutos ósseos (Bio-Oss) com membrana ePTFE foram a melhor combinação para promover reosseointegração dentro das limitações de seus estudos. No entanto, o grupo de enxerto ósseo autógeno resultou em 45% de re-osseointegração, enquanto o grupo Bio-Oss mostra 36%. Em outro experimento de análise de 4 diferentes estratégias de descontaminação da superfície do implante, utilizaram-se enxertos ósseos

autógenos e membrana ePTFE. De acordo com o seu resultado insignificante, o enxerto ósseo autógeno com membrana ePTFE pode promover uma quantidade considerável de re-osseointegração independentemente dos métodos de descontaminação superficial. Em um estudo de Shibli et al (2006) foi testada uma técnica de fotossensibilização letal que é a combinação de laser de diodo de baixo nível e azul de toluidina O em 4 superfícies de implante diferentes nem com a membrana nem o enxerto ósseo e os substitutos ósseos. Entre os grupos de estudo, os implantes revestidos com hidroxiapatita (HA revestidos) apresentaram a menor quantidade de re-osseointegração, que é de 15,83%. Eles mencionaram que houve dissolução parcial do HA revestido após a infecção do periimplante. A espessura do revestimento e a cristalinidade do revestimento podem ser distorcidas devido à exposição ao patógeno periodontal. Essa influência pode complicar o tratamento periimplantite. Eles concluíram que o tratamento por meio de fotossensibilização letal poderia obter preenchimento ósseo significativo com re-osseointegração, e o preenchimento ósseo mais baixo foi observado para implantes dentários com revestimentos de HA. Mais tarde, eles realizaram outro estudo sem os implantes dentários revestidos de HA e compararam o desbridamento mecânico com fotossensibilização letal e desbridamento mecânico sem fotossensibilização letal.

Além disso, no estudo de Persson et al (2004) a cirurgia de aleta sozinha foi usada em combinação com os procedimentos de descontaminação da superfície. Eles sugeriram que uma superfície contaminada não evita a re-osseointegração, pelo menos não em implantes com uma superfície rugosa. Explicaram que a ausência de resultados significativos pode indicar que as características da superfície são mais importantes para a re-osseointegração. Schwarz et al (2006) compararam 3 modalidades de tratamento em cicatrização de submersão aberta e grupos de cicatrização sem cura total. Em cicatrização de submersão aberta com grupo de tratamento laser Er: YAG, o contato osso-implante em termos de re-osseointegração manteve o melhor resultado, que é de 44,8% (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

Embora não seja possível avaliar até que ponto a recolonização bacteriana da área do periimplante pode ter afetado a regeneração óssea e subsequentemente o estabelecimento de novo contato ósseo-implante, a cura submersa aberta melhorou o resultado do tratamento em comparação com a cicatrização fechada sem Er: O laser YAG pareceu ser mais apropriado para

promover a re-osseointegração nas superfícies contaminadas do implante. No estudo de You et al (2007) foram testados 26 enxertos ósseos autógenos com ou sem fibrina após a limpeza da superfície do implante contaminado com uma gaze embebida alternadamente em clorexidina e solução salina a 0,1%. A re-osseointegração (50,1%) foi observada no grupo de tratamento com enxerto ósseo autógeno combinado com fibrina com placa de enxertia sem uso da membrana. Em ambos os estudos de Persson et al (2004) e Schwarz et al. (2007) a camada de tecido conjuntivo foi vista no osso recém formado e na superfície do implante. O fato comum é que, nesses estudos, o uso de membrana de colágeno estava ausente, o que geralmente é usado para prevenir o crescimento do tecido conjuntivo e do epitélio em defeitos ósseos periimplantes. Em estudo realizado por Park et al. (2015) o tratamento regenerativo para a periimplantite foi realizado após a elevação da aba de espessura total e foram realizadas 3 modalidades de tratamento: partículas de HA misturadas com gel de colágeno (grupo controle, n = 8), partículas de HA misturadas com gel de colágeno contendo células-tronco do ligamento periodontal autólogo (PDLSCs) (grupo PDLSC, n = 8) e partículas de HA com gel de colágeno contendo PDLSCs autólogas que expressam BMP-2 (proteína fosfatogênica óssea 2 / grupo PDLSC, n = 8). Os resultados histológicos mostraram uma quantidade significativamente maior de re-osseointegração para o grupo de proteína 2 / PDLSC morfogenética óssea (2,1 mm) e 61% das profundidades dos defeitos foram re-osseointegradas. No entanto, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos no que diz respeito ao contato do implante de esqueleto (BIC).

Para o procedimento regenerativo, Machtei et al (2016) usou o beta-fosfato tricálcio (b-TCP) coberto com membrana reabsorvível ou enxerto com células progenitoras endoteliais (EPC) carregadas em b-TCP e cobertas com membrana reabsorvível versus grupo não enxertado. O grupo EPC apresentou menor distância para o primeiro BIC ($3,29 \pm 0,69$ mm) em comparação com $4,2 \pm 0,92$ mm (b-TCP) e $3,82 \pm 0,73$ mm (desbridamento aberto). O BIC histológico médio foi de 2 a 3 vezes maior no grupo EPC (17,65% a 63,3%) em comparação com o desbridamento da aba aberta ($7,55\% \pm 2,24\%$, $P = 0,01$) e b-TCP ($5,68\% \pm 2,91\%$, $P = 0,05$). BIC superior a 25% foi encontrado apenas no grupo EPC. Em um estudo de Htet et al. (2016) foi aplicada uma membrana reabsorvível de ácido poli-L-láctico sobre os implantes para permitir a cicatrização submersa. O BIC resultante foi de 22,81% para o Bur + ácido cítrico, 13,76% para Er: YAG, 2,7% para PDT e 8,09% para o grupo Bur. Stübinger

et al. (2005) usaram laser de CO₂ e abrasivos em pó para a descontaminação da superfície do implante e mostraram a capacidade regenerativa do laser de CO₂ (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

Resumidamente, foram utilizadas várias técnicas de descontaminação da superfície do implante, químicas e / ou mecânicas sozinhas ou simultaneamente com / sem regeneração óssea guiada (GBR). Apesar da cirurgia de aleta de acesso, observou-se que a aplicação de uma única medida de descontaminação química ou mecânica não era adequada para proporcionar um melhor resultado do tratamento. Além disso, foram observados resultados promissores nos estudos que utilizaram a combinação de enxerto óssea ou substituta óssea juntamente com GBR para a terapia regenerativa. Em termos de superfícies de implante, observou-se melhor reosseointegração com superfícies de implante em bruto quando combinadas com GBR. O tratamento da periimplantite não é previsível; no entanto, o tratamento cirúrgico pode ser considerado a opção de tratamento mais esperada quando combinado com meios químicos e mecânicos para a descontaminação da superfície do implante. A terapia com laser é uma modalidade recente que precisa de mais exploração para identificar os melhores parâmetros de laser benéficos que podem ser usados (MADI, HTET, *et al.*, 2018).

3.9 Osteoporose - cura de fraturas e osseointegração

A osteoporose é uma doença esquelética caracterizada por diminuição da massa e densidade óssea e anormalidades na microarquitetura óssea, o que resulta em maior suscetibilidade a fraturas. A densidade mineral óssea (também conhecida como “massa óssea”) é o resultado do patrimônio genético, mas também é fortemente influenciada por fatores ambientais, como disponibilidade de cálcio e vitamina D, carga mecânica e idade. A diminuição da massa óssea é observada quando ocorre um desacoplamento da formação óssea e reabsorção óssea durante o processo fisiológico de remodelação esquelética, com uma prevalência da fase de reabsorção durante a fase de formação. O primeiro fator etiológico reconhecido para esse tipo de perda óssea é a deficiência de estrogênio. Os estrogênios têm um papel regulador na remodelação óssea e controlam especialmente a diferenciação e ativação dos osteoclastos através de várias vias moleculares, mantendo a reabsorção óssea dentro da faixa fisiológica.

Além disso, existem evidências de que a osteoporose pode representar uma ameaça à osseointegração quando associada a outros fatores de risco, como tabagismo, diabetes mellitus ou bruxismo, que juntos podem aumentar consideravelmente o risco de falha do implante.

O envelhecimento da população é atualmente um tema de preocupação de saúde pública nos países desenvolvidos. Esse aumento da idade da população exige expansão da saúde relacionada à idade e avanços na terapia médica. Por exemplo, a osteoporose pós-menopausa é uma doença altamente relevante, principalmente observada em mulheres idosas (> 50 anos), na qual a reabsorção óssea e a micro deterioração da arquitetura do esqueleto são dramaticamente aumentadas durante a remodelação óssea. Tem sido demonstrado que as mulheres na pós-menopausa tinham estatisticamente significativamente maior falha de implante na maxila em comparação com mulheres na pré-menopausa e homens com mais de 50 anos (13,6% de falha vs. 6,3 e 7,6%). No entanto, se as mulheres com osteoporose receberam suplementação de estrogênio, sua taxa de falha do implante foi menor do que em mulheres na pós-menopausa sem tratamento de reposição hormonal (13,6 vs. 8,1%). Nenhuma diferença foi observada para implante colocado na mandíbula (GALLI, STOCCHERO, et al., 2017).

No entanto, outros mecanismos independentes de estrogênio, a maioria dos quais relacionados à idade, também podem induzir a perda óssea (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017). Conseqüentemente, em pacientes com condição óssea osteoporótica, a osseointegração de implante desfavorável continua a ser uma preocupação na cirurgia ortopédica e dentária, porque a cicatrização óssea provavelmente é influenciada negativamente e pode promover a falência do implante ósseo.

Para situações tão desafiadoras, uma possível melhoria da cicatrização óssea-implante foi proposta sob a forma de modificações de superfície de nove com revestimentos terapêuticos para implantes ósseos, por exemplo, o revestimento de implantes com elementos bioativos, bem como medicamentos anti-osteoporóticos. Os bisfosfonatos (BPs), por exemplo, inibem a proliferação e atividade dos osteoclastos. Além disso, existe um interesse crescente em implantes com um revestimento composto de agentes terapêuticos anabolizantes, como ranelato de estrôncio (SR) e estatinas (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014). Os revestimentos proporcionaram uma liberação dos fármacos diretamente no local de

cicatrização, com o efeito de melhorar a ancoragem óssea dos implantes *in vivo*. No entanto, um risco potencial de bifosfonatos é induzir osteonecrose. Embora este efeito adverso tenha sido associado apenas a altas doses dos medicamentos em aplicações sistêmicas, não existe evidência clínica que indique a aplicação local como uma solução livre de risco (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

3.9.1 Osseointegração em condições saudáveis vs. Osteoporose

Em geral, a osseointegração de implantes em condições saudáveis é um processo complexo e envolve a acumulação de osteoblastos precursores, formação de matriz óssea e, eventualmente, formação biomineral. A resposta de cura óssea a um implante osseointegrado é semelhante à observada durante a cicatrização de fraturas. Mais especificamente, imediatamente após a implantação, um coágulo de sangue é formado e este serve como um andaime para células sanguíneas, que liberam vários sinais biológicos e fatores de diferenciação, que posteriormente induzem o processo osteogênico (figura 12). Os fatores osteogênicos incluem principalmente a regulação a montante da proteína morfogenética óssea (BMP), o fator de transcrição específico de osteoblastos *runx2* (também conhecido como fator de ligação do núcleo α , *Cbfa1*) e *osterix* (fator de transcrição osteoblasto-específico). Esses fatores são fatores de transcrição essenciais para a diferenciação de células estaminais mesenquimais (MSCs) em osteoblastos e estão envolvidos na regulação da expressão de vários genes osteoblásticos, como o colágeno tipo I, a fosfatase alcalina (ALP), a sialoproteína óssea, osteopontina e osteocalcina. Além disso, esses fatores osteogênicos têm um efeito dependente da dose na diferenciação de MSCs na linhagem osteoblástica. Poucos dias após a implantação, uma matriz óssea provisória é segregada por osteoblastos diretamente na superfície do implante, que se desenvolve em osso imaturo (tecido) semelhante ao observado na fase inicial da cicatrização da fratura. Finalmente, a remodelação óssea ocorre pela substituição de imaturos pelo osso maduro no local do implante, proporcionando estabilidade biológica (mecânica). O processo contínuo de remodelação óssea envolve a reabsorção óssea por osteoclastos para remover o osso antigo e ferido. Este processo é controlado pelo ligante do receptor do fator nuclear kapa B (RANKL) e osteoprotegerina (OPG), e ao mesmo tempo nova formação óssea por osteoblastos, substituído o osso antigo (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014).

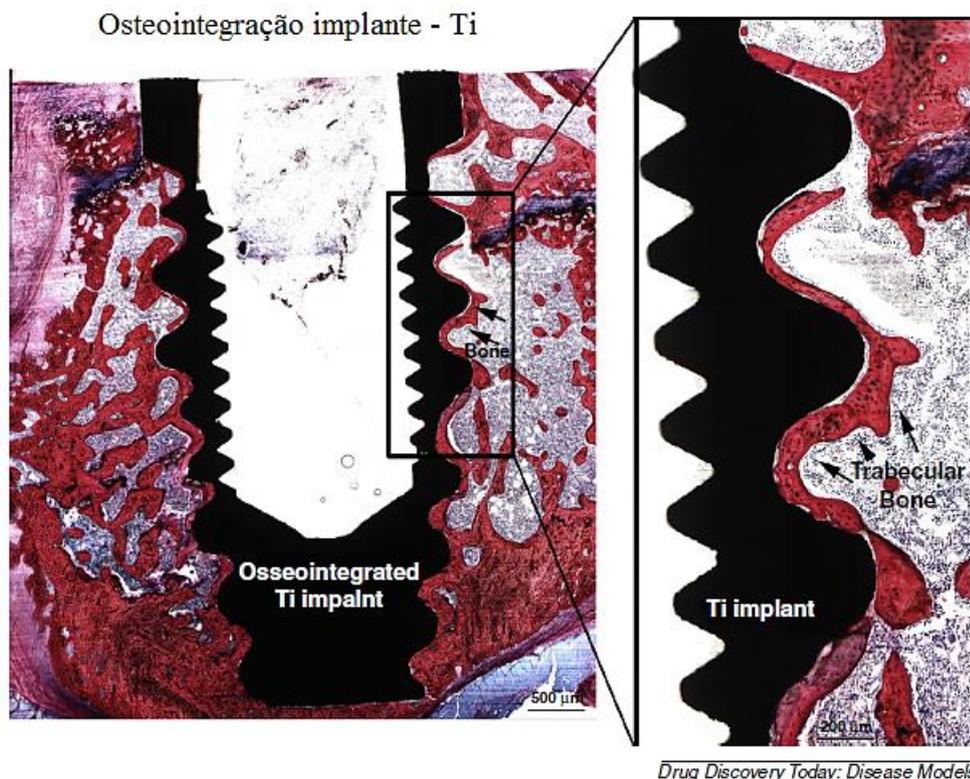


Figura 12: Seção Histológica que descreve uma osseointegração de um implante de titânio após um período de implantação de oito semanas no cômulo femoral de um rato saudável. A ampliação (200x) mostra osso trabecular em contato com a superfície do implante. Fonte: (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014)

Assim, a falha na fixação do implante e na cicatrização da fratura pode ser causada por vários fatores, incluindo um desequilíbrio entre a formação óssea e a reabsorção, a diminuição da presença de células osteogênicas e a elevação da atividade das células osteoclásticas. Muitos desses fatores são diretamente afetados pela presença de uma condição osteoporótica. Por exemplo, um processo desequilibrado de formação / reabsorção óssea é a característica da osteoporose pós-menopausa, porque a deficiência de estrogênio leva a uma atividade osteoclástica moderadamente aumentada. O estrogênio atua sobre células ósseas através da sinalização do receptor de estrogênio alfa ($ER\alpha$), que regula uma série de moduladores osteoblastos / osteoclastos. Nos osteoblastos, o $ER\alpha$ se liga diretamente aos elementos de resposta ao estrogênio ou interage com outros fatores de transcrição osteogênicos. Osteoblastos também secretam proteínas do sistema RANKL / OPG, que controlam a atividade de osteoclastos através da expressão

superficial do receptor RANK. Consequentemente, em mulheres pós-menopáusicas, demonstrou-se que o nível RANKL e a atividade osteoclástica aumentam em resposta ao baixo nível de hormônio estrogênio. Ao lado da função defeituosa de osteoblasto / osteoclastos, um comprometimento da fase inicial da osseointegração ou cicatrização de fratura inclui uma capacidade reduzida de MSCs para se diferenciar em osteoblastos. Na verdade, foi relatado que os MSCs de mulheres pós-menopáusicas apresentam uma menor taxa de crescimento e sintetizam menos colágeno tipo I (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014).

Em animais pré-clínicos, a osteoporose foi induzida artificialmente (principalmente por ovariectomia, OVX) para avaliar rapidamente a resposta da osteoporose à colocação do implante. Por exemplo, Yamazaki et al. (1999) usaram a tíbia de ratos OVX e confirmaram que a osseointegração de parafusos metálicos foi significativamente alterada na condição osteoporótica. Uma observação semelhante foi relatada por Mendes Duarte et al. (2003) e Alghamdi et al. (2014) em que a cicatrização óssea em torno de implantes foi severamente diminuída em um modelo de rato com osteoporose relacionada à deficiência de estrogênio. Lugero et al., (2000) encontraram formação reduzida de osso trabecular em torno dos implantes colocados na metáfise da tíbia de coelhos de OVX. Em um modelo ovelha de OVX, Fini et al. (2003) mostrou uma redução significativa na porcentagem de contato de implante ósseo em comparação com controles simulados.

