



**MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PERIODONTIA**

KELLY CHRISTINE DIAS DE SOUZA AGUIAR

**INFLUÊNCIA DA OSTEOPENIA SOBRE A ATIVAÇÃO IMEDIATA DE
IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS: AVALIAÇÃO CLÍNICA E
ESTEQUIOMÉTRICA**

Guarulhos

2009

KELLY CHRISTINE DIAS DE SOUZA AGUIAR

**INFLUÊNCIA DA OSTEOPENIA SOBRE A ATIVAÇÃO IMEDIATA DE
IMPLANTES OSSEOINTEGRADOS: AVALIAÇÃO CLÍNICA E
ESTEQUIOMÉTRICA**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos
para Obtenção do Título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

Co-Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria do Espírito Santo

Guarulhos

2009

Dedicatória

Dedico esta tese a minha família.

Aos meus pais, obrigado pela educação e diretriz na vida que subsidia sempre a determinação com que abraço tudo aquilo que acredito;

Ao meu pai Sidival Dias pela coragem, dignidade, honestidade que sempre pautam sua vida profissional; pela coragem de seguir sempre, com cabeça erguida mesmo em meio as tempestades da vida; Te amo muito, pai!

À minha mãe Dalva de Oliveira Dias sempre guerreira, forte e determinada; ao mesmo tempo sempre presente como mãe, no sentido real da palavra, na família; uma mulher admirável, minha gratidão, amor, respeito e admiração eternos;

Ao meu esposo Luiz Roberto Castro de Souza Aguiar pelo companherismo, convivência de 10 anos juntos e por sempre me apoiar independente de, em tudo o que faço;

Aos meus sogros Antônio de Souza Aguiar Netto (in memoriam) e Neusa de Castro de Souza Aguiar por me aceitarem como filha, pelo apoio e carinho constantes;

Ao meu irmão Sidival Júnior, simplesmente por ser meu irmão e esta pessoa encantadora!

A minha querida e amada filha Laura Ashley que com seu sorriso encantador me motivou a não desanimar, me dando todo o carinho, me enchendo de beijos; sempre me lembrando que acima de tudo, e de todos, sua pureza mostra que Deus nos ama, e que a vida vale a pena ser vivida!

Família, vocês são meu tudo, sou muito grata a vocês! Sem vocês não teria conseguido chegar até aqui! Obrigada por todo o apoio, em todas as situações! Dedido-lhes este trabalho porque fizeram e fazem a diferença! AMO VOCÊS!

Agradecimentos

À **Deus**, Doador da vida, que sempre me conduz e fortalece neste caminhar, por haver me dado razões e forças para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Jamil Awad Shibli**, pelo seu entusiasmo e dedicação a implantodontia, por ter me dado liberdade de ação, apoio e ter compreendido qual é minha melhor forma de trabalhar, meus sinceros agradecimentos e admiração!

À minha co-orientadora **Profa. Dra. Ana Maria do Espírito Santo**, por toda a ajuda na execução dos trabalhos, por sua amizade, carinho e atenção, muito obrigado!

À **Profa. Dra. Marise Lazaretti Castro**, por toda a ajuda no processo de seleção dos pacientes com osteopenia e osteoporose.

Aos Professores do Mestrado da UnG, **Profa. Dra. Magda Feres, Profa. Dra. Luciene C. Figueredo**, **Prof. Dr. Marcelo de Faveri, Prof. Dra. Poliana M. Duarte, Prof. Dr. André F. Reis, Prof. Dr. José A. Rodrigues, Profa. Dra. Marta F. Bastos, Prof. Dra. Alessandra C. Ferreira, Profa. Dra. Cláudia Ota-Tsuzuki**, por toda a dedicação e amor com que ensinam, sempre dispostos a ajudarem seus alunos, muita obrigada!

À **Titanium Fix**, na pessoa do Sr. Sidival Dias, por todo o apoio financeiro dado a esta pesquisa clínica; por compreender minha ausência da empresa, e incentivar meu crescimento profissional, minha gratidão eterna!