Um método para melhorar a osseointegração é fornecer ao implante um revestimento composto de componentes inorgânicos / orgânicos, semelhante ao presente na matriz óssea extracelular fisiológica (ECM), como fosfato de cálcio (CaP), colágeno tipo I, ALP e fatores de crescimento. A deposição desses materiais bioativos na superfície do implante cria a capacidade de ligação direta do implante-osso e aumenta o bloqueio bioquímico entre o osso e as superfícies do implante. Além disso, as proteínas ECM mostraram aumentar a osseointegração do implante através da velocidade acelerada e quantidade de osso novo formado na interface. Tais revestimentos bioativos são antecipados para adsorver as proteínas ECM na superfície do implante e posteriormente mediar a interação biológica com células osteogênicas provenientes do tecido circundante. Estas interações são mediadas por integrinas que incluem o recrutamento de proteína focal de adesão quinase (FAK), que posteriormente resulta na regulação da conexão e mobilidade celular. Em vista disso, mostrou-se que o número de adesões focais positivas a FAK

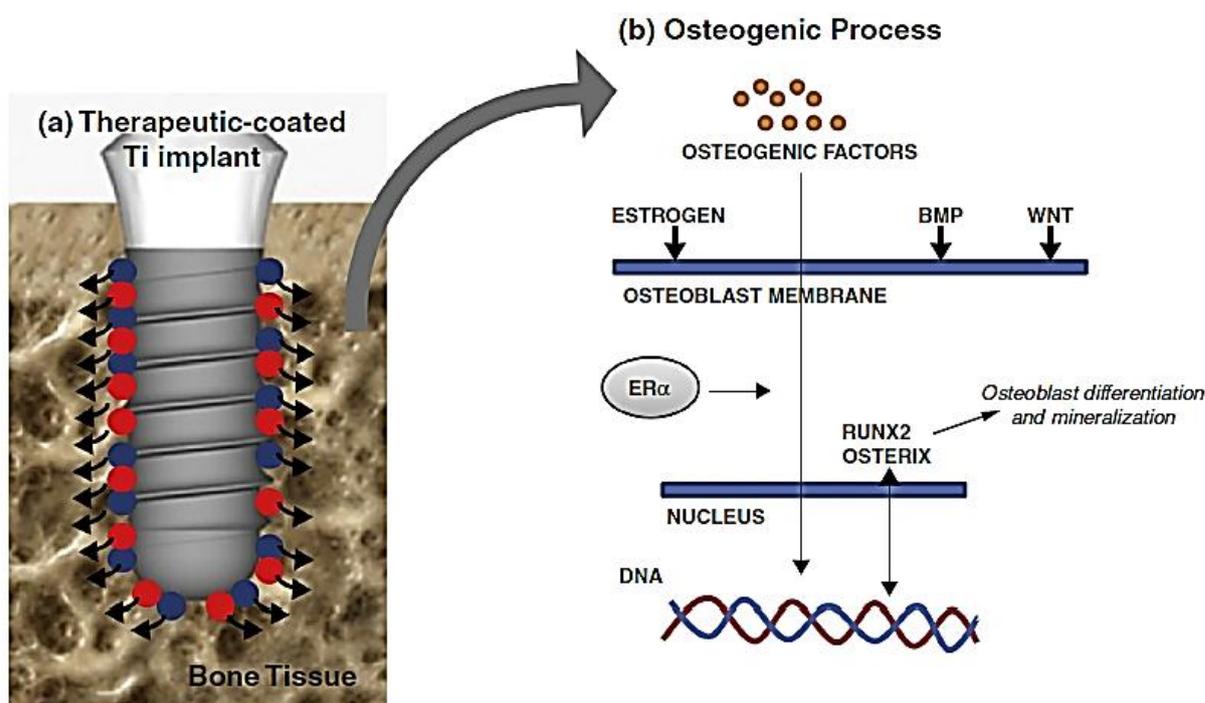
aumentou continuamente para células semelhantes a osteoblastos quando cultivadas em substratos de titânio revestidos com uma camada de materiais biologicamente ativos. Além dos efeitos de anexação celular, as integrinas são especuladas para cooperar com fatores osteogênicos que se espera que se acumulem na superfície do implante e regulem a proliferação e diferenciação dos osteoblastos (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014).

Alguns anos atrás, os pesquisadores conseguiram depositar um revestimento homogêneo de nano-CaP / colágeno e CaP / ALP em superfícies de titânio. Modelos de animais pré-clínicos confirmaram que esses revestimentos bioativos recentemente desenvolvidos são promissores para a regulação de eventos celulares que ocorrem durante a cicatrização do tecido ósseo em torno dos implantes. Além disso, em um modelo de pequeno animal, os fatores de crescimento (principalmente TGF- β 1 e BMP-2) carregados em colágeno ou implantes revestidos com CaP também favoreceram a cicatrização óssea inicial. Outro revestimento seria o revestimento à base de DNA sobre implantes de titânio usando a técnica de deposição camada-a-camada (LbL).

As pesquisas realizadas na última década também forneceram evidências do potencial terapêutico significativo de liberação local através de revestimentos terapêuticos para melhorar o processo de osteogênese periimplante em condições saudáveis e osteoporóticas (figura 13). Os medicamentos BP depositados sobre implantes podem ter um efeito anti-osteoporótico no tecido ósseo periimplante, como demonstrado claramente em modelos animais pré-clínicos. A entrega local e a manutenção das BP na proximidade do implante podem inibir a reabsorção óssea osteoclástica e, por sua vez, levam a processos osteogênicos aprimorados em torno dos implantes revestidos. As BPs foram avaliadas em modelos de animais osteoporóticos e os resultados mostraram aumento da osseointegração do implante. Esses modelos pré-clínicos fornecem novas evidências de que as BP imobilizadas têm efeitos positivos na fixação do implante na osteoporose. Além disso, várias moléculas de BP mostram uma alta afinidade de ligação ao mineral ósseo, bem como demonstram uma habilidade *in vivo* para desencadear a morte osteoclástica, limitando assim a reabsorção óssea. Mais recentemente, usando um modelo de implantação de cômulo femoral *in vivo* estabelecido em modelos de ratos osteoporóticos, analisamos a capacidade osteogênica de implantes metálicos revestidos com nanopartículas de CaP carregadas com alendronato (ALN) e

concluímos que o uso de revestimentos de superfície nCaP / BP representa uma estratégia efetiva para melhoria sinérgica da integração ósseo-implante, especialmente em condições osteoporóticas (figura 14).

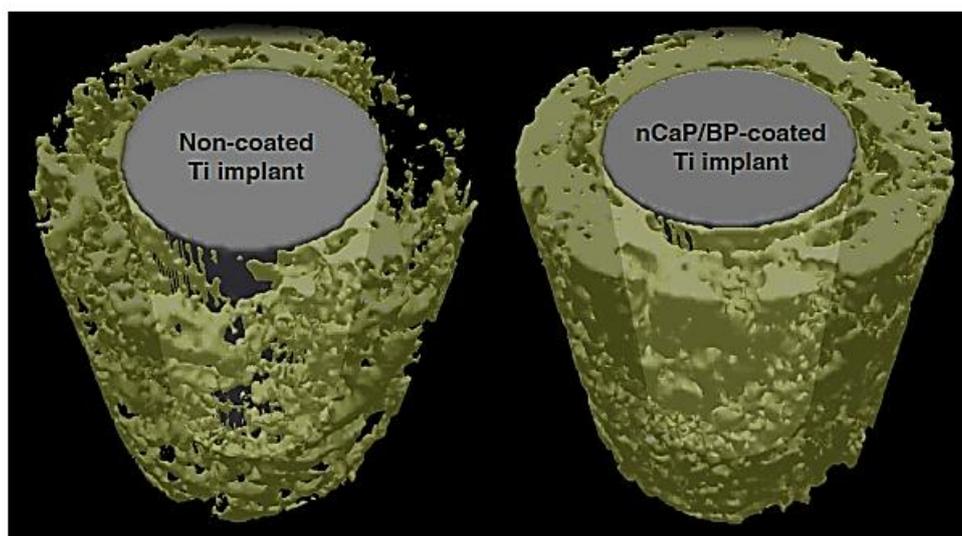
Os dados de Pyo et al. (2014) sugerem ainda que os implantes revestidos com CaP e zoledronato (ZOL) melhorem a qualidade dos ossos e preservem o volume ósseo em torno dos implantes. Além disso, o efeito aditivo do ácido zoledrônico (ZA) nos revestimentos de implante (por imersão em solução de ZA 1 mg / ml por 24 horas) na cicatrização óssea em condições osteoporóticas foi confirmado usando implantes inseridos em tíbias de ratos OVX. A potência das BPs é determinada pela presença de cadeias laterais específicas (grupos R1 e R2), que se ligam a minerais ósseos e inibem a reabsorção óssea. Especificamente, as moléculas nitrogenadas de BP (por exemplo, ALN, ZOL) inibem a enzima farnesil pirofosfato (FPP) sintase, interrompendo assim a via do mevalonato, que reduz a função e a atividade osteoclástica (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014).



Drug Discovery Today: Disease Models

Figura 13. Representação esquemática indicando possíveis aplicações de entrega local de medicamentos para osseointegração. (a) Vários medicamentos podem ser carregados na superfície do implante e, subsequentemente, liberados nas proximidades do implante. (b) Os agentes liberados localmente são especulados para cooperar na regulação do processo osteogênico periimplantar, que incluem BMPs (proteína morfogenética óssea), proteína WNT e estrogênio, aumentando assim a diferenciação e mineralização de osteoblastos. Fonte: (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014)

Os revestimentos com hidroxiapatita parcialmente substituída por 10% de estrôncio (10% de SrHA) foram depositados na superfície de implantes utilizando um método de revestimento por imersão sol-gel. Comparado aos implantes de controle, o revestimento à base de SrHA a 10% poderia melhorar a osseointegração do implante em ratos osteoporóticos. Em contraste, Du et al. (2009) hipotetizou que as estatinas promovam a osteogênese em torno de implantes de titânio em indivíduos com osteoporose. Seus resultados indicaram que a sinvastatina melhorou significativamente a osseointegração de implantes de titânio puro em um modelo de rato OVX. Do mesmo modo, Yang et al. (2012) investigou a resposta óssea a uma superfície de implante poroso carregado com sinvastatina em um modelo de rato osteoporótico e observou uma quantidade aumentada de tecido ósseo e contato osso-implante ao longo da superfície em comparação com implantes de controle. Aparentemente, as superfícies de implante poroso carregadas com sinvastatina têm o potencial de melhorar a osseointegração do implante em condição osteoporótica (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014).



Drug Discovery Today: Disease Models

Figura 14: Imagens μ CT tridimensionais *ex vivo* mostrando a formação óssea (em amarelo) em torno dos implantes (em cinza) no modelo de rato com osteoporose. A utilização de um revestimento à base de bifosfonatos (direita) aumentou significativamente a formação óssea na proximidade do implante em comparação com o implante não revestido (esquerdo). Fonte: (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014)

Esta revisão resume o papel benéfico dos implantes ósseos revestidos por superfície (isto é, bioativos e farmacológicos) em condições ósseas osteoporóticas. Avanços recentes na pesquisa de biomateriais estimulam o desenvolvimento de revestimentos terapêuticos para superar os problemas associados à comprometimento da osseointegração e à cicatrização de fraturas em condições osteoporóticas. Estes revestimentos incluem agentes que inibem o processo de reabsorção óssea (por exemplo, fármacos anti-catabólicos) e aqueles que aceleram / aumentam o processo de formação óssea (por exemplo, fármacos anabolizantes) (ALGHAMDI, BEUCKEN e JANSEN, 2014).

3.10 Revestimentos com fragmento de fibronectina melhoram a osseointegração do parafuso de aço inoxidável em ratos saudáveis e osteoporóticos

Os implantes de metal são amplamente utilizados em tratamentos cirúrgicos atuais em relação a fraturas ósseas, fusões espinhais e artroplastias articulares, e outras aplicações craniofaciais e dentárias. Em particular, as placas, parafusos e pinos de aço inoxidável (SS) são amplamente utilizados como dispositivos de fixação de fratura óssea devido às suas propriedades mecânicas, resistência à corrosão e custo-benefício quando comparados com outros implantes metálicos. Por exemplo, o aço inoxidável melhorou a resistência ao cisalhamento em relação ao titânio. Os dispositivos para fixação de fraturas SS são tratamentos convencionais para fraturas em pacientes com osteoporose. O principal problema no tratamento das fraturas osteoporóticas, que são caracterizadas por uma fraca massa óssea, é a fixação instável decorrente do afrouxamento e corte do parafuso, com taxas variando de 5 a 23%. Da mesma forma, a fixação do parafuso transpedicular representa o padrão-ouro no tratamento de deformidades da coluna vertebral, espondilolistese, fraturas traumáticas e reconstruções após ressecção do tumor espinhal. O desprendimento de parafusos pediculares representa uma grande complicação desses procedimentos de fixação da coluna vertebral. Estudos com critérios radiológicos bem definidos documentaram altas taxas de afrouxamento (18-27%). Além de contribuir para a quebra e falha na instrumentação (11% de incidência), o afrouxamento dos parafusos resulta em dor, perda do alinhamento da coluna e aumento da incidência de pseudoartrose. O afrouxamento do parafuso tem

uma incidência significativamente maior na fixação de corpos vertebrais com baixa densidade mineral ou em pacientes com osteoporose, distúrbios neuromusculares ou terapia pós-irradiação.

Segundo AGARWAL, GARCÍA, et al. (2015), a rugosidade da superfície mostrou aumentar a diferenciação e mineralização dos osteoblastos. Além disso, o aumento da rugosidade da superfície resulta na produção de fosfolipase A2 em osteoblastos que, em seguida, catalisa a prostaglandina E2 e faz com que os osteoblastos respondam a hormônios sistêmicos, como 1,25-(OH)₂D₃. Os implantes de titânio colocados na tíbia de rato que sofreram ataque com ácido fluorídrico exibiram significativamente maior contato ósseo-implante em comparação com aos implantes não tratados. Da mesma forma, o resultado da experiência se repetiu em fêmur distal de coelho. Em contraste, Kang et al. (2015) implantou mini parafusos SS, que foram usinados ou tratados a laser, na maxila de cães e não encontraram melhorias no contato ósseo-implante. Da mesma forma, as estacas SS ásperas e suaves implantadas no fêmur distal de coelhos não mostraram diferenças na osseointegração. Esses estudos destacam as dificuldades na identificação dos parâmetros de rugosidade superficial / topografia necessários para a osseointegração melhorada. A hidroxiapatita (HA) e outros revestimentos de fosfato de cálcio (CaP) aplicados nas superfícies dos implantes também demonstraram promover a osseointegração. Os implantes de titânio com revestimentos de CaP mostraram um contato ósseo significativamente maior na diáfise femoral da cabra em comparação com implantes não revestidos em 6-, 12- e 24- semanas. No entanto, tais revestimentos são frequentemente mecanicamente instáveis e difíceis de aplicar uniformemente em implantes com formas complexas, limitando assim o seu uso. Os bisfosfonatos foram propostos para melhorar a osseointegração de implantes em ossos ósseos e osteoporóticos. Os bisfosfonatos reduzem a reabsorção do osso no estágio inicial causada por trauma cirúrgico pela inibição de osteoclastos. Os revestimentos de bisfosfonato em implantes dentários de titânio na maxila humana resultam em fixação melhorada. Estes procedimentos de revestimento, no entanto, são bastante complexos e requerem modificação química de implantes. Além disso, o uso sistêmico de bisfosfonatos tem sido associado ao maior risco de fraturas femorais atípicas em mulheres levantando problemas de segurança.

3.10.1 Implantações de parafusos

Em uma pesquisa realizada por AGARWAL, GARCÍA, et al. (2015) foram usadas ratas de 8 a 10 semanas de vida e utilizados em dois estudos. Para o estudo 1, ratos saudáveis foram usados na idade de 10 a 12 semanas. Para o estudo 2, animais ovariectomizados (OVX) ou animais com operações simuladas (cirurgicamente operados de forma semelhante a ratos OVX, exceto que os ovários não foram cauterizados) foram utilizados três meses após a ovariectomia (idade de 25 a 27 semanas no momento da cirurgia). O estado osteoporótico em indivíduos ovariectomizados foi confirmado por tomografia computadorizada microfônica (μ CT) da tíbia proximal. Para a varredura μ CT, um comprimento de 3,125 mm da tíbia proximal foi escaneado em ratos vivos anestesiados na perna direita usando um sistema VivaCT (Scanco Medical, Wayne, PA, EUA). A estrutura óssea foi avaliada através do contorno de fatias 2D para incluir apenas o osso trabecular.

Para implantação, a tíbia proximal foi exposta por uma incisão longitudinal de 1,5 cm através da pele. O músculo foi separado usando dissecação sem corte. Usando uma broca de diâmetro 1,7mm, um furo foi feito aproximadamente 2 a 5 mm distal da metáfise tibial. Os implantes foram parafusados no orifício, os músculos suturados e a pele foi fechada através de cliques de ferida. Cada rato recebeu um parafuso por tíbia (dois por rato) com cada animal recebendo parafusos não revestidos e revestidos com FN7-10 com grupo de revestimento de implante aleatorizado entre as pernas esquerda e direita. As ratas foram autorizadas a suportar seu peso imediatamente após a cirurgia sem restrições (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

3.10.2 Análise de osseointegração

Os animais foram sacrificados em 4 ou 12 semanas de pós-implantação e as tíbias foram colhidas. Por seção, as tíbias foram fixadas em formalina tampão neutro e processadas através de notas ascendentes de etanol seguidas de xileno antes da incorporação em metacrilato de metilo. Após a incorporação, as seções ásperas foram cortadas para 50 μ m. As seções foram coradas usando a Mancha de Osso Rápido de Sanderson com um contra-teste de Van Gieson para distinguir o tecido mineralizado (vermelho) de outros tecidos moles. As amostras pré-carregadas (1,0 N) foram então submetidas a uma taxa de carga constante de 0,2 N / seg. A

força de extração (N), paralela ao eixo longo do implante, foi a carga máxima alcançada antes do desprendimento ou falha no implante (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

3.10.3 Adsorção passiva de FN7-10 em SS

A proteína FN7-10 recombinante foi produzida com alta pureza (> 95%) e atividade biológica determinada por coloração com gel, Western Blot e ELISA usando o anticorpo mimético do receptor HFN7.1. O perfil de adsorção para FN7-10 em SS apresentou uma dependência hiperbólica da concentração de revestimento FN7-10, com aumentos lineares com baixas concentrações de FN7-10 e atingindo níveis saturados em torno de 30 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (figura 15). Uma concentração de revestimento de 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$ foi selecionada para todas as experiências subsequentes, o que resultou numa densidade superficial de $56,1 \pm 5,3 \text{ ng} / \text{cm}^2$ ($1,1 \pm 0,10 \text{ pmol} / \text{cm}^2$). O perfil de adsorção para SS mostrado na figura 17 é consistente com o de titânio previamente relatado. A uma concentração de revestimento de 50 $\mu\text{g} / \text{mL}$, a densidade de superfície FN7-10 é similar para ambas as superfícies: $1,1 \pm 0,1 \text{ pmol} / \text{cm}^2$ para SS versus $1,4 \pm 0,2 \text{ pmol} / \text{cm}^2$ para titânio (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