À equipe de desenvolvimento do projetos e de engenharia da **Titanium Fix, Luiz Roberto Castro de Souza Aguiar, Élcio Barboza** por agilizaram todos os implantes e conexões protéticas para uso na tese, mesmo que isto significasse ser “pra ontem”; obrigada!

Ao **Prof. Dr. Alfredo Mikail**, por seu apoio naquelas horas em que pensamos desistir de tudo e por toda a ajuda no entendimento de execução de uma tese, obrigado!

Aos meus queridos amigos de turma, **Eduardo, Marcelo Rocha, Marcelo Rafaelli, Carlos Datte, Josefa, Vanessa, Juliana, Joyce, Geisla**, estiveram presentes ao meu lado vivendo e torcendo em cada instante e conquista e, souberam compreender que minha ausência por vezes era necessária e que a presença deles era vital: com certeza, nós fomos uma turma muito especial e que deixará marcas indelévels nesta universidade! Vocês moram no meu coração! Muito obrigada por terem compartilhado comigo deste momento especial de nossas vidas.

Ao **Edson Aparecido Pereira dos Santos**, conhecido como Edinho, por sua amizade, carinho, responsabilidade e eficiência. Sem ele, as estatísticas e avaliações realizadas no LEVB –

UNIVAP, não teriam ficado prontas, minha gratidão.

Às queridas funcionárias da Universidade Guarulhos, da Clínica de Estudos Avançados, **Cíntia Lobo** e **Adriana Rose**, por prontamente me ajudarem, marcarem os meus pacientes, e serem ao mesmo tempo pacientes com eles, sempre serei grata a vocês!

Ao protético **Eleuze Cardozo**, por participar desta pesquisa, confeccionando todas as próteses com extrema competência e qualidade; obrigada.

As colegas **Tatiana Onuma** e **Renata Mairink**, por sempre estarem dispostas, independente do horário, no auxílio das cirurgias e pós-operatórios. Foi muito bom operar com vocês; muito, mas, muito obrigada mesmo!

As **pacientes da pesquisa** pela compreensão da importância da pesquisa para o desenvolvimento do conhecimento científico; em especial **Dona Judith** e **Dona Sônia** pelo carinho e atenção; vocês me fizeram não desistir; muito obrigado!

Aos pacientes do meu consultório particular por nem sempre entenderem minha ausência, mesmo assim a aceitaram.

Aos meus colegas de trabalho, **Dr. Marcelo G. Oliani**, **Dra. Ana Paula Nocentini**, **Dra. Ana Paula Dias Alves**, **Dra. Patrícia Persigilli**, **Dra. Ariane V. Coelho** por me apoiarem na busca do crescimento profissional, pelo estímulo, amizade, carinho, críticas, sugestões e paciência, vocês são especiais; meus agradecimentos do fundo do coração!

Aos **meus familiares** que souberam entender que às vezes o estar longe significa estar bem perto quando isto for necessário para quem amamos. Estive longe e muito perto e só consegui por ter o apoio de todos vocês.

A **todos** que direta ou indiretamente colaboraram para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho, e tornaram este período inesquecível me dando a certeza de que tudo valeu à pena.

Das Utopias
Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!

Mario Quintana

RESUMO

O objetivo deste estudo prospectivo e controlado foi avaliar a influência da osteopenia sobre a ativação de implantes imediatos através de avaliações clínicas e radiográficas, e também pela concentração de mineral da superfície do tecido ósseo através da espectroscopia Raman por Transformada de Forrier (FT-RS) e os níveis de Ca e P através da Espectrometria de micro - fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF) dos fragmentos ósseos. Vinte pacientes (média de idade de 61 anos) foram divididas em 2 grupos: Controle ($n=10$ pacientes sem osteopenia com T-score ≥ -1) e Teste ($n=10$ pacientes com osteopenia, $-1 \leq \text{T-score} \leq -2,5$) de acordo com o padrão estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). A ativação imediata de implantes osseointegrados foi realizada na mandíbula de todas as pacientes e avaliadas após 120 dias para os seguintes parâmetros clínicos: profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, placa visível, sangramento marginal, sangramento à sondagem, supuração e perda óssea marginal. Espectroscopias Raman associadas ao μ -EDXRF dos componentes minerais presentes das amostras ósseas removidas das mandíbulas das pacientes de ambos os grupos foram analisadas. Foram inseridos 76 implantes, sendo 40 implantes no grupo controle e 35 no grupo teste, sendo que 3 implantes restaurados imediatamente foram perdidos após 30 dias da cirurgia no grupo controle ($p > 0,05$). Os parâmetros clínicos e radiográficos obtidos aos 120 dias após terapia foram semelhantes entre os grupos ($p > 0,05$) exceto pelo índice de sangramento marginal que foi significativamente maior para o grupo controle ($p < 0,05$). A perda óssea média variou entre 0,72mm e 0,61mm para os grupos controle e teste respectivamente. Estas médias foram influenciadas mais pelo fator local (restauração imediata ou carregamento imediato) do que pelo estado sistêmico da paciente. O grupo controle apresentou maiores médias de componentes minerais como fosfato (PO_4), amida I, carbonato (CO_3)/ PO_4 e PO_4 /amida I, embora estas médias não diferissem entre os grupos ($p > 0,05$). Em conclusão, a ativação imediata de restaurações implanto-suportadas em mandíbulas totalmente ou parcialmente edêntulas não foi influenciada pela osteopenia 120 dias após a terapia.

Palavras-Chaves: Implantes Osseointegrados, Osteopenia/Osteoporose, Ativação Imediata, Espectroscopia Raman.

ABSTRACT

The aim of this prospective and controlled study was to evaluate the influence of osteopenia on immediate activation of dental implants through clinical and x-ray evaluations, and with the mineral concentration on the bone surface through Raman spectroscopy (FT-RS) and spectroscopy of micro-fluorescence of dispersive energy of x-rays (μ -EDXRF). Twenty patients (mean age of 61 years old) were divided in 2 groups: Control ($n=10$ patients without osteopenia with T-score ≥ -1) and Test ($n=10$ patients with osteopenia, $-1 \leq \text{T-score} \leq -2.5$) according with the standard established by World Health Organization (WHO). The immediate activation of the dental implants was performed in the lower jaws of the patients and evaluated after 120 days for the follow clinical parameters: probing depth, clinical attachment level, visible plaque, marginal bleeding, suppuration and marginal bone loss. Raman spectroscopy's associated with μ -EDXRF of the mineral components present in the bone specimens retrieved from the mandible of both groups were performed. 76 dental implants were placed, being 40 dental implants in control group and 35 implants in test group. 3 immediately restored implants were lost 30 days after surgery in control group ($p>0.05$). Clinical and radiographic parameters obtained 120 days after therapy were similar between groups ($p>0.05$) except for the marginal bleeding, which was higher in the control group ($p<0.05$). The mean of bone loss range between 0.72mm and 0.61mm to control and test groups respectively. These means were influenced more for local (immediate loaded and immediately restored) than systemic conditions of the patients. The control group presented higher means of mineral components such as phosphate (PO_4), amide I, carbonate (CO_3)/ PO_4 and PO_4 /amide I, although these differences did not show significance ($p>0.05$). In conclusion, the immediate activation of implant-supported restorations in totally or partially edentulous mandible was not influenced by osteopenia, at least after 120 days of therapy.