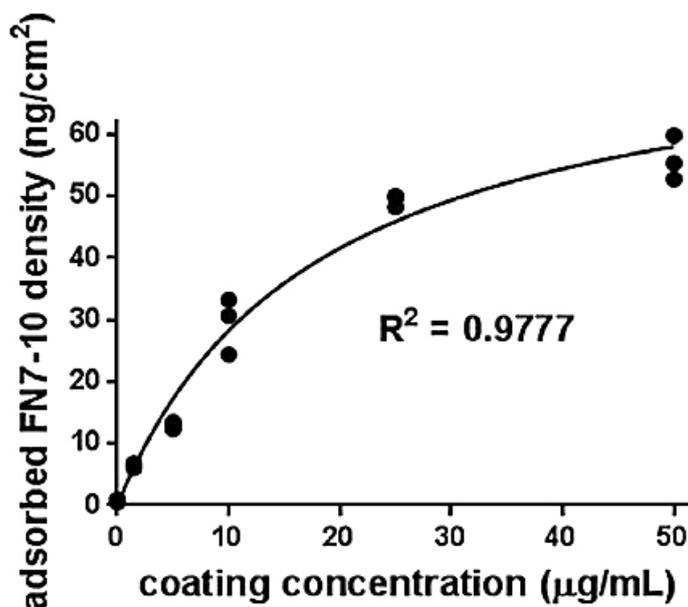


Figura 15: Adsorção de FN7-10 em implantes de SS em função da concentração do revestimento de FN7-10. Ajuste da curva hiperbólica (densidade de adsorção de FN7-10 = $78,8 * \text{concentração} / [17,9 + \text{conc.}]$, $R^2 = 0,98$). Fonte: (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015)

3.10.4 O revestimento FN7-10 promove a adesão das células hMSC e a diferenciação osteoblástica

hMSCs foram cultivados em superfícies SS revestidas com FN7-10 e não revestidas em meio contendo soro. hMSCs expressam níveis elevados de várias integrinas de ligação à fibronectina incluindo $\alpha 5\beta 1$. As células cultivadas em superfícies SS revestidas com FN7-10 apresentaram maiores níveis de adesão a 1 h em comparação com superfícies não revestidas (figura 16). A densidade de adesão celular foi duas vezes maior em SS revestido com FN7-10 em comparação com SS não revestido (figura 16C) ($p < 0,002$). As células em SS revestido com FN7-10 também apresentaram maior área de espalhamento do que as células em SS não revestido (figura 16D) ($p < 0,03$). Os estudos de bloqueio com anticorpos específicos da integrina demonstraram que os hMSCs aderiram principalmente ao SS revestido com FN7-10 através da integrina $\alpha 5\beta 1$ ($p < 0,0001$) (figura 17A). Em contraste, a adesão de hMSC a SS não revestido não foi bloqueada por anticorpos de bloqueio $\alpha 5\beta 1$ (figura 17B) (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

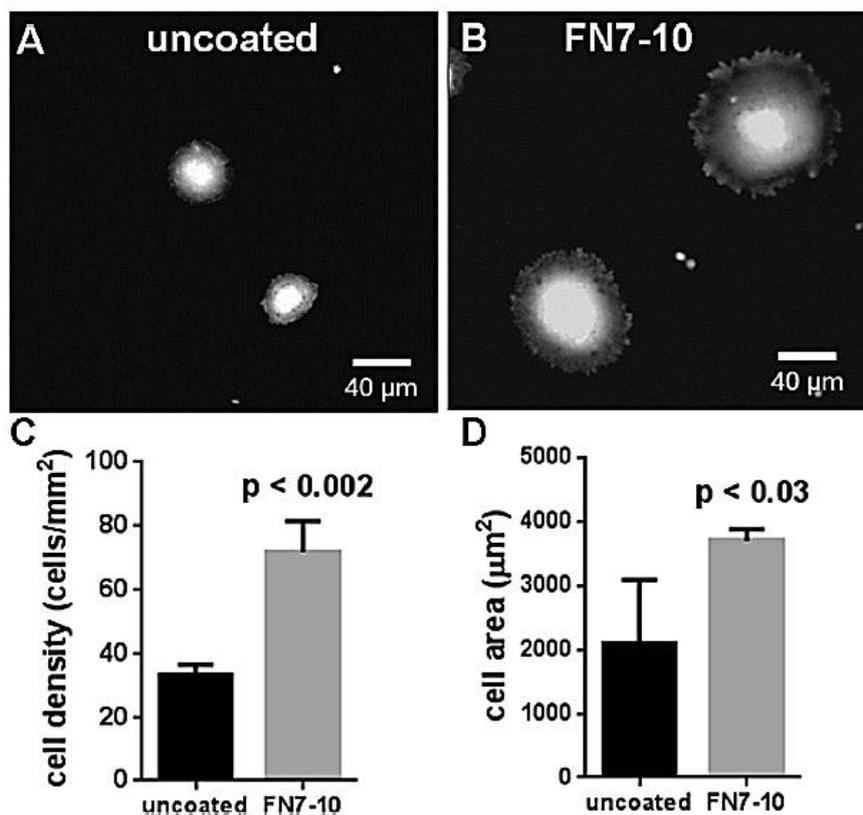


Figura 16: O revestimento FN7-10 aumenta a adesão e a dispersão celular no SS. Imagens de microscopia de fluorescência do hMSCs coradas com calceína e cultivadas em SS (A) não revestidas e SS (B) revestidas com FN7-10. Quantificação da (C) densidade de células aderentes e (D) área de espalhamento de células para hMSCs cultivadas em superfícies revestidas e não revestidas com FN7-10. Fonte: (AGARWAL, GARCÍA, et al., 2015)

3.10.5 O revestimento FN7-10 melhora a osseointegração do implante SS em ratos saudáveis

Os parafusos SS foram revestidos com FN7-10 simplesmente incubando-os em solução FN7-10 durante 30 min antes da cirurgia e um parafuso foi implantado na metáfise tibial de cada perna. Nos 1 e 3 meses após a implantação, os ratos sofreram eutanásia e a força de extração do implante e osso foi medida. Os parafusos SS revestidos com FN7-10 exibiram uma força de extração de 30% maior do que os parafusos não revestidos no 1º mês de implantação ($p < 0,01$) (figura 18A). Da mesma forma, o revestimento FN7-10 aumentou a fixação mecânica dos parafusos SS para o osso aos 3 meses em 45% em comparação com os parafusos não revestidos ($p < 0,03$) (figura 18B) (AGARWAL, GARCÍA, et al., 2015).

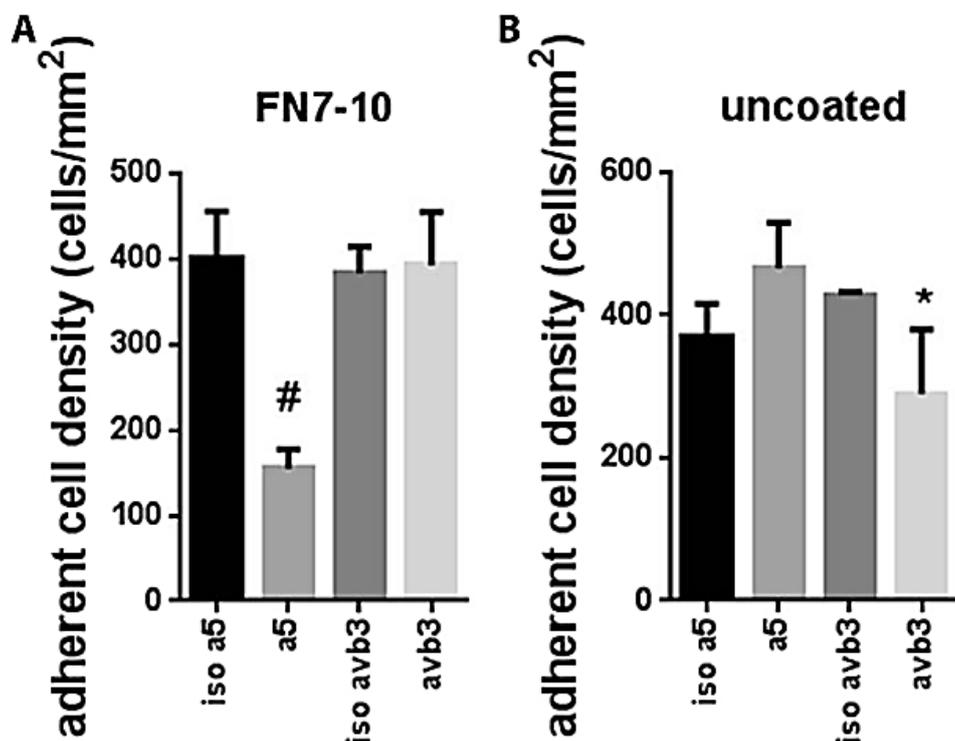


Figura 17: Estudos de bloqueio com anticorpos específicos para integrinas. Densidade de células aderentes em (A) SS revestidos com FN7-10 e (B) SS não revestidos na presença de anticorpos de controle de bloqueio ou isótipo. # $p < 0,002$ $\alpha 5$ vs. controle do isótipo, * $p < 0,05$ $\alpha v\beta 3$ vs. controle do isótipo. Fonte: (AGARWAL, GARCÍA, et al., 2015)

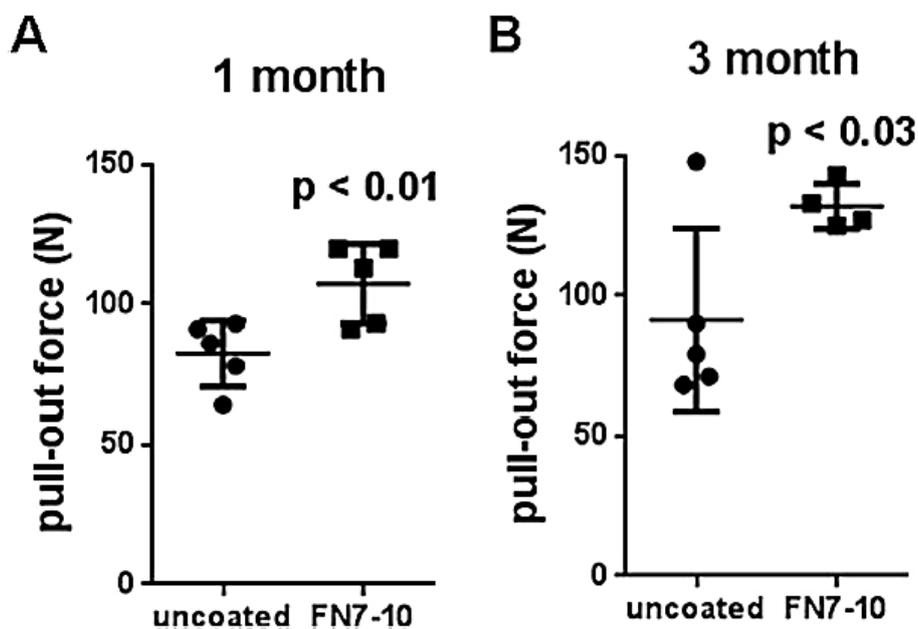


Figura 18: Fixação mecânica dos parafusos SS ao osso conforme determinado pela força de extração em ratos saudáveis em (A) 1 mês e (B) 3 meses pós-implantação. Valores experimentais ($n = 4 - 5$ por grupo) e média \pm desvio padrão são mostrados. Fonte: (AGARWAL, GARCÍA, et al., 2015)

3.10.6 O revestimento FN7-10 melhora a osseointegração de parafusos SS em ratos osteoporóticos

A osteoporose leva à destruição da microestrutura óssea e do osso trabecular, e essas reduções na massa óssea levam ao aumento do risco de fraturas. Importante, a perda de massa óssea resulta em osseointegração fraca dos implantes. Para testar se o revestimento FN7-10 em SS aumenta a osseointegração do implante neste estado doente desafiador, utilizamos ratos ovariectomizados como modelo de osteoporose. Para confirmar a osteoporose, animal vivo μ CT foi utilizado 3 meses após a ovariectomia. A proporção de volume ósseo para volume total (BV / TV) na metáfise tibial foi calculada para ratos controlados ovariectomizados e simulados. As análises de μ CT demonstraram reduções significativas na fração do volume ósseo trabecular de ratos ovariectomizados (BV / TV: $0,09 \pm 0,03$) em comparação com ratos simulados (BV / TV: $0,33 \pm 0,07$) ($p < 0,001$) (figura 19). Após a confirmação da osteoporose, implantamos parafusos SS revestidos e não revestidos com FN7-10 em ratos osteoporóticos e simulados. Para os ratos osteoporóticos e simulados, os parafusos SS revestidos com FN7-10 apresentaram fixação mecânica significativamente maior aos 1º e 3º meses pós-implantação em comparação com os parafusos não revestidos (figura 20). Importante, os revestimentos FN7-10 reforçaram a força de extração do osso para osso SS em 57% ($p < 0,03$) e 32% ($p < 0,05$) sobre os parafusos não revestidos em ratos osteoporóticos aos 1º e 3º meses, respectivamente (figura 20A). Os aumentos observados na força de extração para parafusos revestidos com FN7-10 em comparação com parafusos não revestidos para controles operados por simulação (figura 20B) são consistentes com os aprimoramentos na fixação mecânica em ratos saudáveis (figura 18). Em conjunto, esses resultados demonstram que os revestimentos de FN7-10 aplicados aos parafusos SS aumentam significativamente a fixação mecânica dos implantes ósseos em ratos saudáveis e osteoporóticos (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

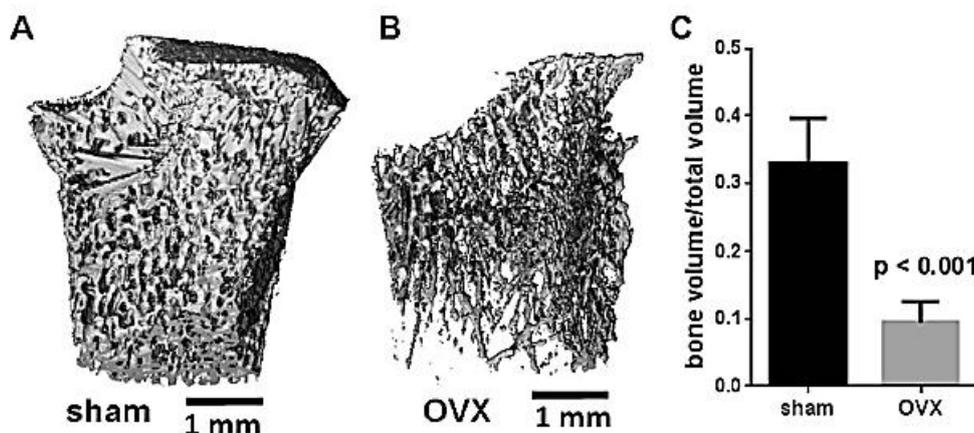


Figura 19: Verificação do estado osteoporótico em ratos ovariectomizados. Reconstruções mCT 3D de metáfise tibial aos 3 meses após ovariectomia para ratos (A) operados em simulação e (B) ovariectomizados (OVX). C) Relação do volume ósseo trabecular com o volume total (BV / TV) 3 meses após a ovariectomia. Fonte: (AGARWAL, GARCÍA, et al., 2015)

Em consonância com os aprimoramentos na fixação mecânica do parafuso, observou-se um aumento de 30% no crescimento do osso para os parafusos revestidos com FN7-10 em relação aos parafusos não revestidos ($p < 0,003$) (figura 21).

A principal contribuição deste estudo realizado por AGARWAL, GARCÍA, et al. (2015) é a aplicação bem sucedida desta estratégia de revestimento simples para melhorar a osseointegração de implantes em um modelo de osteoporose. Notavelmente, o presente estudo é o primeiro relatório que mostra que uma estratégia baseada em peptídeo adesivo melhora a osseointegração do implante SS em um modelo osteoporótico. Os revestimentos de CaP e bisfosfonato demonstraram melhor ressecção da osseointegração no osteoporose ósseo, porém a adsorção passiva simples de FN7-10 possui vantagens significativas em relação às estratégias de revestimento complexas utilizadas para revestimentos com fosfato de cálcio e bisfosfonato.

revestimentos de FN7-10 tenham levado a um aumento significativo nas forças de retirada em ratos osteoporóticos, as forças resultantes foram 25% menores que as de ratos operados simuladamente. Essa diferença nas forças de retirada reflete as poucas propriedades mecânicas e o potencial de osseointegração limitado da osteoporose (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015).

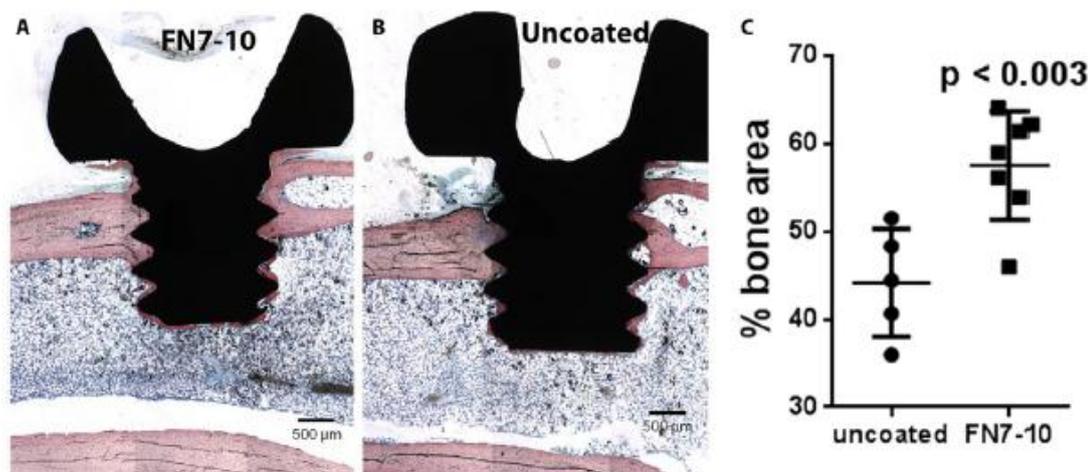


Figura. 21. Contato implante-osso e crescimento ósseo para dentro das roscas dos parafusos. Cortes histológicos corados com o contraste Mancha de Osso Rápido de Sanderson com um contra-teste de Van Gieson dos ratos osteoporóticos aos 3 meses pós-implantação em ratos com osteoporose para (A) parafusos SS revestidos com FN7-10 e (B) sem revestimento. (C) Contato implante-osso e crescimento ósseo para dentro das roscas de parafuso em ratos osteoporóticos após 3 meses pós-implantação. Fonte: (AGARWAL, GARCÍA, *et al.*, 2015)

Concluindo, a adsorção simples do fragmento de fibronectina recombinante FN7-10 em SS promove a adesão dependente de integrina $\alpha 5\beta 1$ e diferenciação osteogênica de hMSCs. Importante, os parafusos SS revestidos com FN7-10 melhoraram significativamente a fixação mecânica do osso-implante e o contato ósseo em ratos saudáveis e osteoporóticos.

3.11 O efeito do magnésio na osseointegração em osso osteoporótico

O magnésio está fortemente envolvido no metabolismo ósseo, tanto como fator mitogênico para os osteoblastos quanto como fator de proteção da reabsorção óssea excessiva.