Key words: Dental Implants, Osteopenia/Osteoporosis, Immediate Activation, Raman Spectroscopy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema FT-Raman. Esse aparelho apresenta como fonte de excitação do sinal Raman um laser de baixa energia no infravermelho próximo (NIR, produzindo um espalhamento de luz na amostra que é captada por um espectrofotômetro, responsável por traduzir as vibrações em um espectro, caracterizado por bandas e picos referentes às ligações duplas C=C aromáticas e alifáticas Para retirar as informações relevantes, do fraco sinal espalhado pela amostra é empregada a técnica matemática da Transformada de Fourier. Os espectros obtidos via método de espectroscopia FT-Raman são produzidos nas seguintes etapas, (1) a luz de um laser NIR excita a amostra. Esta luz é espalhada em todas as direções. O interferômetro modula o sinal Raman que o atinge; (2) o detector registra o interferograma, dentro do qual está embutido o sinal Raman espalhado pela amostra; (3) o computador usa Transformada de Fourier para fazer a decodificação do interferograma e (4) o espectro FT-Raman da amostra, livre de luminescência	18
Figura 2	a) Exame de densitometria óssea realizado pelo <i>DXA (Dual energy X-ray absorptiometry)</i> ; b) Resultado obtido pelo DXA da cabeça do fêmur; c) Resultado do exame indicando paciente osteopênica	24
Figura 3	a) Ilustração esquemática do implante utilizado no estudo: corpo cilíndrico com ápice cônico e presença de micro espiras na porção cervical; b) Microscopia eletrônica de varredura da topografia doimplante (aumento de 500x); c) Microscopia de força atômica da superfície apresentando rugosidade média 6,5µm	28
Figura 4	a) Aspecto radiográfico e clínico pré-operatório; b) Vista oclusal da mandíbula, onde os implantes foram inseridos; c) Posicionamento da guia cirúrgica por meio de parafuso e inserção doimplante; d) Perfil do implante Black Fix, durante sua inserção; e) Implante inserido 1mm abaixo do nível ósseo; f) Vista oclusal, com os cicatrizadores micro-unit em posição; g) Vista vestibular. Prótese protocolo inferior e prótese total superior em posição; h) Radiografia panorâmica. Controle de 4 meses	30
Figura 5	a) Aparelho de Espectroscopia Raman; b) Suporte de amostra para a análise do Raman; c) Amostras de tecido ósseo das pacientes em tubos para a análise do Raman; d) Amostra de osso colocada no suporte pronta para ser analisada; e) Imagem gerada pelo computador do posicionamento da amostra	31 32
Figura 6	a) Aparelho de Micro-espectrometria de raio-x dispersivo – EDXRF; b) Suporte para colocação das amostras para a análise	33

Figura 7	Número de implantes osseointegrados e perdidos do grupo controle e teste após 120 dias de o tratamento. Teste Qui-quadrado $p>0,05$	37
Figura 8	Aspecto radiográfico da restauração imediata em região posterior da mandíbula de paciente do grupo controle. a) Inicial; b) 120 dias após cirurgia	38
Figura 9	Aspecto radiográfico da restauração imediata em região posterior da mandíbula de paciente do grupo osteopenia. a) Inicial; b) 120 dias após cirurgia	38
Figura 10	Aspecto radiográfico da carga imediata em paciente do grupo controle. a) Inicial; b) 120 dias após cirurgia	38
Figura 11	Aspecto radiográfico da carga imediata em paciente do grupo controle osteopenia. a) Inicial; b) 120 dias após cirurgia	38
Figura 12	Espectros de Raman obtidos antes (a) e após (b) remoção do ruído. Este procedimento foi realizado para normalizar os dados do gráfico evitando assim a interferência na leitura dos espectros	40
Figura 13	Média(\pm DP) dos picos de fostato (PO_4), carbonato (CO_3), proporção cálcio sobre fostato, proporção de cálcio sobre Amida I, e proporção de fosfato sobre Amidal, mensurados em unidades de área (u.a.) entre os grupos controle ($n= 10$ pacientes) e osteopenia ($n= 10$ pacientes). Teste t Student $p>0,05$	41
Figura 14	Media (+DP) das concentrações (mol) de cálcio (Ca), fósforo (P) e proporção Ca/P obtidos pelo EDX para os grupos controle e teste. Teste t student ($p>0,05$).....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Média (+DP) dos parâmetros clínicos e demográficos no exame inicial para os dois grupos avaliados	36
Tabela 02	Posição e comprimento dos implantes (4mm de diâmetro) usados no estudo para ambos os grupos	37
Tabela 03	Média (+DP) dos índices clínicos periodontais avaliados dos implantes osseointegrados aos 120 dias após terapia, para os dois grupos	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 - Osteopenia e Osteoporose	14
1.2 - Espectrometria de Micro-Fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF) e Espectroscopia Raman (FT-RS)	18
2. JUSTIFICATIVA	21
3. PROPOSIÇÃO	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 – Seleção inicial dos indivíduos	23
4.2 – Seleção dos indivíduos	23
4.3 - Inclusão das pacientes nos grupos de estudo	24
4.4 – Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos envolvidos no estudo	25
4.5 – Delineamento experimental	25
4.5.1 – <i>Exame radiográfico inicial (planejamento)</i>	25
4.5.2 – <i>Planejamento cirúrgico –protético (planejamento reverso)</i>	26
4.5.3 – <i>Inserção dos implantes e obtenção de amostra para Espectroscopia Raman e μ-EDXRF</i>	26
4.5.4 – <i>Instalação e moldagem dos pilares protéticos</i>	29
4.5.5 – <i>Confecção e instalação da prótese</i>	29
4.5.6 – <i>Processamento e avaliação do tecido ósseo por meio de Espectroscopia Raman por Transformada de Forrier (FT-RS)</i>	31
4.5.7 – <i>Processamento e avaliação do tecido ósseo por meio da Espectrometria de Micro-Fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ-EDXRF)</i>	32
4.5.8 – <i>Exame clínico e exame radiográfico</i>	33
4.6 - <i>Análise Estatística</i>	34
4.6.1 – <i>Avaliação clínica</i>	34
4.6.2 – <i>Avaliação radiográfica</i>	34
4.6.3 – <i>Avaliação do FT-RS e do μ-EDXRF</i>	35
4.6.4 – <i>Avaliação entre o número de implantes perdidos por grupo</i>	35
5. RESULTADOS	36