A deficiência de magnésio estimula a ativação dos osteoclastos, devido à produção de radicais livres. Mecanismos potenciais de menor formação óssea quando o magnésio é reduzido são as sínteses reduzidas do hormônio da paratireoide e da vitamina D. Além disso, o metabolismo mineral e a calcificação no osso são influenciados por íons Mg e mineralização anormal pode ocorrer quando os níveis séricos de magnésio são baixos (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

Mini-parafusos de titânio grau IV com 1,5 mm de diâmetro e 2,5 mm de comprimento, foram revestidos com uma camada de TiO₂. Uma mistura precursora de titânia contendo etóxido de titânio (IV) (Aldrich) e ácido clorídrico (HCl, 37%, Aldrich) foi depositada nos mini-parafusos. Os parafusos revestidos foram imersos em solução de cloreto de magnésio (MgCl₂) na concentração de 10 mg / ml, servindo como fonte de íons de magnésio. A deposição de íons Mg foi realizada em 50 parafusos, enquanto os outros 50 foram deixados como titânia mesoporosa nativa, sem adição de Mg, e serviram como controle. 24 ratas, com 6 meses de idade, foram incluídas neste estudo. Condições semelhantes à osteoporose foram induzidas nas ratas por meio de ovariectomia e dieta pobre em cálcio. Os mini-parafusos com ou sem dopagem com magnésio (grupos teste e controle) foram alocados aleatoriamente em ambos os lados dos membros posteriores. Cada rato recebeu um parafuso em cada tíbia e um parafuso em cada fêmur, para um total de quatro parafusos por animal, dois testes e dois controles. Após 1, 2 e 7 dias de cicatrização, os ratos sofreram eutanásias. Depois do sacrifício, os implantes da tíbia e do fêmur foram explantados e fixados com etanol a 70% por 4 semanas. Em seguida, a infiltração em resina metilmetacrilato foi realizada por 5 semanas. As amostras foram cortadas ao longo do eixo longitudinal até uma espessura de aproximadamente 40 µm. E, então, observado no microscópio óptico (figura 22) (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

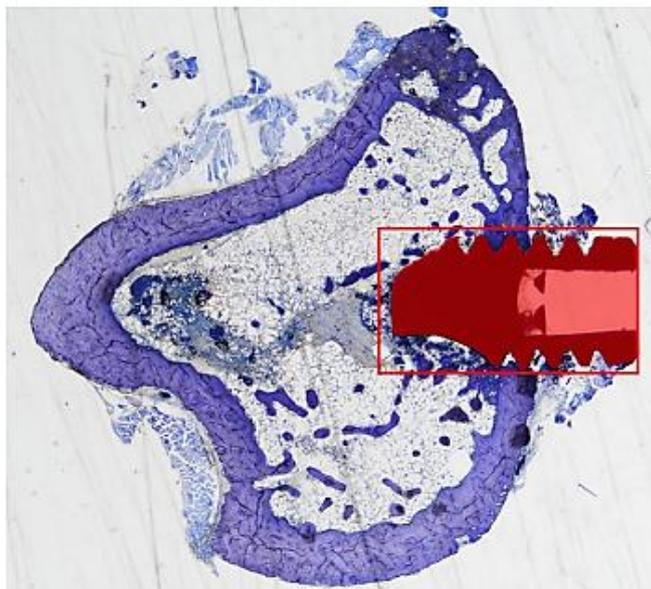


Figura 22: Imagem de microscopia de luz de um implante na tíbia de ratos. A espessura da cortical óssea é pequena e algumas áreas de degeneração óssea são visíveis. A aparência do osso é sugestiva de condições osteoporóticas. O quadrado vermelho representa a região de interesse selecionada para as medidas histomorfométricas. A nova formação óssea (NB%) foi calculada como a área preenchida com osso novo sobre a área dentro do retângulo vermelho, excluindo a parte ocupada pelo implante (em vermelho). Fonte: (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017)

Uma imagem representativa da superfície fina de TiO_2 é apresentada na (figura 23a). Ele mostra o alto nível de porosidade alcançado com o nosso tratamento, com poros distribuídos homogeneamente, voltados para fora da superfície. A espessura do revestimento foi avaliada em uma área com um arranhão e foi de aproximadamente 200 nm (Figura 23b). Não foram observadas diferenças entre os revestimentos com ou sem íons de magnésio (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

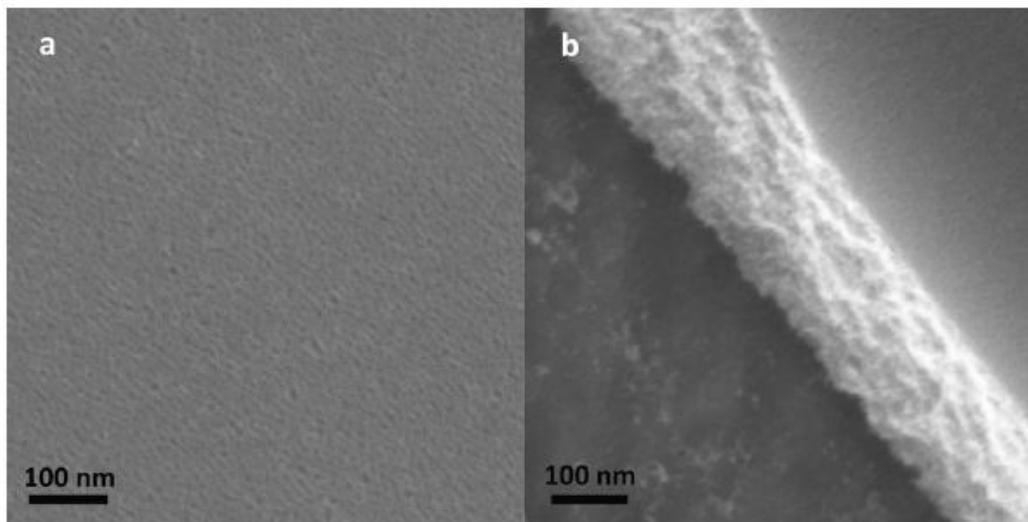


Figura 23: Micrografias SEM dos filmes mesoporosos de titânia nas superfícies dos implantes. (a) A fina película mesoporosa apresenta um alto grau de porosidade. (b) Uma área no filme mesoporoso foi arranhada para visualizar a espessura do revestimento. Fonte: (GALLI, STOCCHERO, et al., 2017)

As imagens do dia 1 da cicatrização revelaram que as superfícies dos implantes estavam envoltas por uma rede solta de fibras finas, levemente coradas, aderentes às superfícies dos implantes. Células extravasadas de vasos sanguíneos foram encontradas (glóbulos vermelhos, plaquetas e leucócitos) dentro da parcela de fibras. Ocasionalmente, fragmentos ósseos, remanescentes do processo de perfuração, foram encontrados ao redor dos implantes. As células próximas às superfícies dos implantes tinham um aspecto achatado (figura 24a). Células com finos grânulos citoplasmáticos sugestivos de mastócitos estavam claramente localizadas na proximidade dos implantes (figura 24b). A área da fina região cortical acoplada aos parafusos mostrou trincas e restos ósseos, como consequência do processo de perfuração. Nenhuma diferença substancial foi notada entre os implantes de teste e controle. No dia 2, o coágulo sanguíneo apareceu espessado e aderente às superfícies dos implantes, preenchendo o espaço entre a osteotomia e as superfícies dos implantes. A matriz de fibrina foi espessada nas superfícies dos implantes e no fundo dos fios. O aspecto foi sugestivo de coágulo sanguíneo organizado (figura 25) (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

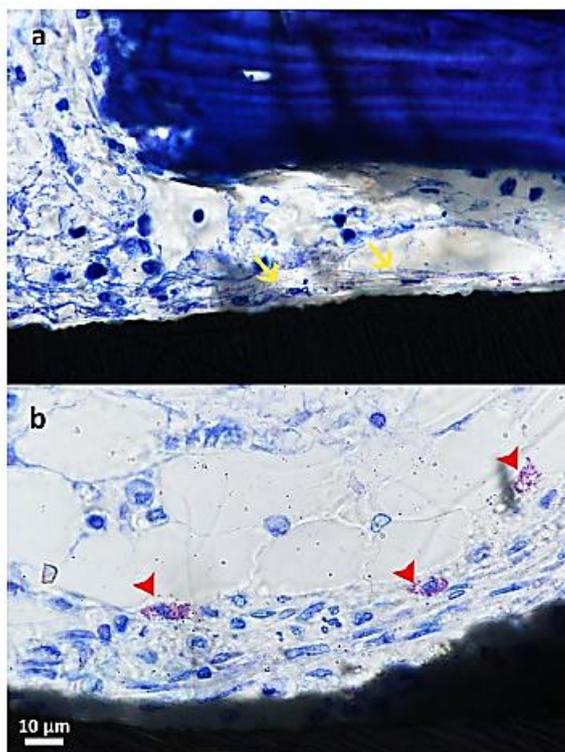


Figura 24: Imagens de microscopia de luz de lâminas histológicas de um espécime de magnésio (a) e um de controle (b) 1 dia após o implante. Uma rede de fibras soltas envolve as superfícies dos implantes e adere a elas. Células sanguíneas extravasadas são reconhecíveis no coágulo sanguíneo. As células próximas às superfícies dos implantes têm uma forma achatada e um aspecto semelhante a fibroblastos (setas amarelas). Células com finos grânulos citoplasmáticos sugestivos de mastócitos são visíveis na proximidade do implante (setas vermelhas). Ampliação $\times 1000$. Coloração com azul de toluidina. Fonte: (GALLI, STOCCHERO, et al., 2017)

Nos espécimes aos 7 dias, observou-se que o coágulo sanguíneo e o tecido de granulação foram substituídos por estroma do tecido conjuntivo com áreas de formação de osteóide claramente visíveis. Nesse tempo de cicatrização, o osso trançado já era visível tanto nas bordas do osso velho quanto nos fragmentos ósseos e nas superfícies dos implantes (figura 26). A análise histomorfométrica revelou que a formação óssea foi cerca de duas vezes mais pronunciada em torno dos implantes de liberação de Mg do que em torno dos implantes sem magnésio (NB% 3,9 vs. 2,1% dentro do ROI, respectivamente, $p = 0,028$) (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

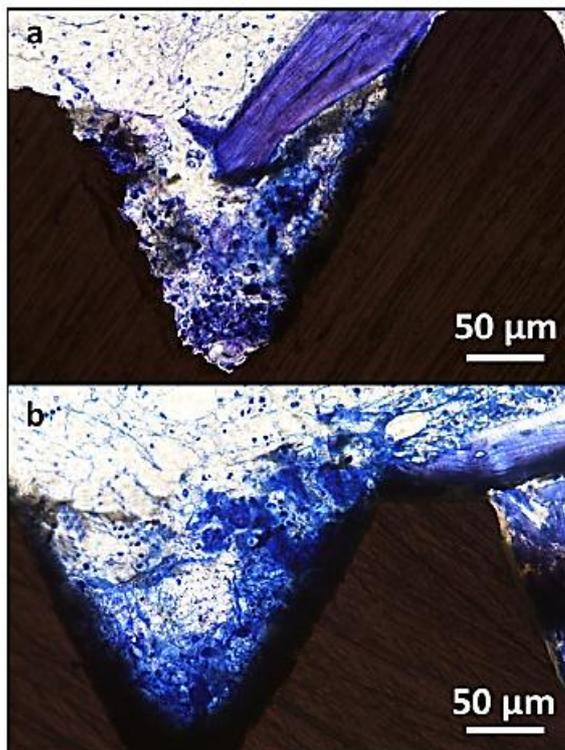


Figura 25: Imagens de microscopia de luz das amostras de teste (a) e controle (b) após 2 dias de cicatrização em osso de rato. O coágulo sanguíneo aparece mais organizado e mais intensamente corado do que no dia 1. Uma rede de fibrina densamente organizada, contendo um grande número de células, adere às superfícies dos implantes, especialmente na correspondência dos vales dos fios do implante. Ampliação $\times 400$. Coloração com azul de toluidina. Fonte: (GALLI, STOCCHERO, et al., 2017)

Os resultados sugerem que o efeito do magnésio pode ser mediado pela regulação positiva da BMP6 (proteína morfogenética óssea 6), a qual desempenha um papel importante na indução da osteogênese. É que a BMP6 tem uma relação funcional com 17β estradiol (E2), o esteroide gonadal feminino responsável pela osteoporose em mulheres pós-menopáusicas. A deficiência de estrogênio provoca uma redução na capacidade de regeneração óssea, provavelmente como consequência da diminuição da expressão de BMPs, e especialmente da BMP6. Esta relação entre o BMP6 e os estrogênios levou os pesquisadores a testar o BMP6 como um agente anabólico para promover a formação da matriz óssea na osteoporose. Curiosamente, a administração sistêmica de BMP6 em ratas ovariectomizadas poderia restaurar o volume ósseo e as características mecânicas do osso em um nível comparável àqueles de controles saudáveis (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017). No entanto, existem alguns problemas com relação à

aplicação local e sistêmica de BMPs devido a seus altos custos e possíveis efeitos colaterais da administração de fatores de crescimento recombinantes. Assim, a descoberta de que o Mg pode aumentar significativamente a expressão endógena de BMP6 nas proximidades do implante sugere que a dopagem com Mg pode ser uma alternativa relativamente acessível e segura para estimular uma resposta anabólica em torno de implantes colocados em locais com osteoporose.

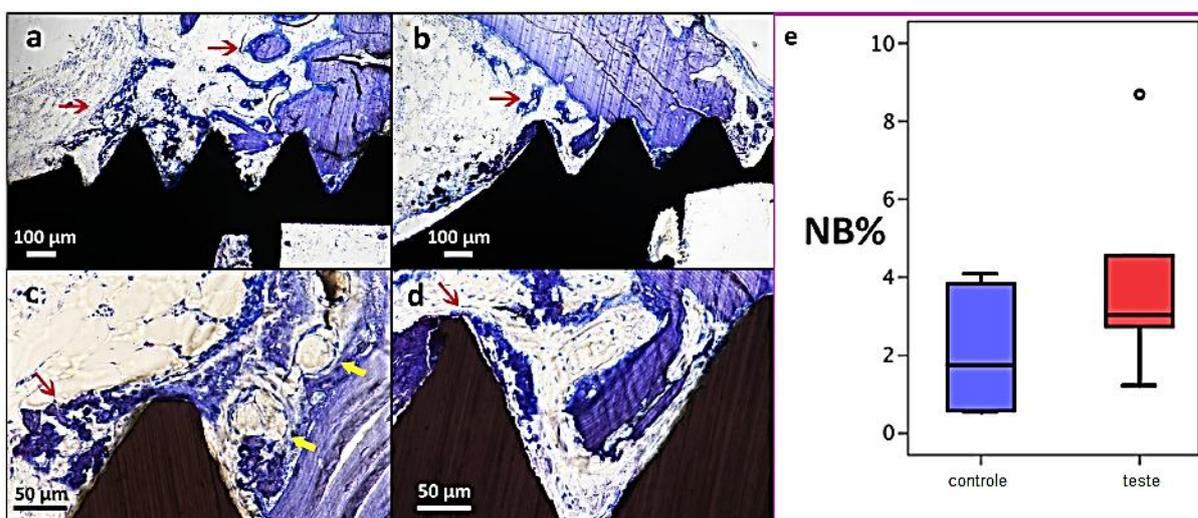


Figura 26: Imagens de microscopia de luz de revestimentos de titânia mesoporosos carregados com magnésio (a e c) e nativos (b e d) de implantes de titânio após 7 dias de cicatrização. O coágulo de sangue não é mais visível e foi substituído por um tecido de granulação onde as estruturas vasculares estão se formando (setas amarelas). O osso trançado está se formando a partir das superfícies do osso-mãe, mas também nas superfícies do implante (setas vermelhas). Áreas de formação de osteoide são observáveis. Maior quantidade de osso novo é encontrada em torno das superfícies carregadas com Mg em comparação com os controles. Imagens (a) e (b) ampliação de 100 x. Imagens (c) e (d), ampliação de 400 x. Coloração com azul de toluidina. A imagem e o gráfico da caixa (e) dos resultados histomorfométricos da nova área óssea (NB%) que preencheu a região de interesse. A linha central do gráfico de caixa exibe a média dos grupos, enquanto o sinal de grau exibe um anexo das amostras. A diferença entre o grupo é estatisticamente significativa ($p = 0,028$). Fonte: (GALLI, STOCCHERO, et al., 2017)

Outro motivo que pode explicar o melhor desempenho do implante com Mg é que a presença de Mg^{2+} no meio de cultura celular que tem sido relatada como promotora da adesão direta de pseudópodes celulares a substratos, provavelmente através de um mecanismo mediado pela integrina. Os íons Mg são mais eficazes do que quaisquer outros cátions bivalentes (cálcio, estrôncio e bário) na indução de ligação celular e disseminação em diferentes substratos. No presente estudo, pudemos observar células semelhantes a fibroblastos achatadas na superfície dos implantes tratados com Mg, logo no 1º dia, e foi possível notar um ligeiro aumento

na fixação das superfícies carregadas com Mg. Especialmente naqueles casos com redução do volume ósseo e conseqüente risco de micro movimentação do implante, a promoção da adesão e disseminação celular pode ser benéfica para a rápida osseointegração, diminuindo o risco de soltura do implante (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

Outro benefício do Mg na saúde óssea é a estimulação da vascularização. Tem sido sugerido que a deficiência de magnésio pode causar diminuição na formação de vasos sanguíneos e em seus volumes e, portanto, no suprimento de sangue, o que pode ser uma causa indireta do desenvolvimento da osteoporose. Pelo contrário, a suplementação de Mg auxilia a proliferação e a função das células endoteliais. De acordo com essa hipótese, observamos uma organização mais rápida de novos vasos sanguíneos ao redor dos implantes de teste e também uma acentuada regulação positiva do VEGFA, fator A de crescimento para as células endoteliais vasculares. Além disso, descobriu-se que o VEGF produzido por osteoblastos é um fator potencialmente crucial para a diferenciação das MSCs (células-tronco mesenquimais) em relação às células de formação óssea e aos adipócitos.