5.1 - Resultados clínicos	39
5.2 - Resultados estequiométricos	40
6. DISCUSSÃO	43
7. CONCLUSÃO	47
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1. INTRODUÇÃO

O tratamento utilizando implantes osseointegrados tem sido uma alternativa largamente empregada e muito bem sucedida na reabilitação protética do edentulismo total ou parcial (ASTRAND et al. 2008; VAN STEENBERGHE et al. 1999; FRIEBERG et al. 2001). A técnica convencional de instalação de implantes osseointegrados preconiza um período de cicatrização ou osseointegração que varia de 2 a 4 meses para implantes de superfícies tratadas. Entretanto, a técnica de utilização de implantes ativados imediatamente tem apresentado resultados muito promissores (DEGIDI et al. 2008; GLAUSER et al. 2007; DEGIDI et al. 2006; NKENKE & FENNER 2006). Essa modalidade reabilitadora apresenta índices de sucesso que variam de 85 a 100% tanto para restaurações quanto para carregamento imediato (NKENKE & FENNER 2006; GLAUSER et al. 2007). A terminologia “ativação imediata” de implantes osseointegrados pode referir-se tanto ao carregamento imediato quanto à restauração imediata dos implantes. Esses procedimentos têm como objetivos principais a redução do número de intervenções cirúrgicas e a diminuição do tempo de tratamento entre as fases cirúrgica e protética, oferecendo ao paciente a mesma previsibilidade do tratamento convencional. Essa ativação imediata foi definida como a inserção de uma estrutura protética ou componente protético associado a uma restauração implanto-suportada provisória em até 48 horas após a cirurgia de inserção do implante (COCHRAN et al. 2004). Essas restaurações podem ainda ser classificadas quanto ao tipo de oclusão: carregamento imediato, no qual a prótese provisória implanto-suportada apresenta contato oclusal com o arco antagonista ou restauração imediata, na qual não há contato direto entre a restauração implanto-suportada e o arco antagonista. A restauração imediata é muito empregada nos casos de próteses implanto-suportadas unitárias ou de até três elementos protéticos (DEGIDI et al. 2008).

1.1 Osteopenia e Osteoporose

A alta previsibilidade da técnica de carregamento protético imediato para restaurações implanto-suportadas é decorrente do desenvolvimento de novas macro e microestruturas constantemente avaliadas (SHIBLI et al., 2007; GRASSI et al., 2006; NKENKE & FENNER, 2006). Entretanto, as perdas dessas restaurações podem comprometer o tratamento reabilitador. Essas

perdas ou falências podem ser classificadas em precoces ou tardias. As perdas tardias estão relacionadas à infecção bacteriana, também conhecida como periimplantites (SHIBLI et al., 2003; SHIBLI et al., 2006; ESPOSITO et al., 1998) ou sobrecargas oclusais (ESPOSITO et al., 1998), enquanto as perdas precoces estão mais relacionadas a fatores locais e sistêmicos do indivíduo (QUIRYNEN et al., 2002; ESPOSITO et al., 1998; SHIBLI et al., 2005; ALSAADI et al., 2008).

Os fatores sistêmicos podem interferir nos eventos celulares básicos referentes à aposição e maturação do tecido ósseo ao redor do implante (VAN STEENBERGHE et al., 2002, VAN STEENBERGHE et al., 2003), resultando na interposição de tecido conjuntivo denso entre o tecido ósseo e a superfície do implante (ESPOSITO et al., 1999). Fatores sistêmicos como fumo, doenças imunossupressoras, diabetes, doenças cardiovasculares e a osteoporose parecem influenciar a longevidade das restaurações implanto-suportadas (ALSAADI et al. 2008). Com o crescente aumento da expectativa de vida da população brasileira ([HTTP://www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br) acessado em 20/05/2008) e da utilização de reabilitações implanto-suportadas, a osteoporose vem despertando grande interesse na classe odontológica (JEFFCOAT, 2008; SHIBLI et al., 2008).

A osteoporose é uma doença crônica, multifatorial e sistêmica que diminui a massa óssea e deteriora a microarquitetura do tecido ósseo, fazendo com que o indivíduo desenvolva um maior risco a fratura (CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON OSTEOPOROSIS, 1993). Normalmente, está relacionada à idade e é encontrada especialmente após a menopausa em mulheres (Manologas, 2000). Apesar da possibilidade dessa doença estar relacionada à perda clínica de inserção periodontal (WACTAWSKI-WENDE et al., 2005), ainda não existem estudos clínicos que apresentem uma correlação direta entre o insucesso do implante osseointegrado e a osteoporose (ELSUBEIHI et al., 2002; VAN STEENBERGHE, 2002). A literatura mostra que os implantes osseointegrados são contra-indicados ou podem ser considerados procedimentos de risco em pacientes com osteoporose (JEFFCOAT, 2005; HOLAHAN et al., 2008; FRIBERG et al., 2001). Isso tem como base a hipótese de que essa doença metabólica possa afetar o tecido ósseo dos maxilares da mesma forma que afeta outras partes do esqueleto, como a coluna lombar e fêmur (JEFFCOAT, 2006). Complementarmente, vários estudos têm apontado elevados índices de perda de implantes osseointegrados em áreas de baixa densidade e disponibilidade óssea - osso tipo IV (GRASSI et al., 2007; SHIBLI et al., 2007; JAFFIN & BERMAN, 1991; FRIBERG et al., 1991; QUIRYNEN et al., 1991).

Em indivíduos adultos, o tecido ósseo apresenta uma dinâmica e constante remodelação em resposta ao estresse mecânico e alterações hormonais. Essa remodelação ocorre a partir de unidades esqueléticas denominadas unidades de remodelação óssea ou *bone remodeling units (BMU)* e envolve um equilíbrio dinâmico entre a reabsorção óssea por osteoclastos e a aposição óssea por osteoblastos (MANOLOGAS 2000; VEGA et al., 2007). Cada ciclo de remodelação da BMU tem início a partir da transformação de uma superfície óssea latente ou inativa em uma superfície óssea reabsorvida, também denominada de lacuna de *Howship*, após ativação dos osteoblastos e osteoclastos via sistema canalicular. A reabsorção do tecido ósseo no processo de remodelação termina com a apoptose dos osteoclastos, seguida pela ativação celular dos osteoblastos, que por sua vez sintetizam a matriz óssea, que será mineralizada extracelularmente após a deposição dos osteoblastos, formando os osteócitos.