Os resultados mostraram que, posteriormente, após a colocação do implante, o coágulo se formou ao redor dos implantes. A formação de tecido ósseo já era visível após 7 dias de instalação do implante e o novo volume ósseo ao redor dos parafusos foi significativamente maior para os espécimes com magnésio. O perfil de expressão gênica dos marcadores envolvidos nas vias da osteogênese e da osteoporose revelou uma significativa regulação positiva da BMP6, um marcador especificamente associado ao estrogênio e com uma forte atividade anabólica no osso osteoporótico, em torno das superfícies dopadas com magnésio (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

3.12 Gálio e silício podem promover sinergicamente a osseointegração de ossos osteoporóticos

Gálio, um metal pertencente ao grupo 13 (IIIA) da tabela periódica, foi descoberto pelo químico francês Paul Emile. Estudos mostraram o efeito inibitório de Ga na atividade osteoclástica, alterando as propriedades minerais e da matriz do

osso. Depois de tratado *in vivo* com nitrato de gálio, partículas ósseas retirado da região da metafise mostraram um aumento na densidade óssea, uma taxa mais alta de acúmulo de cálcio no osso e um aumento no conteúdo de cálcio e fosfato nos ossos. Essas alterações foram associadas a uma redução acentuada na solubilidade físico-química dos minerais ósseos tratados com gálio. Além das reduções na solubilidade físico-química bruta, o osso tratado com nitrato de gálio é significativamente mais resistente à osteólise mediada por células. O nitrato de gálio também diminuiu significativamente a reabsorção óssea induzida *in vivo*. Um modelo de reabsorção *in vivo* emprega implantes subcutâneos de pastilhas ósseas retirados de ratos tratados com Ga. Os resultados mostraram que o tempo para o desaparecimento do implante de pastilhas ósseas tratadas com Ga é muito mais longo do que os controlos não tratados (LIU, WU, *et al.*, 2017).

Comparado com os inibidores de reabsorção óssea estabelecidos, por exemplo, os bisfosfonatos, o Ga também mostra a sua eficácia. Ensaio clínicos randomizados foram conduzidos para comparar a eficiência do nitrato de gálio com os bisfosfonatos (etidronato e pamidronato) no tratamento da hipercalcemia em pacientes com câncer. Os resultados demonstraram que o nitrato de gálio por infusão contínua é superior ao etidronato e pelo menos tão eficaz quanto o pamidronato no controle dos níveis elevados de cálcio no sangue. O nitrato de gálio também mostrou ser superior à calcitonina, uma droga não-bisfosfonada usada no tratamento da hipercalcemia. Esses efeitos do Ga na liberação de cálcio nos ossos fazem com que o Ga seja um dos únicos agentes antirreabsortivos.

Além de inibir a reabsorção óssea, o Ga pode aumentar a massa óssea alterando a síntese proteica da matriz óssea. Por exemplo, Ga induziu um aumento da expressão gênica de colágeno-1 e fibronectina e nível de proteína em células osteoblásticas (LIU, WU, *et al.*, 2017).

O silício é um dos elementos químicos mais abundantes na natureza. No corpo humano, pode ser detectado em todos os tecidos do corpo, mas é encontrado principalmente no sangue e particularmente no osso. Si é um modulador indispensável na formação óssea. As concentrações de Si no osteoide são 25 vezes maiores do que nas áreas circundantes e seu conteúdo diminui gradualmente à medida que a calcificação ocorre, o que infere que o Si atua como um iniciador da mineralização. No estudo *in vitro*, foi sugerido que o Si promoveu a adesão, proliferação, diferenciação e função dos osteoblastos e seus precursores. A

aderência preferida dos osteoblastos à superfície de HA tratada com sílica comparada com a superfície de HA pura sugere que ela pode beneficiar o crescimento de células de osteoblastos e a formação de novos ossos. Quando tratados com Si solúvel, os osteoblastos mostraram uma diminuição na apoptose, também uma organização nodular da camada celular, que é um comportamento osteoblástico distinto, e um citoesqueleto bem definido composto de uma complexa rede de filamentos de actina foi mais evidente em culturas celulares tratadas com Si. Esses efeitos resultam em uma proliferação significativa de osteoblastos. O Si foi capaz de induzir um aumento na atividade da ALP, o que sugere um alto grau de diferenciação osteogênica do precursor dos osteoblastos (LIU, WU, *et al.*, 2017).

Os efeitos anabólicos ósseos do Si também são confirmados por estudos *in vivo*. Os testes mecânicos de retirada após duas semanas de implantação em fêmur de rato mostraram que o implante carregado com Si melhorou a força de fixação do implante em comparação com implantes de Ti puro. Quando o implante de titânio revestido com HA carregado com Si, mostrou uma quantidade significativamente maior de contato osso-implante (BIC) em comparação com a modificação sem HA, esses resultados sugerem que o Si promove a formação óssea precoce em torno do implante dentário (GALLI, STOCCHERO, *et al.*, 2017).

Além dos efeitos anabólicos do Si nos ossos, seus efeitos na osteoclastogênese e na reabsorção óssea também foram relatados. O Si solúvel abaixo de 500 μM não alterou a atividade metabólica dos osteoclastos nem a reabsorção nos discos revestidos com CaP. Mas um efeito negativo direto na diferenciação e função dos osteoclastos foi observado em concentrações mais altas, o que sugere que este processo pode ser considerado como uma contribuição adicional do Si no anabolismo ósseo.

Os agentes terapêuticos para a osteoporose dividem-se em amplas categorias, seja inibir a reabsorção óssea (agentes antirreabsortivos, como os difosfonatos) ou estimular a formação óssea (agentes anabólicos dos ossos, como a hormônios paratireoides). Embora os estudos em terapia combinada por agentes antirreabsortivos e agentes anabólicos ósseos para pacientes com osteoporose tenham sido conduzidos recentemente, os resultados estão longe do otimismo. Porque as drogas que inibem a reabsorção óssea geralmente também reduzem a formação óssea, e aquelas que estimulam a formação óssea também aumentam a reabsorção óssea. Esses efeitos síncronos tiraram a eficácia das drogas

antirreabsortivas tradicionais e dos anabolizantes ósseos. Pelo contrário, o Si apresenta seu potente efeito anabólico ósseo enquanto reduz, ou pelo menos não aumenta a reabsorção óssea, e vice-versa para Ga. Portanto, supomos que a combinação da função anabólica óssea do Si e a função antirreabsortiva de Ga resultarão em efeitos sinérgicos na melhoria da osseointegração sob condição osteoporótica (LIU, J. et al.,2017).

Os medicamentos geralmente são tomados por via oral ou administrados por via intravenosa e intramuscular. No entanto, a administração de medicamentos através de vias sistêmicas muitas vezes não é eficaz para a cirurgia de implantes, uma vez que as drogas não podem atingir prontamente a interface de implantes e tecidos e essas drogas também têm os efeitos colaterais. A administração local de fármacos oferece muitas vantagens, por exemplo, doses mais baixas necessárias, duração prolongada de liberação, prevenção de locais não alvos afetados e biodisponibilidade melhorada, evitando a rápida destruição e eliminação de fármacos. Desta forma, implantes carregados com a combinação de Ga e Si podem ser um método promissor para melhorar a osseointegração em torno do implante. No entanto, antes da aplicação clínica, mais estudos são necessários para confirmar sua segurança e especificidade em casos clínicos (LIU, WU, *et al.*, 2017).

3.13 Tabagismo e Diabetes na Osseointegração

Está bem documentado que fumar e diabetes prejudicam a cicatrização óssea e promovem a inflamação. Mas, a literatura sobre o efeito do tabagismo e diabetes na sobrevivência do implante está se tornando cada vez mais controversa. No passado, a colocação do implante era contraindicada nesses pacientes devido ao alto risco de falha do implante e comprometimento da osseointegração. Nos últimos anos, dados mistos surgiram. Alguns têm mostrado taxas de sucesso para implantes dentários nestes pacientes semelhantes aos da população em geral. Outros enfatizaram o aumento do risco de falha e relacionaram isso ao design do implante. No entanto, a principal causa de falha do implante devido ao tabagismo e diabetes continua sendo a alteração dos processos biológicos envolvidos na osseointegração e manutenção dos níveis ósseos periimplantares (RAZZOUK e SARKIS, 2013).

Como a biologia demonstra um alto grau de variabilidade entre os indivíduos, a resposta óssea à colocação de implantes em fumantes e diabéticos permanece imprevisível e dependente da genotipagem de cada pessoa. Tal variabilidade sugere uma diferença na expressão de genes envolvidos no processo de osseointegração entre indivíduos fumantes e diabéticos.

Epigenética refere-se a alterações moleculares do DNA que alteram a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA, tipicamente através de alterações nas proteínas da cromatina que alteram a acessibilidade do DNA para a transcrição, permitindo que alguns genes sejam ativados e outros sejam silenciados. Sabe-se que dois mecanismos principais estão envolvidos em tais eventos: metilação do DNA e deacetilação das histonas. A metilação do DNA é a adição do grupo metil nas ilhas CpG, geralmente localizadas na região promotora. A deacetilação da histona é a eliminação do grupo acila, levando à compactação da cromatina. Tais alterações genéticas modulam a transcrição gênica, afetando a diferenciação e função de muitos tipos celulares, incluindo células ósseas. De fato, muitos estudos mostraram que os mecanismos epigenéticos estão envolvidos na diferenciação dos osteoblastos, bem como na atividade de reabsorção osteoclástica, modulando assim a densidade mineral óssea (RAZZOUK e SARKIS, 2013).

O fumo e o diabetes são os principais fatores de risco para a inflamação, nos quais ocorre uma ruptura da rede epigenética. Como resultado, a osseointegração do implante pode ser perturbada. Portanto, sua contribuição para as mudanças epigenéticas tem provado ser central.

Associações entre tabagismo e metilação global do DNA levaram a eventos patológicos. De fato, estudos recentes mostraram que a hipermetilação na região promotora de genes supressores de tumor induziu a repressão desses genes em muitos tipos de câncer, incluindo câncer de cabeça e pescoço. Além disso, o tabagismo foi comprovado para ter um impacto sobre o metabolismo ósseo e produção de estrogênio levando, assim, a um fenótipo característico de baixa densidade mineral óssea. Na verdade, a expressão gênica de proteínas da matriz óssea, incluindo osteopontina, o colágeno tipo II, a proteína morfogenética óssea-2 e a osteoprotegerina foram significativamente regulados negativamente pelos componentes do tabagismo, diminuindo a osseointegração. Em conjunto, isso sugere que o efeito do tabagismo é mediado por alterações epigenéticas que

contribuem para o defeito de cicatrização óssea e para a osseointegração tardia (RAZZOUK e SARKIS, 2013).

Estudos descreveram uma associação entre diabetes e alterações epigenéticas. De fato, a desregulação das modificações epigenéticas pós-transcricionais das histonas na cromatina, incluindo a metilação da histona lisina, tem sido implicada na regulação gênica aberrante associada à patologia do diabetes e suas complicações. Os dados destacaram o papel da acetilação das histonas como uma função dominante específica no desenvolvimento da linhagem pancreática e sua capacidade de modular a determinação das células pancreáticas. A metilação do DNA também foi implicada nos genes do paciente com diabetes tipo II. A doença óssea diabética é caracterizada por baixa renovação óssea com progressão da doença. Ensaio clínico suportam uniformemente o fato de que a nova formação óssea e microarquitetura óssea e, portanto, as qualidades ósseas estão alteradas em ambos os tipos de diabetes. A expressão de genes envolvidos na cicatrização óssea está alterada em pacientes diabéticos. Além disso, estudos conduzidos em camundongos diabéticos demonstraram que alterações esqueléticas foram associadas à diminuição da expressão gênica de proteínas da matriz óssea (osteocalcina, proteína relacionada ao hormônio paratireoide - PTHrP), fatores de transcrição envolvidos na diferenciação osteoblástica (Runx2, osterix) e osteoprotegerina ao receptor ativador da relação mRNA do fator nuclear kappa B.. Além disso, resultados no metabolismo ósseo indicaram a existência de uma alça endócrina osso-pâncreas através da qual a sinalização de insulina no osteoblasto garante a diferenciação dos osteoblastos e estimula a produção de osteocalcina, que, por sua vez, regula a sensibilidade à insulina e a secreção pancreática de insulina. De fato, os níveis séricos de osteocalcina foram significativamente aumentados em pacientes com diabetes tipo II. Como resultado, a alteração da cicatrização óssea no diabetes é mediada por modificações epigenéticas (RAZZOUK e SARKIS, 2013).

Devido a esses novos conceitos, a terapia farmacológica evoluiu rapidamente para atingir moléculas específicas implicadas diretamente na patologia óssea metabólica. Nos últimos anos, grandes empresas farmacêuticas começaram a investir em medicamentos específicos que atuam em alterações epigenéticas, como os inibidores da histona desacetilase. Além disso, outras drogas que atuam na reabsorção óssea tornaram-se disponíveis, por exemplo, a terapia com anticorpos

monoclonais (denosumabe, canaquinumabe), inibidores de protease (odanacatib) e drogas anabólicas (teriparatida). Além disso, novas moléculas serão disponibilizadas visando a serotonina e a terapia com siRNA.

É difícil avaliar o papel de um fator de risco único no resultado da terapia com implantes porque, invariavelmente, existem muitos outros fatores de infestação além do ambiental (em particular, tabagismo e diabetes) que contribuem para o resultado da osseointegração. Por exemplo, fatores genéticos (polimorfismo, herança genética) que afetam a consolidação óssea contribuem significativamente para o processo de osseointegração. Portanto, a realidade é que pacientes individuais geralmente apresentam mais de um fator de risco, e grupos de pacientes são tipicamente heterogêneos em relação a fatores de risco e suscetibilidades. Curiosamente, nem todos os indivíduos que fumam ou sofrem de diabetes têm prejudicado significativamente a resposta óssea e esse é o principal enigma na biologia geral, especialmente na biologia óssea. A triagem de pacientes com comprometimento ósseo daqueles que são sólidos é essencial para o sucesso clínico na implantodontia. Como tal, é extremamente imprudente generalizar o mesmo manejo clínico para todos os pacientes; em vez disso, é aconselhável personalizar o tratamento de acordo com as características específicas do paciente. Finalmente, a interpretação dos sinais e sintomas clínicos é subjetiva e de valor prognóstico limitado para o sucesso do implante. Assim, a identificação de genes que controlam ou modificam aspectos da resposta do hospedeiro pode fornecer um método para identificar indivíduos predispostos a um risco elevado de falha do implante. Nessa perspectiva, a avaliação de alterações epigenéticas, medindo a quantidade de metilação do DNA em um grupo de genes e / ou avaliar a renovação óssea é de grande interesse. Novas tecnologias que permitem realizar o perfil individual através da identificação de genes, proteínas e metabólitos surgiram e permitem a medição do impacto dos fatores ambientais no metabolismo ósseo (RAZZOUK e SARKIS, 2013).

Por mais de três décadas, a pesquisa de implantes concentrou-se no projeto de implantes para melhorar a osseointegração, ignorando o processo biológico; é hora de mudar de lado e colocar a ênfase na biologia, enquanto nos esforçamos para melhorar o atendimento ao paciente e obter resultados confiáveis.

3.14 Osseointegração de implante em osso irradiado.

A maioria dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço é tratada por cirurgia e radioterapia adjuvante, e esses procedimentos geralmente culminam em uma anatomia alterada da cavidade oral e dos ossos maxilares. As alterações ósseas relacionadas à radioterapia são devidas à diminuição da proliferação da medula óssea, seguida da hiperemia induzida por lesão vascular e, finalmente, à endarterite e diminuição da microcirculação. No final, a consolidação óssea comprometida e a viabilidade reduzida foram sugeridas. Além disso, há redução da matriz óssea com modificação da morfologia do canal ósseo após a radiação.

A possibilidade do uso de próteses implanto-suportadas funciona como uma opção importante para esses pacientes. No entanto, as alterações ósseas mencionadas acima podem aumentar a taxa de falha dos implantes e o sucesso da reabilitação de implantes está diretamente relacionado tanto à dose de radiação quanto a quanto tempo após a irradiação o implante será colocado. Os riscos de osteonecrose de radiação e falha de integração óssea foram ambos associados com doses superiores a 50 Gy (unidade no Sistema Internacional de Unidades de dose absorvida). Na tentativa de resolver complicações radioterápicas e efeitos colaterais, e para melhorar a osseointegração de implantes em osso irradiado, vários estudos têm sido realizados. O plasma rico em plaquetas (PRP), que é obtido por centrifugação do próprio sangue do paciente, é considerado uma fonte de fatores de crescimento que podem ser usados no reparo de tecidos moles e mineralizados. A ação do PRP ocorre na degranulação plaquetária com consequente liberação de fatores de crescimento, como fatores de crescimento derivados de plaquetas (a, b e ab), fatores de crescimento transformadores ($\beta 1$ e $\beta 2$), fator de crescimento endotelial vascular e fator de crescimento epitelial. Estudos revelaram que o uso de PRP na terapia com implantes pode resultar em: melhor contato entre o osso e o implante; aumento da resposta óssea ao redor dos implantes; aumento do volume ósseo (BV); e melhora na maturação óssea (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Um estudo com 18 coelhos machos com aproximadamente 3 kg cada foram divididos em três grupos de seis animais. Dois implantes de titânio (com dupla rosca com superfícies polidas por deca-pagem) com diâmetro de 3,75 mm por 9,0

mm de comprimento foram colocados na epífise proximal de ambas as tíbias, totalizando 72 implantes. Os animais foram divididos da seguinte forma:

Grupo I: coelhos não irradiados;

Grupo II: coelhos irradiados;

Grupo III: coelhos irradiados e uso de PRP como adjuvante do procedimento de colocação de implantes (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Os animais do grupo de teste receberam uma dose única de 1727 cGy (dose biológica eficaz, BED), 40 dias antes da instalação do implante usando um dispositivo em bolus de 0,5 cm para aumentar a dose superficial (figura 27).

Para o grupo III, o PRP foi preparado individualmente para cada animal. Um total de 9 ml de sangue foi coletado da veia da orelha e colocado em dois tubos de ensaio. O sangue foi centrifugado a 200 g por 15 min para obter uma aparência trifásica (a camada inferior contendo elementos celulares, uma zona intermediária turva com leucócitos e a camada superficial contendo plasma e plaquetas). O PRP foi introduzido nas cavidades cirúrgicas preparadas para receber os implantes, que foram instalados da maneira convencional (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Todos os animais foram mortos 40 dias após a inserção do implante. As epífises foram removidas e embebidas em metilmetacrilato. Eles foram seccionados com um sistema de micro grânulos EXACT 400CS para obter lâminas ósseas de aproximadamente 10 μ m, que foram então coradas com azul de toluidina.