Embora haja evidências de que a deficiência de estrógeno estimule a reabsorção óssea por meio de citocinas, que aumentam a formação de osteoclastos, os fatores que regulam todo o processo ainda não estão totalmente elucidados (D'AMELIO et al., 2008; QIU et al., 2006). A atividade dos osteoclastos é regulada por várias citocinas, como as interleucinas-1, -6 e -11 (IL-1, IL-6, IL-11), por alguns hormônios, como o PTH, o 1,25-dihidroxi vitamina D3, e pela calcitonina. O fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor – TNF*), principalmente o TNF- α , é também um dos reguladores do processo de reabsorção óssea. Ele age diretamente na estimulação dos precursores osteoclásticos e indiretamente no controle do sistema osteoprotegerina (OPG) e o ligante do receptor do ativador *NF- κ B* - RANKL (*receptor activator of NF- κ B ligand*), moléculas fundamentais no metabolismo ósseo. A OPG é produzida pelos osteoblastos e age como engodo que compete com a RANKL (ÖZMEN et al., 2007). Essa interação inibe a proliferação e diferenciação de osteoclastos, prevenindo a reabsorção óssea. Durante a menopausa, o processo de reabsorção e aposição óssea sofre um desequilíbrio, havendo um estímulo no processo de osteoclasia, por meio do aumento da produção de RANKL e TNF pelos monócitos e células T.

Nesse contexto, vários autores têm avaliado e quantificado a osseointegração sobre a influência da osteoporose, tanto em estudos experimentais, utilizando modelos animais (DUARTE et al., 2003, OZAWA et al., 2002, GIRO et al., 2007; SAKAKURA et al., 2006; GIRO et al., 2008), quanto em avaliações clínicas (AMORIN et al., 2006; ASTRAND et al., 2008) e histológicas (SHIBLI et al., 2008; SHIBLI et al., 2008; MELO et al., 2008; SHIBLI et al., 2008).

Experimentos utilizando modelos animais (GIRO et al., 2008; GIRO et al., 2007; SAKAKURA et al., 2006; DUARTE et al., 2003, OZAWA et al., 2002), têm mostrado que a osteoporose influencia o processo de osseointegração, principalmente na porção óssea medular. Os estudos clínicos que avaliam a longevidade de implantes inseridos em pacientes com osteoporose são em grande parte retrospectivos (ALSAADI et al., 2008, VAN STEENBERGUE et al., 2006) ou apresentam resultados pouco conclusivos (AMORIN et al., 2006).

Neste ínterim, HOLAHAN et al., 2005 por meio de estudo retrospectivo, avaliaram 3224 implantes inseridos em 746 mulheres com 50 anos ou mais, divididas em pacientes do grupo saúde, osteopenia e osteoporose, sendo que o diagnóstico de osteopenia/osteoporose não foi significativo para a perda do implante quando comparado com o grupo que não apresentava a doença. Os autores sugeriram que o diagnóstico de osteopenia e osteoporose não contribuiu de forma efetiva para elevar o risco da perda de implante, e que os pacientes fumantes que não fumantes.

Em seu estudo de 2008, ALSAADI et al., realizaram um estudo retrospectivo para avaliar a influência de fatores sistêmicos e locais na ocorrência de perda de implante com dois anos de conexão protética. Os 412 pacientes que, juntos, apresentavam 1514 implantes instalados foram analisados em relação aos fatores endógenos que influenciassem na perda do implante, como hipertensão, problemas de coagulação, osteoporose, hipo-hipertireoidismo, quimioterapia, diabetes e fumo. Como resultado das avaliações, os principais problemas sistêmicos que afetaram a perda do implante foram radioterapias, diâmetro e localização do implante. Não foi encontrada nenhuma correlação entre perda do implante e osteopenia/osteoporose.

Recentemente, avaliando histologicamente implantes removidos de pacientes com e sem osteoporose, SHIBLI et al., 2008 observaram que não há diferenças entre o percentual de contato osso-implante entre esses pacientes, pelo menos após a osseointegração. Embora seja um resultado oriundo de estudo histológico retrospectivo, esses achados levantaram importantes questionamentos sobre a reabilitação de indivíduos osteoporóticos utilizando implantes osseointegrados.