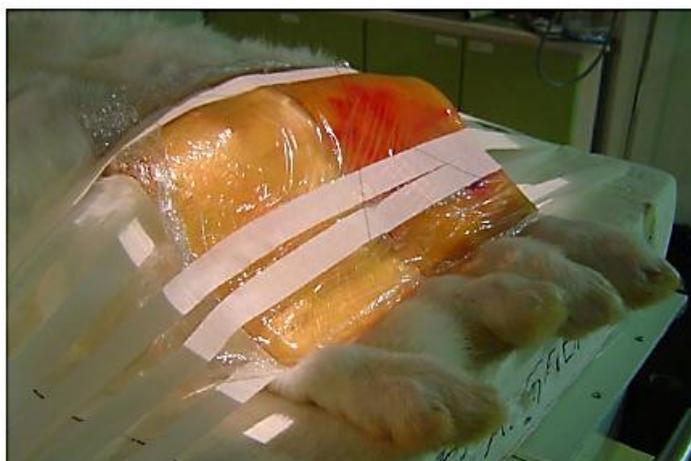


Figura 27: Procedimento de irradiação: orientação das pernas antes da irradiação e uso de dispositivo em bolus (0,5 cm), em vermelho. Fonte: (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017)

Três medidas foram feitas para cada lado do implante: o BV, que é o tecido ósseo total entre as espirais do implante; a superfície total do implante em contato com osso maduro (BIC - osso maduro); e a superfície total do implante em contato com osso imaturo (BIC - osteoide). O BIC total foi considerado a soma dos dois últimos valores (figura 28), e calculado da seguinte forma: BIC total (%) é igual à extensão da superfície do BIC (mm) (figura 28B), dividido pela extensão total da superfície do implante (mm) (figura 28A) e multiplicado por 100 (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

O BV foi medido em relação a uma área de referência, representada pela soma das áreas entre todos os pináculos dos parafusos do implante. A porcentagem da área de referência preenchida pelo osso foi medida para determinar a densidade óssea relativa de cada grupo. O cálculo do BV foi obtido pela formação óssea total na área de referência (mm²; figura 28D) dividido pela área de referência (mm²; figura 28C) e multiplicado por 100 (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

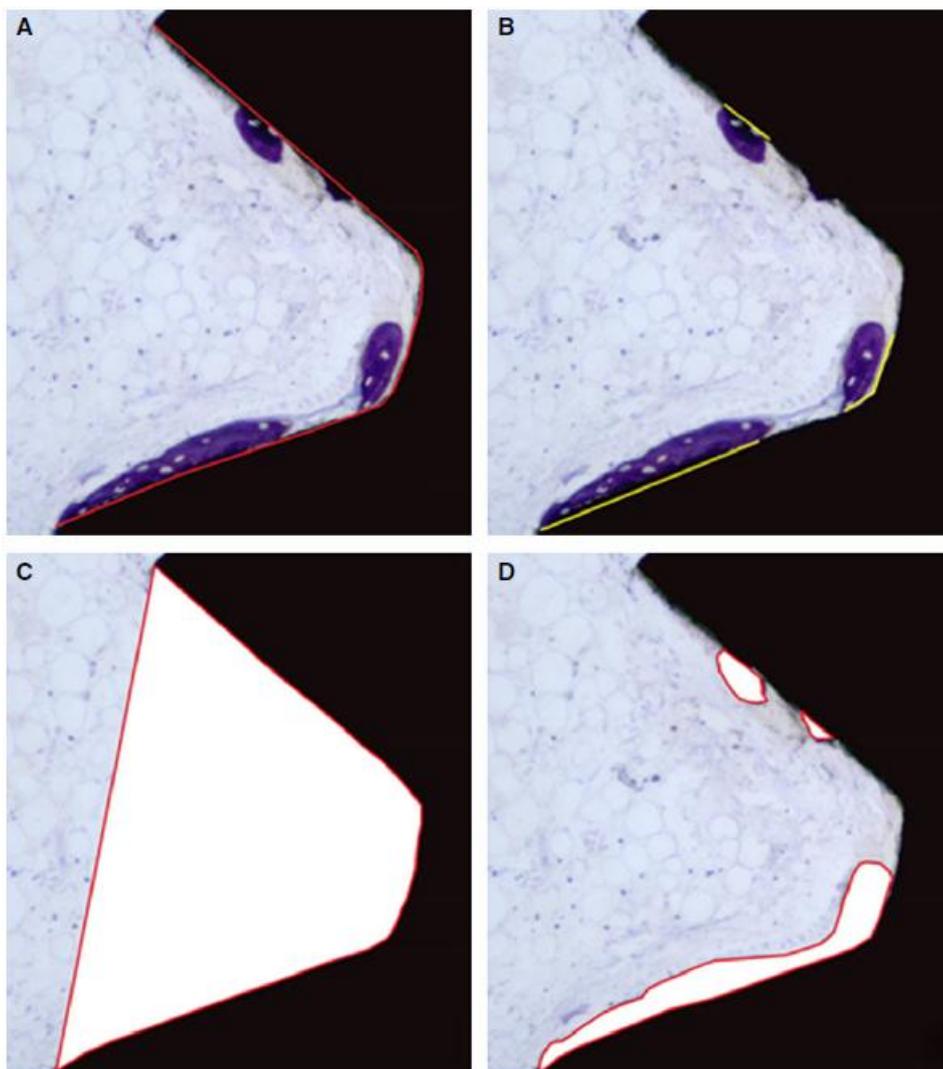


Figura 28: Análise quantitativa da interface osso-implante. Todas as imagens mostram a mesma região entre dois espirais do implante e foram analisadas pelo software IMAGE Pro-PLus 5.1.2.59. Grande área preta é o implante de titânio. (A) A linha vermelha mostra a extensão da área de referência. (B) A linha amarela mostra a extensão do osso para implantar o contato entre as roscas. (C) Área de referência é mostrada. (D) Área ocupada por osso novo formado dentro da área de referência. Coloração com azul de toluidina. Ampliação x40. Fonte: (OCAÑA, RABELO, et al., 2017)

Todos os coelhos do grupo I apresentaram características de cicatrização normais de acordo com o tipo de cirurgia realizada, enquanto todos os coelhos do grupo II e quatro coelhos do grupo III apresentaram deiscência de sutura cirúrgica. Além disso, todos os coelhos irradiados (grupo II e III) desenvolveram alopecia devido à radioterapia. Em relação à estabilidade do implante, no grupo I todos os 24 implantes apresentaram estabilidade clínica 40 dias após a instalação. Nos animais irradiados, três implantes no grupo II e um implante no grupo III apresentaram

mobilidade após 40 dias. Esses implantes com mobilidade foram considerados como um processo de osseointegração fracassado (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

O exame histológico mostrou evidência de nova formação óssea ao longo do implante, mesmo no canal medular. As regiões superior e inferior dos implantes, que estavam em contato direto com o osso cortical, revelaram BV mais elevada. O osso neoformado foi mais evidente no grupo I, com condição intermediária no grupo III e menor no grupo II (figura 29).

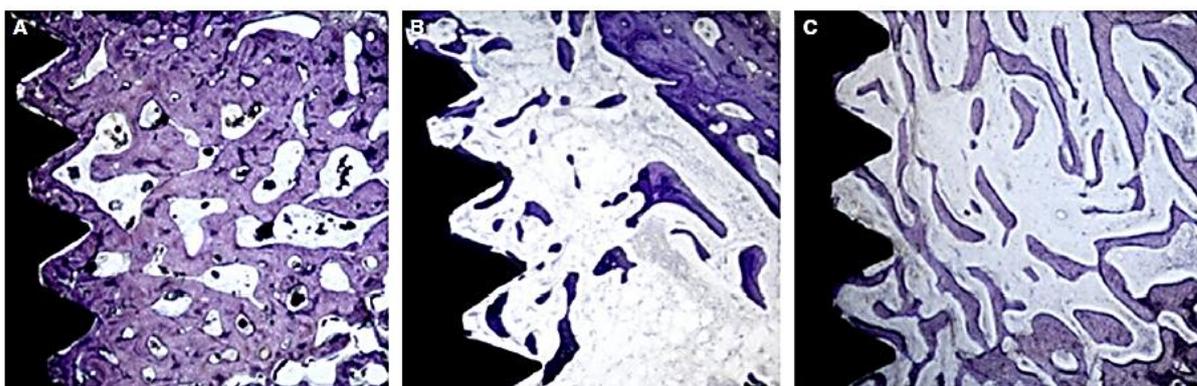


Figura 29: Interface osso-implante revelando o volume ósseo por grupo, com maior volume ósseo no grupo I (A), menor volume ósseo representado no grupo II (B) e condição intermediária no grupo III (C). Ampliação x40. Coloração com azul de toluidina. Fonte: (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017)

Não houve diferenças significativas entre o grupo controle e os animais irradiados em relação ao contato do implante com o osso imaturo (osteóide). No entanto, houve diferença significativa comparando os dois grupos irradiados, com o grupo II revelando mais superfície do implante em contato com o osteóide do que o grupo III. Em relação ao osso maduro em contato com o implante e BIC total (osteóide e osso maduro juntos), o grupo controle apresentou os maiores valores, seguido pelos grupos III e II, sendo que o grupo II apresentou os menores valores, todos com diferenças significativas (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Os resultados da BV revelaram a mesma tendência dos parâmetros avaliados em relação ao BIC, com maiores valores de BV no grupo controle (41,3%), seguidos pelos grupos III (33,4%) e II (25,1%), respectivamente. Houve diferenças significativas entre os grupos I e II e II e III. Curiosamente, não houve diferença significativa entre os grupos não irradiado e irradiado com PRP na densidade óssea.

Neste estudo, os grupos irradiados apresentaram menos BIC que o grupo controle. Porém, as taxas de osseointegração foram altas nos três grupos, mesmo

após a irradiação. No entanto, com o PRP como adjuvante, o VB foi semelhante nos grupos controle e irradiado (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Características corticais também foram observadas na parte esponjosa, desenvolvida ao redor de toda a superfície do implante. Nesta avaliação, resultados semelhantes revelaram osso recém-formado em contato com todas as superfícies dos implantes. Além disso, a fixação do implante em ambos os córtices garantiu condições ótimas para a remodelação óssea. A evidência da osseointegração nos córtices circundantes revelou que a neoformação óssea ocorre com maior frequência nesses locais do que nas regiões que cruzam os espaços medulares, evidenciada nos três grupos (Figura 28) (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Para avaliar o processo de osseointegração após a radioterapia, foram instalados 24 implantes em osso normal e 48 implantes em osso irradiado. A perda de implantes após a radioterapia ocorreu apenas em quatro casos. As taxas de falha foram consideradas baixas, com apenas três casos no grupo II e um no grupo III. A taxa de viabilidade do implante nesses grupos foi de 87,5% e 95,8%, respectivamente, em comparação com 100% no grupo controle. Alguns fatores que influenciaram negativamente na sobrevivência dos implantes foram instalação na maxila, instalação secundária à radioterapia e alta dose de radioterapia (> 70 Gy). Estes resultados apontam para a possibilidade de realizar implantes em ossos irradiados.

Sabe-se que o PRP estimula a mitose e a angiogênese, que está relacionada à presença de grande quantidade de fatores de crescimento. Nesta avaliação, o uso do PRP juntamente com a instalação do implante aumentou o BIC total após a radiação, quando comparado ao grupo de terapia de radiação isolado. O presente estudo, além da evidência de osseointegração, houve valores significativamente menores de densidade óssea e BIC em grupos de radioterapia. Surpreendentemente, o grupo II apresentou o maior valor da superfície do implante em contato com o osteóide. Esses achados apontam para o fato de que, juntamente com a menor VB, a radiação parece retardar o processo de maturação óssea, pois o contato do osteóide apresentou valores mais elevados em relação aos não irradiados e irradiados com o uso do PRP (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

O PRP pode acelerar a mineralização óssea em condições específicas, como no osso irradiado. A maior quantidade de osteóide no grupo II comparado ao grupo III indica que o uso do PRP permitiu que o processo de mineralização

ocorresse de maneira diferente. Parece que o PRP promove uma situação intermediária entre os animais não irradiados e irradiados. Dessa forma, pode-se supor que um osso mais mineralizado em contato com a superfície do implante deve representar uma condição mais estável, com melhor resposta para carga imediata, por exemplo (OCAÑA, RABELO, *et al.*, 2017).

Em conclusão, o processo de osseointegração ocorreu após a instalação do implante no osso irradiado. BV e BIC foram maiores no grupo controle. No entanto, as taxas de falha dos implantes foram baixas em ambos os grupos irradiados. O PRP foi um adjuvante positivo no processo de osseointegração, revelando um benefício do uso do PRP após a radioterapia.

4. DISCUSSÃO

O resultado bem sucedido de qualquer procedimento de implante é principalmente dependente da inter-relação dos vários componentes que inclui o seguinte: biocompatibilidade do material do implante; superfície macroscópica e microscópica do implante; o estado da área receptora do implante, tanto em saúde como em contexto morfológico (qualidade óssea); a técnica cirúrgica; a fase de cicatrização não perturbada; as condições de carregamento (PARITHIMARKALAIIGNAN e PADMANABHAN, 2013).

Branemark e Albrektsson avaliaram o resultado de todos os implantes inseridos durante 1 ano e depois seguidos por 5 anos e encontraram uma taxa de sucesso de implante de 96,5% na mandíbula. Esta taxa de sucesso melhorada em comparação com os dados publicados por Adell et al. reflete uma verdadeira melhora no resultado, atribuída a meticulosa técnica cirúrgica e protética.

Muitos métodos foram testados para demonstrar clinicamente a osseointegração de um material implantado. Estes são:

1. Realizar um teste de mobilidade clínica e caso o implante esteja móvel é uma evidência definitiva de que ele não está integrado. A presença de estabilidade clínica não pode ser tomada como evidência conclusiva da osseointegração;

2. As radiografias que demonstram um contato aparentemente direto entre o osso e o implante foram citadas como evidência de osseointegração. As zonas radiolúcidas ao redor do implante são uma indicação clara de sua ancoragem no tecido fibroso, enquanto que a falta de tais zonas não é evidência de osseointegração. A razão para isso é que a capacidade de resolução ideal da radiografia está na faixa de 0,1 mm enquanto que o tamanho de uma célula de tecido mole está na faixa de 0,01 mm; assim, uma zona estreita de tecido fibroso pode ser indetectável pela radiografia;

3. O uso de um instrumento de metal para tocar o implante e analisar o som transmitido pode, em teoria, ser usado para indicar uma osseointegração adequada. No entanto, não há um "diagrama de som" típico definido para o implante osseointegrado em contraste a um implante ancorado em tecido fibroso. Portanto, testes clínicos dos implantes só são capazes de indicar grosseiramente as respostas do tecido.

Branemark realizou uma série de estudos in vivo sobre medula óssea e tecido articular com ênfase na reação tecidual a vários tipos de lesões: mecânica, térmica, química e reológica. Esses estudos, no início da década de 1960, sugeriram fortemente a possibilidade de osseointegração. Ele observou que as câmaras de titânio foram incorporadas inseparavelmente no tecido ósseo, que cresceu nos finos espaços do titânio (RAGHAVENDRA S JAYESH, 2015).

Após 20 anos de desenvolvimento experimental e clínico, foi selecionado um implante em forma de parafuso feito de titânio puro. Possuía um diâmetro de 3,7 mm e um comprimento de 10 mm. Isso permitiu seu uso em quase todas as maxilas edêntulas, independentemente do volume e da topografia do tecido ósseo restante. Um mínimo de quatro acessórios parece ser adequado para suporte de prótese total no maxilar edêntulo. No entanto, se for morfológicamente viável, seis implantes são instalados. A aplicação oral extra de implantes de titânio foi utilizada desde 1976.

Foram realizados estudos sobre a cicatrização e a estabilidade da ancoragem de implantes de titânio e sobre acessórios de vários tamanhos e desenhos. Eles descobriram que quando um implante foi introduzido na cavidade da medula e, após um adequado período de cicatrização imobilizado, um osso cortical compacto foi formado em torno do implante sem qualquer intervenção aparente de tecido mole entre o osso normal e a superfície do implante.

Eles realizaram estudos microscópicos em alta resolução sobre microcirculação humana e comportamento intravascular de células sanguíneas por meio da implantação de uma câmara de titânio óptico no interior do braço esquerdo de voluntários saudáveis. As experiências de longo prazo nessas câmaras não revelaram processos inflamatórios. Supôs que a ancoragem óssea de acordo com o princípio da osseointegração também pode funcionar em seres humanos e os primeiros pacientes edêntulos foram tratados em 1965 (RAGHAVENDRA S JAYESH, 2015). A fim de criar osseointegração é necessária que seja removida uma quantidade mínima de osso, que não deve ser alterada a topografia básica da região e que a retenção da prótese original ou provisória deve ser mantida durante o período de cicatrização.

Nas experiências clínicas demonstrou-se que os implantes foram ancorados no osso sem tecido fibroso, enquanto os dados experimentais apontam para uma osseointegração no nível ultraestrutural. Filmes de colágeno que se aproximam da superfície do óxido de titânio e separados apenas por uma camada

proteoglicana de 20-40 μm de espessura foram observados. Estudos sobre a importância do controle da técnica cirúrgica demonstraram que o tecido ósseo é muito mais sensível ao calor do que se acreditava anteriormente. Eriksson e Albrektsson descobriram que submeter implantes de titânio recém-inseridos a uma elevação de temperatura de 47° C perturbou significativamente a sua subsequente integração no leito ósseo. Haraldson mediu os níveis de força de mordida em pacientes com implantes dentários osseointegrados e descobriu que estes eram semelhantes aos níveis medidos em pacientes dentados com a mesma extensão da dentição. Branemark, Adell et al. e Lekholm et al., examinaram as reações dos tecidos moles aos pilares penetrantes e encontraram uma reação gengival saudável com poucas células inflamatórias. A investigação bacteriológica revelou que apenas cerca de 3% da microflora continha bactérias potencialmente perigosas, como espiroquetas. Até a data, nenhum outro sistema de implante dentário foi tão bem avaliado, tanto do ponto de vista experimental como clínico (PARITHIMARKALAIIGNAN e PADMANABHAN, 2013).

O tratamento com plasma pode ser utilizado como agente para alterar as propriedades de uma superfície. Plasma pode ser gerado com calor, denominado tratamento com plasma térmico, muitas vezes com baixas pressões. Compreensivelmente, isso apresenta desafios ambientais, como a obtenção de temperatura e pressão adequadas para o processamento, limitando a utilidade do procedimento às configurações industriais. Outra técnica para a geração de plasma ocorre à temperatura ambiente e pressões atmosféricas, denominado tratamento com plasma à pressão atmosférica (APP). Neste processo, o gás argônio foi descrito como um suporte de energia, promovendo a formação de compostos reativos na superfície do implante. No entanto, as investigações sobre o efeito de outros gases, especialmente o ar comprimido que está prontamente disponível em operações, são garantidos se o objetivo final é a utilização em larga escala da APP para aumentar a osseointegração.

Viana et al. (2018) revelaram que a organização dos canais ósseos corticais é continuamente modificada para aumentar a força mecânica da estrutura óssea frente a solicitações impostas. König et al. (1998) encontraram diferentes áreas de calcificação em osso neoformado após a inserção de implantes dentários em tíbias de coelhos, evidenciando a osseointegração e confirmando o remodelamento após nova formação óssea.

As células são capazes de interagir com proteínas por meio de receptores celulares conhecidos como integrinas. No entanto, as interações proteína-integrina são completadas através do reconhecimento de uma determinada sequência de aminoácidos dentro de uma proteína pela integrina. Este é o caso da sequência de aminoácido RGD (Arg-Gly-Asp) presente em proteínas adesivas tais como fibronectina. A interação integrina-proteína determina a regulação de múltiplas funções celulares, como a adesão. Ramaglia et al. (2011) provou que os osteoblastos alteram a ação da integrina de acordo com a composição química da superfície do implante e o grau de rugosidade, onde a alumina jateada e as superfícies que sofreram ataque ácido apresentaram maior ação em relação às superfícies lisas. Após este primeiro estágio de adsorção de proteína, ocorre a chegada de neutrófilos e macrófagos polimorfonucleares à superfície do implante. Estes geram uma cascata de sinalização intercelular que deve derivar na aceitação ou recusa do implante de acordo com as células recrutadas (ALBERTINI, FERNANDEZ-YAGUE, et al., 2015).

Alguns estudos revelaram um aumento significativo no BIC quando o PRP foi associado. Schlegel et al. (2003) mostraram que a densidade óssea no grupo PRP foi de 39% em comparação com 31% no grupo não PRP na segunda semana após a cirurgia. Fontana et al. revelaram que em situações de implantes inseridos no osso e cobertos com gel de PRP em tibia de ratos não irradiada, foi encontrado aumento significativo na densidade óssea quando comparado a um grupo em que o PRP não foi utilizado.

Outros autores revelaram uma diminuição da formação óssea após a radiação. Brogniez et al. (2000) mostraram que o BIC foi reduzido de maneira estatisticamente significante quando implantes foram colocados em mandíbulas irradiadas de cães. Quando medido em 16 semanas após a cirurgia implante, os autores encontraram um BIC de 28% nas mandíbulas irradiadas em comparação com um contato de 69% nas mandíbulas não irradiadas.

Tchanque-Fossuo et al. (2013) relataram que a remodelação atenuada por radiação inibiu a formação de novos ossos e causou uma mudança significativa em direção à hipermineralização. Mancha de la Plata et al. (2006) relataram que as perdas de implantes em pacientes submetidos à irradiação ocorreram principalmente por causa de infecção peri-implantar ou perda óssea peri-implantar assintomática, com perda consecutiva de integração. No entanto, Verdonck et al. (2008) relataram

que a estabilidade dos implantes nas mandíbulas diminui após um certo tempo, mesmo em condições normais, enquanto também assegurou que essa diminuição é mais proeminente após a radioterapia.

É amplamente aceito na literatura que a qualidade óssea é um fator fundamental para o sucesso da osseointegração. O modelo de ratas ovariectomizadas e, portanto, com osteoporose induzida, tem sido utilizado frequentemente para simular pacientes pós-menopausa e com baixa qualidade óssea. Nesse contexto, a sinvastatina também apresentou resultados profícuos, revelando o aumento das áreas de contato osso/implante e de volume ósseo peri-implantar. Esses achados são particularmente importantes, pois sugerem que a sinvastatina pode estar relacionada com o aumento da osseointegração em pacientes osteoporóticos, ou até mesmo em áreas de baixa qualidade óssea, como a região posterior da maxila, em pacientes sistemicamente saudáveis.

As superfícies ásperas obtidas através de métodos de subtração, como o jateamento de partículas de alumínio (Al_2O_3) e a corrosão por ácido, revelam melhorias na resposta in vivo em relação às superfícies lisas. Este procedimento obtém uma topografia de superfície caracterizada por concavidades que formam picos e vales que favorecem o aumento da osteocondução e, conseqüentemente, crescimento mais rápido do osso com aumento da força de adesão óssea.

No entanto, o uso dessas superfícies ainda leva à redução da estabilidade do implante para o período entre a segunda e quarta semana após a colocação. Isto é devido à reabsorção do osso inicialmente em contato com o implante e, também, à neoformação óssea ainda lenta, que não consegue conferir rigidez à ligação óssea-implante. Conseqüentemente, pode ocorrer uma quantidade aumentada de micro movimentos de implantes. Aumentos dos movimentos do implante foram comprovados para determinar a formação de um tecido conjuntivo fibroso e, finalmente, levar a sua falha. Observou-se que esse fenômeno ocorre com maior frequência quando o implante é submetido a carga funcional em seu estágio de produção, como o carregamento imediato. Nestes procedimentos, o comportamento biológico da superfície reúne ainda mais relevância, uma vez que o objetivo de obter uma superfície ideal também inclui o aumento da estabilidade do implante durante o estágio crítico da osseointegração.

Uma vez que o implante entra em contato com a cama após a colocação, os osteoblastos de células mesenquimais na medula óssea formam as primeiras

camadas de fosfato de cálcio na superfície do implante. Este processo, que é responsável pela formação do primeiro osso reticular, ocorre pelo processo de reabsorção óssea das paredes da cama lançadas por células osteoclásticas. Uma superfície que fornece uma aposição óssea mais rápida nas primeiras semanas após a colocação permitiria redução menor da estabilidade do implante durante este estágio crítico e, portanto, menor risco de falha de osseointegração em um implante submetido à carga de mastigação.

O uso de revestimentos com composição similar ao do osso é uma estratégia atrativa para acelerar a osseointegração durante os primeiros estágios de cicatrização. Particularmente, apatita de fosfato de cálcio tem a mesma composição química que a fase óssea mineral, de modo que ocorre a aceitação completa pelo organismo e nenhuma reação inflamatória. De fato, as superfícies de hidroxiapatita obtidas por pulverização de plasma têm provado um comportamento clínico de longo prazo, onde, apesar de obter a rápida ressecção óssea imediata do implante, o desprendimento da camada superficial osteofílica com o tempo produz infiltração bacteriana na interface e perda progressiva de osseointegração por peri-implantite.

Novos estudos recentemente demonstraram que outros métodos para obter revestimento com fosfato de cálcio com maior homogeneidade e estabilidade química são possíveis. Esses novos métodos propõem crescimento de apatita *in vitro* diretamente ligado à superfície, conseguindo maior controle de aderência e camada de espessura. Isso pode ser conseguido através de tratamentos superficiais, térmicos e químicos.

Pattanayak et al. (2011) completaram que depósitos de apatita com base na formação de um gel espesso e amorfo de titanato de sódio superficial, que uma vez imerso em soro supersaturado de íons (principalmente cálcio e fósforo), pode gerar espontaneamente uma fina camada de apatita que aumenta a conexão direta e estrutural com o osso. Existem diferenças enormes entre este tratamento termoquímico e aqueles que produzem depósitos de fosfato de cálcio pelo plasma, uma vez que o plasma começa a partir de temperaturas muito altas (6000-9000° C), sob as quais o fosfato de cálcio projetado está no estado plasmático e solidifica quando lançado no implante dentário. O primeiro fato é que a solidificação do plasma não fornece nenhuma estrutura de fosfato de cálcio cristalino, mas um material não estruturado conhecido como estado amorfo de cálcio, que não pode ser conhecido como apatita porque não tem estrutura cristalina e é mais parecido com

um líquido congelado. Este é um aspecto muito importante porque, nas superfícies revestidas com plasma, o fosfato de cálcio amorfo dissolve-se muito mais rápido do que o fosfato cristalino. Na camada de fosfato de cálcio não cristalino também começa o processo de aposição óssea dos osteoblastos, embora este osso recém-formado não entre em contato direto com a superfície do implante quando a camada de fosfato de cálcio se dissolveu; conseqüentemente, esse fenômeno atrasa os estágios iniciais do processo de osseointegração.

Além disso, o fosfato de cálcio arrefecido a partir de temperaturas tão altas é muito frágil, uma vez que os materiais cerâmicos não podem suportar mudanças de volume causadas por mudanças súbitas na temperatura. Finalmente, a principal limitação das camadas formadas por plasma é que elas não apresentam uma ligação química de camada de titânio, e sua estabilidade é principalmente devido a algum grampo mecânico entre rugosidade de titânio e a massa amorfa de fosfato de cálcio. A consequência biológica desse fenômeno é a microfiltração bacteriana na interface que, por sua vez, leva a perda de osseointegração devido à peri-implantite progressiva.

A obtenção de fosfato de cálcio na superfície do implante por meio de tratamentos termoquímicos envolve inúmeras vantagens. Em primeiro lugar, o fosfato de cálcio não está organizado de forma amorfa, mas de forma cristalina, uma vez que é formada por precipitação. Isso faz com que sua estrutura (medida por difractogramas de raios X) seja o mesmo que o fosfato de cálcio que forma conteúdo mineral ósseo (hidroxiapatita), que fornece um material com menor capacidade de dissolução em fluidos biológicos e permite ligações covalentes químicas de titânio. Esta ligação química proporciona excelente estabilidade em longo prazo e previne toda colonização bacteriana entre o fosfato de cálcio e o titânio. Outra vantagem importante do tratamento termoquímico em relação a outros métodos de obtenção de hidroxiapatita é a alta resistência mecânica da camada obtida, uma vez que são evitadas mudanças de temperatura elevada no tratamento com plasma.

Este método pode ser dito para fornecer uma superfície biomimética, uma vez que a camada de titanato de sódio que cobre o implante pode - graças à bioatividade dos íons Na^+ , e uma vez que ele entra em contato com fluidos biológicos - forma por si só uma camada de hidroxiapatita sem necessidade de osteoblastos parte. Este fenômeno tem sido comprovado *in vitro* e *in vivo* por nosso

grupo de pesquisa, e a osseointegração acelerada foi observada em relação às superfícies não tratadas.

Gil FJ et al. (2014) provaram em estudos histológicos em mini porcos que o tratamento termoquímico de superfícies de titânio tipo implante dentário de tipo 3 pode tornar a osseointegração de implante completo dentro de 4 semanas. Em seu estudo mais recente, Gil FJ et al. (2014) focado na capacidade de osseointegração de 320 implantes em mini porcos, comparando a resposta óssea a diferentes tipos de superfície.

As superfícies analisadas foram superfícies biomiméticas obtidas por jateamento combinado de óxido de alumínio e corrosão ácida, além de tratamento termoquímico, superfície rugosa obtida por jateamento de óxido de alumínio, superfície áspera obtida por corrosão ácida e superfície lisa como controle. Os implantes utilizados neste estudo foram caracterizados por seu pescoço polido de 1,5 mm, 12 mm de comprimento e passo de rosca de 1 mm. A rugosidade da superfície do implante foi caracterizada primeiro através de microscopia eletrônica, medindo os ângulos de contato das superfícies e, em seguida, o teste in vivo foi concluído colocando implantes em mini porcos aos quais os dentes foram extraídos 4 meses antes. Foram colocados quatro implantes de cada tipo em cada animal, que foram abatidos 3 dias e 1, 2, 3 e 10 semanas após a intervenção para completar estudos histológicos. Quanto à caracterização da superfície, não foram observadas diferenças significativas nos valores de rugosidade entre a superfície biomimética e a superfície rugosa obtida. No entanto, foram encontradas diferenças significativas entre estes dois e a superfície rugosa obtida por ataque ácido. A superfície biomimética prova um ângulo de contato mais baixo em relação a superfície rugosa obtida, o que mostra um maior molhamento e melhor comportamento em contato com o sangue.

No que diz respeito ao contato ósseo-implante (ou seja, a proporção de osso em contato com o implante), a superfície biomimética prova valores significativamente maiores em relação às demais superfícies 3 dias e 1, 2, 3 e 10 semanas após a colocação, embora valores semelhantes sejam observado na superfície áspera obtida após o jateamento após 10 semanas. Esta superfície apresentou valores surpreendentemente elevados de osseointegração nos primeiros estágios de cicatrização, sendo em torno de 75% e 80% 2 e 3 semanas, respectivamente, após a colocação neste modelo animal. A superfície biomimética

foi a única que mostrou claramente extensas áreas de neoformação óssea em contato direto com o implante após apenas uma semana de cicatrização.

A adesão à proteína demonstrou desempenhar um papel fundamental nos primeiros estágios da osseointegração, onde a presença de fibronectina e vitronectina favorece a proliferação da linha celular osteoblástica, enquanto proteínas como TGF- α a inibem. As superfícies ásperas do implante (S_a) sobre 1-2 μm conduzem a uma osseointegração mais rápida em relação às superfícies micro-ásperas ($S_a = 0.5\text{-}1 \mu\text{m}$) devido ao fenômeno da neoformação óssea, onde o osso começa a se formar a partir da superfície do implante em direção à periferia com maior rapidez.

Os implantes que apresentam hidroxiapatita na sua superfície conduzem a uma osseointegração acelerada devido à afinidade dos osteoblastos com o fosfato de cálcio. No entanto, as superfícies produzidas atualizadas apresentaram problemas em longo prazo devido à ligação desta camada ao titânio subjacente.

Uma superfície biomimética foi desenvolvida por meio de processamento termoquímico de titânio que permite a formação de uma camada de fosfato de cálcio em forma cristalina (hidroxiapatita), quando o implante entra em contato com fluidos biológicos. Estudos em animais demonstram que esta nova superfície pode produzir osseointegração em tempos significativamente mais curtos em relação às superfícies rugosas obtidas por explosão de óxido de alumínio e corrosão por ácido. Estudos *in vivo* mostram uma completa osseointegração de implantes dentro de 3 semanas, o que facilitaria o uso de protocolos de carregamento imediato e inicial.

Segundo WU, C et al. (2015) a justificativa para o revestimento de um substrato de metal ortopedista, é aumentar a biocompatibilidade para melhorar a sua integração com os tecidos ósseos. A abordagem comum tem sido desenvolver materiais de revestimento que afetem diretamente a diferenciação osteogênica de células osteoblásticas. No entanto, o campo da biologia óssea passou a adotar a imunologia como tendo um papel fundamental no processo de regeneração óssea. Os materiais de revestimento devem, além de regular diretamente o comportamento das células ósseas, poder modular um ambiente imune que equilibre osteoclastogênese e osteogênese, um processo conhecido como ósteoimunomodulação.

Além da interface entre o revestimento e o tecido ósseo do hospedeiro, a introdução de materiais de revestimento também cria outra interface entre o

substrato metálico e o revestimento. A força de ligação máxima é de grande importância para alcançar períodos de vida mais longos para implantes revestidos. A cerâmica à base de silício aplicada usando a técnica de pulverização de plasma mostra uma promessa considerável como meio de melhorar a força de ligação.

Outra consideração para otimizar os materiais de revestimento é manter sua estabilidade química. A abordagem tradicional tem sido focar no ajuste fino da química, ao mesmo tempo em que negligencia a importância da degradação mediada por células. Osteoclastos e macrófagos desempenham papéis fundamentais nos implantes degradantes, que o corpo invariavelmente percebe como um corpo estranho. Osteoclastos hiperativos e macrófagos podem levar a uma rápida degradação, o que deixa um tempo insuficiente para a osseointegração e pode até ter efeitos adversos devido a altas concentrações locais de íons liberados. Uma resposta osteoclástica equilibrada é vital para a correta estabilidade do implante. Portanto, a força de ligação, a liberação de íons bioativos e a ósteoimunomodulação se destacam como propriedades fundamentais ao desenvolver e avaliar materiais de revestimento com osseointegração *in vivo* ideal. O revestimento de CLT parece satisfazer esses três parâmetros e supera o revestimento de HA em termos de osseointegração *in vivo*. Seu desenvolvimento adicional é garantido, uma vez que parece ser idealmente adequado como material de revestimento para aplicações de implantes ortopédicos e dentários.

Diferentes protocolos de tratamento de periimplantite foram propostos; No entanto, todos eles estão apontando para cessar a progressão da doença e perda óssea contínua por remoção de infecção bacteriana e controle da inflamação do tecido. Os procedimentos comuns nestes protocolos são a remoção do biofilme bacteriano seguido da descontaminação da superfície do implante. Métodos cirúrgicos e não cirúrgicos têm sido utilizados para tratar as lesões ao redor dos implantes e periimplantite. O tratamento cirúrgico inclui descontaminação da superfície do implante e desbridamento do defeito ósseo. Foram utilizados vários métodos de descontaminação da superfície do implante no tratamento cirúrgico de periimplantite, como o uso de ácido cítrico, delmopinol, irrigação com clorexidina, unidade abrasiva em pó, escova rotativa com pedra-pomes, laser de dióxido de carbono ou bolinhas de gaze / algodão embebidos em solução salina e / ou clorexidina.

Além disso, o enxerto ósseo autógeno e o substituto ósseo foram utilizados com ou sem a barreira membranosas para promover a re-osseointegração das superfícies de implante infectadas. Vários estudos utilizaram um modelo de periimplantite induzido por ligadura em diferentes animais para avaliar o método de tratamento mais apropriado. No entanto, não existe um consenso geral para o protocolo de tratamento mais eficaz. Estudos anteriores demonstraram que o tratamento cirúrgico da periimplantite teve resultados promissores sobre os métodos de tratamento não cirúrgico.

Em relação ao modelo animal que é usado em estudos de periimplantite, um grupo de autores (Schou et al, 2003) usaram macacos como modelo de estudo. De acordo com o estudo, o tempo necessário para induzir periimplantite foi prolongado até 9 meses. Outros estudos utilizaram o cão como modelo de estudo; o período para desenvolver periimplantite induzida por ligadura tornou-se menor entre 1 e 4 meses.

Os primeiros estudos experimentais de cães periimplantite foram publicados em 1992. As ligaduras foram colocadas subgingivalmente em torno de dentes e implantes em 5 cães beagle por um período de 6 semanas. Posteriormente, este modelo de ligadura tem sido utilizado para induzir periodontite e periimplantite experimentais. A colocação submarginal de uma ligadura ao redor do pescoço do implante provoca uma resposta traumática nos tecidos periimplantes enquanto aumenta a acumulação de placa. Isso resulta no estabelecimento de lesões inflamatórias nos tecidos periimplantes, com consequente perda de ossos de suporte.

Foi relatado que as lesões periimplantite em cães e humanos apresentavam uma configuração de defeito combinada, incluindo um aspecto supracrestal e intraósseo. Em um estudo anterior, observaram-se 3 padrões de defeitos ósseos no modelo periimplantite induzido: defeito ósseo circunferencial (Classe I), defeito ósseo circunferencial combinado com perda óssea supra alveolar (Classe II) e defeito intra alveolar circunferencial combinado com deiscência bucal (Classe III). As características da superfície do implante, o uso de antibiótico, o método de descontaminação e / ou o uso de terapia regenerativa diferiram entre os estudos. Atualmente, evidências consideráveis estão presentes, apoiando a hipótese de que a colonização microbiana tem um papel fundamental na etiologia da

periimplantite. Assim, alguns estudos indicaram o uso de antibióticos durante o tratamento da periimplantite para reduzir e prevenir novas infecções.

No estudo de Persson et al (2004) foram usaram antibióticos sistêmicos juntamente com curetagem local e desbridamento superficial do implante. Seus resultados mostraram resolução das lesões induzidas por periimplantite. Da mesma forma, Shibli et al (2003) mencionaram que o tratamento com antibióticos sistêmicos pode diminuir o número de patógenos periodontais presentes no tecido periimplante duro e macio, embora o tipo de antibióticos utilizados não tenha sido descrito. No entanto, os pontos de tempo da administração de antibióticos variam entre os estudos. A revisão atual centrou-se no tratamento cirúrgico da periimplantite induzida; assim, todos os estudos incluíram cirurgia aberta para degranulação e desbridamento mecânico das superfícies de implante infectadas e os defeitos ósseos resultantes. Foram avaliados vários métodos para descontaminação das superfícies implantadas infectadas.

5. CONCLUSÃO

O conhecimento da compreensão da prótese de implante evoluiu de fases experimentais de laboratório para prática clínica baseada em evidências nas últimas quatro décadas.

O implante dentário endósseo tornou-se um tratamento cientificamente aceito e previsível para pacientes completamente e parcialmente edêntulos. A osseointegração bem sucedida é um pré-requisito para implantes dentários funcionais. A osseointegração é um processo complexo que pode ser influenciado por muitos fatores relacionados à topografia da superfície, biocompatibilidade e condições de carga, todos desempenhando um papel importante na osseointegração. O titânio e suas ligas são os materiais de escolha clínica, devido à sua excelente biocompatibilidade e propriedades mecânicas superiores. O efeito combinado da energia superficial, rugosidade da superfície e topografia no implante determina sua capacidade de integrar-se ao tecido circundante.

As tecnologias de modificação de superfície envolvem a preparação com um revestimento aditivo ou método subtrativo. Migração celular, adesão e proliferação em superfícies de implantes são pré-requisitos importantes para iniciar o processo de regeneração tecidual, enquanto modificações da superfície do implante pela incorporação de mediadores biológicos de crescimento e diferenciação podem ser potencialmente benéficas para melhorar a cicatrização após a colocação do implante. A tecnologia está constantemente avançando, novas superfícies melhores estão sendo pesquisadas e testadas. Superfícies de titânio modificadas podem mostrar resultados promissores no futuro.

Poderia concluir que o sucesso da osseointegração depende:

- do tratamento de superfície dos implantes com HA, CaP ou APP;
- da estabilidade primária;
- da utilização de técnica de execução atraumática e do não aquecimento do titânio por 1 minuto a 47°C;
- a carga imediata produz uma melhor cortical osso-implante;
- uso de alendronato/bisfosfonato;
- e negativamente pelo fumo, diabete e osteoporose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, R. et al. Simple coating with fibronectin fragment enhances stainless steel. **Elsevier**, v. 63, p. 137-145, sept 2015.

AGARWAL, R., GARCÍA,A.J. Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. **Elsevier**, Atlanta, v. 94, p. 53–62, 2015

ALBERTINI, M. et al. Advances in surfaces and osseointegration in implantology. Biomimetic surfaces. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, Sevilla, v. 20, n. 3, p. e316-325, may 2015.

ALGHAMDI, H. S.; BEUCKEN, J. J. J. P. V. D.; JANSEN, J. A. Osteoporosis – fracture healing and. **Elsevier**, v. 13, p. 3-9, 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2014.10.001> >. Acesso em: 10 março 2018.

ALGHAMDI HS, BOSCO R, VAN DEN BEUCKEN JJ, WALBOOMERS XF, JANSEN JA. Osteogenicity of titanium implants coated with calcium phosphate or collagen type-I in osteoporotic rats. **Biomaterials**; v. 34, p. 3747–57, 2013.

ALGHAMDI HS, VAN DEN BEUCKEN JJ, JANSEN JA. Osteoporotic rat models for evaluation of osseointegration of bone implants. **Tissue Eng Part C: Methods**; v. 20, p. 493–505, 2014.

BEUTEL, B.G.; DANNA, N.R.; GRANATO, R., BONFANTE, E.A.; MARIN, C.; TOVAR, N.; SUZUKI, M.; COELHO, P.G. Implant design and its effects on osseointegration over time within cortical and trabecular bone. **JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH B: APPLIED BIOMATERIALS**, v. 104B, e. 6, 2016.

BROGNIEZ V, D'HOORE W, GRÉGOIRE V, MUNTING E, REYCHLER H. Implants placed in an irradiated dog mandible: a morphometric analysis. **Int J Oral Maxillofac Implants**; v.15, p. 511–518, 2000.

DANNA, N. R. et al. BioMed Research International. **Assessment of Atmospheric Pressure Plasma Treatment for Implant Osseointegration**, 2015. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/761718/> >. Acesso em: 16 Mar 2018.

DAVIES JE. In vitro modeling of the bone/implant interface. **Anat Rec.**; v.245, p. 426-45,1996.

DOI, K.; MAKIHARA, Y.; OUE, H.; MORITA, K.; OKI, Y.; KAJIHARA, S.; TSUGA, K. Osseointegration aspects of placed implant in bone reconstruction with newly developed block-type interconnected porous calcium hydroxyapatite. **J Appl Oral Sci.**, 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/1678-775720150597> >. Acesso em 12 março 2018.

DU Z, CHEN J, YAN F, XIAO Y. Effects of Simvastatin on bone healing around titanium implants in osteoporotic rats. **Clin Oral Implants Res**; v.20, p.145–50, 2009.

FINI M, GIAVARESI G, GREGGI T, MARTINI L, ALDINI NN, PARISINI P, et al. Biological assessment of the bone–screw interface after insertion of uncoated and hydroxyapatite-coated pedicular screws in the osteopenic sheep. **J Biomed Mater Res A**; v. 66,p. 176–183, 2003.

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 Dent**; v. 13, p. 73–78, 2004.

GALLI, S. et al. The effect of magnesium on early osseointegration in osteoporotic. **Osteoporos Int** , v. 28, p. 2195–2205, 2017.

GIL FJ, MANZANARES N, BADET A, APARICIO C, GINEBRA MP. Biomimetic treatment on dental implants for short-term bone regeneration. **Clin Oral Investig.**; v. 18, p. 59-66, 2014.

GUYER, R. D. et al. Evaluating Osseointegration Into a Deeply Porous. **SPINE Journal**, v. 41, n. 19, p. E1146–E1150, 2016.

HTET M, MADI M, ZAKARIA O, ET AL. Decontamination of anodized implant surface with different modalities for peri-implantitis treatment: Lasers and mechanical debridement with citric acid. **Periodontol.**; v. 87, p. 953–961, 2016.

JIN, G.; QIN, H.; CAO, H.; YUQIN QIAO, Y.; YAOCHAO ZHAO, Y.; PENG, X.; ZHANG, X.; LIU, X.; CHU, P.K. Zn/Ag micro-galvanic couples formed on titanium and osseointegration effects in the presence of *S. aureus*. **Elsevier**, Shanghai, v. 65, p. 22-31, 2015.

KANG, H.K; CHU, T.M; DECHOW, P; STEWART, K.; KYUNG, H.M.; LIU, S.S. Laser treated stainless steel mini-screw implants: 3D surface roughness, bone-implant contact, and fracture resistance analysis, **Eur. J. Orthod.**, 2015.

KÖNIG JUNIOR B, BECK TJ, KAPPERT HF, KAPPERT CC, MASUKO TS. A study of different calcification areas in newly formed bone 8 weeks after insertion of dental implants in rabbit tibias. **Ann Anat**; v. 180, p. 471–475, 1998.

LEE, B.E.J.; EXIR, H.; WECK, A.; GRANDFIELD, K. Characterization and evaluation of femtosecond laser-induced sub-micron periodic structures generated on titanium to improve osseointegration of implants. **Elsevier**, Hamilton, v. 441, p. 1034–1042, 2018.

LIU, J. et al. Gallium and silicon synergistically promote osseointegration of dental. **Medical Hypotheses**, Chongqing, n. 103, p. 35-38, 2017.

LOU,J.; WANG, B.; WU, T; WU, W., LI, H., ZIYANG LIU, Z.; LIU,H. In-vivo study of osseointegration in Prestige LP cervical disc prosthesis. **BMC Musculoskeletal Disorders**, Chengdu, 2018. Disponível em:< <https://doi.org/10.1186/s12891-018-1957-2> >. Acesso em: 10 março 2018.

LUGERO GG, DE FALCO CAPARBO V, GUZZO ML, KÖNIG JR B, JORGETTI V. Histomorphometric evaluation of titanium implants in osteoporotic rabbits. **Implant Dent**; v. 9, p. 303–309, 2000.

MACHTEI EE, KIM DM, KARIMBUX N, et al. The use of endothelial progenitor cells combined with barrier membrane for the reconstruction of periimplant osseous defects: An animal experimental study. **J Clin Periodontol.**; v. 43, p. 289–297, 2016.

MADI, M. et al. Re-osseointegration of Dental Implants. **IMPLANT DENTISTRY**, Al-khobar, v. 27, n. 1, p. 101-110, 2018.

MANCHA DE LA PLATA M, GÍAS LN, DÍEZ PM et al. Osseointegrated implant rehabilitation of irradiated oral cancer patients. **J Oral Maxillofac Surg**; v. 70, p. 1052–1063, 2012.

MEENT, H.V.; HOPMAN, M.T.; FRÖLKE, J.P. Walking Ability and Quality of Life in Subjects With Transfemoral Amputation: A Comparison of Osseointegration With Socket Prostheses. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 94, p. 2174-8, 2013.

MENDES DUARTE P, NETO JBC, GONÇALVES PF, SALLUM EA, NOCITI JR FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. **Implant Dent**; v. 12, p. 340, 2003.

NAYAK, S.; DEY, T.; NASKAR, D.; KUNDU, S.C. The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin. **Elsevier**, Kharagpur, v. 34, p. 2855-2864, 2013.

OCAÑA, R. P. et al. Implant osseointegration in irradiated bone: an experimental study. **JOURNAL OF PERIODONTAL RESEARCH**, v. 52, p. 505–511, 2017.

OFFERMANN, V., ANDERSEN, O.Z., RIEDE, G.; SILLASSEN, M., JEPPESEN, C.S., ALMTOFT, K.P.; TALAS, H.; ÖHMAN-MÄGI, C.; LETHAUS, B.; TOLBA, R.; KLOSS, F.; FOSS, M. Effect of strontium surface-functionalized implants on early and late osseointegration: A histological, spectrometric and tomographic evaluation. **Elsevier**, v. 69, p. 385–394, 2018.

OSBORN JF, NEWSELY H. The material science of calcium phosphate ceramics. **Biomaterials**; v.1, p. 108-11, 1980.

PARITHIMARKALAINAN, S.; PADMANABHAN, T. V. Osseointegration: An Update. **The Journal of Indian Prosthodont Society**, v. 13, n. 1, p. 2-6, Mar 2013.

PARLAR A, BOSSHARDT DD, ÇETINER D, et al. Effects of decontamination and implant surface characteristics on reosseointegration following treatment of periimplantitis. **Clin Oral Implants Res.**; v.20, p. 391–399, 2009.

PARK SY, KIM KH, GWAK EH, et al. Ex vivo bone morphogenetic protein 2 gene delivery using periodontal ligament stem cells for enhanced reosseointegration in the

regenerative treatment of peri-implantitis. **J Biomed Mater Res A.**; v. 103A, p. 38–47, 2015.

PATTANAYAK DK, YAMAGUCHI S, MATSUSHITA T, KOKUBO T. Nanostructured positively charged bioactive TiO₂ layer formed on Ti metal by NaOH, acid and heat treatments. **J Mater Sci Mater Med.**; v. 22, p. 1803-1812, 2011.

PEGUEROLES M, APARICIO C, BOSIO M, ENGEL E, GIL FJ, PLANELL JA, et al. Spatial organization of osteoblast fibronectin matrix on titanium surfaces: effects of roughness, chemical heterogeneity and surface energy. **Acta Biomater.**; v. 6, p. 291-301, 2010.

PEGUEROLES M, TONDA-TURO C, PLANELL JA, GIL FJ, APARICIO C. Adsorption of fibronectin, fibrinogen, and albumin on TiO₂: timeresolved kinetics, structural changes, and competition study. **Biointerphases**, v.7, p. 78, 2012.

PERSSON LG, MOUHYI J, BERGLUNDH T, et al. Carbon dioxide laser and hydrogen peroxide conditioning in the treatment of periimplantitis: An experimental study in the dog. **Clin Implant Dent Rel Res.**; v. 6, p. 230–238, 2004.

PROKHARAU, P.; VERMOLEN, F. Stability analysis for a peri-implant osseointegration model. **J. Math. Biol.**, Delft, v. 66, p. 351–382, 2013.

PYO SW, KIM YM, KIM CS, LEE IS, PARK JU. Bone formation on biomimetic calcium phosphate-coated and zoledronate-immobilized titanium implants in osteoporotic rat tibiae. **Int J Oral Maxillofac Implants**; p. 29, 2014.

RAGHAVENDRA S JAYESH, V. D. Osseointegration. **Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences**, Chennai, India, v. 7, n. 5, p. 226-229, 5 April 2015.

RAMAGLIA L, POSTIGLIONE L, DI SPIGNA G, CAPECE G, SALZANO S, ROSSI G. Sandblasted-acid-etched titanium surface influences in vitro the biological behavior of SaOS-2 human osteoblast-like cells. **Dent Mater J.**; v. 30, p. 183-192, 2011.

RAZZOUK, S.; SARKIS, R. Smoking and Diabetes. **The New York state Dental Journal**, New York, p. 27-31, March 2013.

SABAREESWARAN, A.; BASU, B., SHENOY, S.J.; JAFFER, Z.; SAHA, N.; STAMBOULIS, A. Early osseointegration of a strontium containing glass ceramic in a rabbit model. **Elsevier**, Trivandrum, v. 34, p. 9278-9286, 2013.

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**; v.18, p. 505–511, 2003.

SCHOU S, HOLMSTRUP P, JØRGENSEN T, et al. Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of periimplantitis. II. Stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys. **Clin Oral Implants Res.**; v. 14, p. 404–411, 2003.

SCHOU S, HOLMSTRUP P, JØRGENSEN T, et al. Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss®) and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. **Clin Oral Implants Res.**; v. 14, p. 535–547, 2003.

SCHOU S, HOLMSTRUP P, JØRGENSEN T, et al. Implant surface preparation in the surgical treatment of experimental periimplantitis with autogenous bone graft and ePTFE membrane in cynomolgus monkeys. **Clin Oral Implants Res.**; v. 14, p. 412–422, 2003.

SCHWARZ F, HERTEN M, SAGER M, et al. Comparison of naturally occurring and ligature-induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. **Clin Oral Implants Res.**; v. 18, p. 161–170, 2007.

SCHWARZ F, JEPSEN S, HERTEN M, et al. Influence of different treatment approaches on non-submerged and submerged healing of ligature induced periimplantitis lesions: An experimental study in dogs. **J Clin Periodontol.**; v. 33, p. 584–595, 2006.

SENDYK, D. I. et al. O EFEITO DA SINVASTATINA NA OSSEOINTEGRAÇÃO. **ResearchGate**, mar 2016. Disponível em: < <https://www.researchgate.net/publication/305770850> >. Acesso em: 16 mar. 2018.

SENNERBY L, PERSSON LG, BERGLUNDH T, et al. Implant stability during initiation and resolution of experimental periimplantitis: An experimental study in the dog. **Clin Implant Dent Rel Res.**; v. 7, p. 136–140, 2005.

SHIBLI JA, MARTINS MC, NOCITI FH JR, et al. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: A preliminary histologic study in dogs. **J Periodontol.** ; v. 74, p. 338–345, 2003.

SHIBLI JA, MARTINS MC, RIBEIRO FS, et al. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of periimplantitis: An experimental study in dogs. **Clin Oral Implants Res.**; v. 17, p. 273–281, 2006.

STÜBINGER S, HENKE J, DONATH K, et al. Bone regeneration after peri-implant care with the CO2 laser: A fluorescence microscopy study. **Int J Oral Maxillofac Implants.**; v. 20, p. 203–210, 2005.

TCHANQUE-FOSSUO CN, GONG B, POUSSHANCHI B et al. Raman spectroscopy demonstrates Amifostine induced preservation of bone mineralization patterns in the irradiated murine mandible. **Bone**;v. 52, p. 712–717, 2013.

TRINDADE, R. et al. Osseointegration and foreign body reaction: Titanium implants. **Clin Implant Dent Relat Res.**, n. 20, p. 82–91, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/cid.12578> >. Acesso em: 03 março 2018.

VAYRON, R.; SOFFER, E.; ANAGNOSTOU, F.; HAÏAT, G. Ultrasonic evaluation of dental implant osseointegration. **Elsevier**, Cedex, v. 47, p. 3562-3568, 2014.

VERDONCK HW, MEIJER GJ, LAURIN T et al. Implant stability during osseointegration in irradiated and non-irradiated minipig alveolar bone: an experimental study. **Clin Oral Implants Res**; v. 19, p. 201–206, 2008.

VIANA MP, TANCK E, BELETTI ME, COSTA LDA F. Modularity and robustness of bone networks. **Mol BioSyst**; v. 5, p. 255–261, 2009.

WEINMANN JP, SICHER H. Bone and bones, fundamentals of bone biology, **Mosby**, St. Louis, 2^aedn. p. 47-56, p.111-126, p.461-469, 1945.

WORTHINGTON, P.; LANG, B.R.; LAVELLE, W.E Osseointegração na odontologia. Introdução aos implantes osseointegrados. SW Paulo: **Quintessence**; p.115-116, 1998.

WU, C. et al. Clinoenstatite coatings have high bonding strength, bioactive ion. **Elsevier**, Shanghai, v. 71, p. 35-47, 2015.

XIONG, Y.; ZHANG, Y.; GUO, Y.; YUAN, Y.; GUO, Q.; GONG, P.; WU, Y. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 increases implant osseointegration in diabetic mice partly through FoxO1 inactivation in osteoblasts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Chengdu, v.494, p. 626-633, 2017.

XU, D.H.; CROCOMBE, A.D.; XU, W. Numerical evaluation of bone remodeling associated with trans-femoral osseointegration implant – A 68 month follow-up study. **Elsevier**, Tianjin, v. 49, p. 488–492, 2016.

YAMAZAKI M, SHIROTA T, TOKUGAWA Y, MOTOHASHI M, OHNO K, MICHIKI K, et al. Bone reactions to titanium screw implants in ovariectomized animals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**; v. 87, p. 411–418, 1999.

YANG G, SONG L, GUO C, ZHAO S, LIU L, HE F. Bone responses to simvastatin-loaded porous implant surfaces in an ovariectomized model. **Int J Oral Maxillofac Implants**; p. 27, 2012.

YOU TM, CHOI BH, ZHU SJ, et al. Treatment of experimental peri-implantitis using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue in dogs. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**; v. 103. P. 34–37, 2007.

ZARB, G.; ALBREKTSSON, T. Osseointegration: a requiem for periodontal ligament? **Int J Periodontal Restor Dent**, v. 11, p. 88-91, 1991.