Dentro desse contexto, a osteopenia é uma interface entre o normal e a doença osteoporose, sendo citada como a densidade mineral óssea intermediária entre o estado de normalidade e a osteoporose. O diagnóstico de osteopenia pode significar um grande risco para o futuro desenvolvimento da osteoporose (KANIS et al., 2008; WHO 2007).

1.2 Espectrometria de Micro-Fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF) e Espectroscopia Raman no infravermelho próximo (FT-RS).

O processo metabólico de aposição e reabsorção óssea presentes na osteoporose e osteopenia pode resultar em alterações na estrutura química do tecido ósseo (McCREADIE et al., 2006). As mudanças da composição química podem afetar o tamanho, a distribuição e o arranjo dos cristais de hidroxiapatita e, conseqüentemente o arranjo estrutural da arquitetura óssea.

A espectroscopia vibracional Raman está emergindo como um importante complemento dos métodos tradicionais de detecção, quantificação e imagem dos locais variáveis da estrutura molecular da matriz óssea mineral (CARDEN et al., 2000). A espectroscopia Raman provê resoluções em micro-níveis e pode ser usada para gerar imagens que conseguem mapear as variações da estrutura química do osso (PASCHALIS et al., 2004).

Esta técnica tem mostrado grande aplicabilidade no estudo de tecidos duros, como na estrutura da dentina (TSUDA et al., 1996), na investigação de mudanças químicas em canais dentários (KWON et al., 2004) e no estudo das mudanças na estrutura orgânica e inorgânica da dentina ocorrida pela irradiação de laser de Er:YAG (SOARES et al., 2007). Os espectros adquiridos são atribuídos mais à estrutura molecular do que aos elementos constituintes. As regiões de comprimento de onda de interesse, no caso de tecidos duros, são de $1800-100\text{ cm}^{-1}$ e $1020-900\text{ cm}^{-1}$. Os picos centrados em 968 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} , 1670 cm^{-1} correspondem aos deslocamentos dados pelas freqüências de vibração do fosfato ($\text{PO}_4^{3-}\nu_1$), carbonato ($\text{CO}_3^{2-}\nu_1$), ligação $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ e C=O (colágeno tipo 1), respectivamente.



Figura 01: Esquema FT-Raman. Esse aparelho apresenta como fonte de excitação do sinal Raman um laser de baixa energia no infravermelho próximo (NIR), produzindo um espalhamento de luz na amostra que é captada por um espectrofotômetro, responsável por traduzir as vibrações em um espectro, caracterizado por bandas e picos referentes às ligações duplas C=C aromáticas e alifáticas. Para retirar as informações relevantes do fraco sinal espalhado pela amostra é empregada a técnica matemática da Transformada de Fourier. Os espectros obtidos via método de espectroscopia FT-Raman são produzidos em 4 etapas: **(1)** a luz de um laser NIR excita a amostra. Esta luz é espalhada em todas as direções. O interferômetro modula o sinal Raman que o atinge; **(2)** o detector registra o interferograma, dentro do qual está embutido o sinal Raman espalhado pela amostra; **(3)** o computador usa Transformada de Fourier para fazer a decodificação do interferograma e **(4)** o espectro FT-Raman da amostra, livre de luminescência.

McCREADIE et al. 2006, avaliaram em seus estudos a composição química do tecido ósseo a fim de obter informações sobre a densidade óssea mineral entre indivíduos normais e osteoporóticos. Através dos espécimes de osso trabecular analisados pela espectroscopia Raman, os resultados obtidos mostraram que mulheres que tiveram ossos fraturados têm uma média de área maior da proporção carbonato/amida I do que o grupo normal. Esses resultados sugerem que a composição química do tecido ósseo pode ser um fator de risco adicional para fraturas em indivíduos com osteoporose.

Complementarmente à espectroscopia Raman, avaliações do componente mineral da superfície do tecido ósseo, utilizando micro-espectrometria de fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF), têm sido realizadas (SOARES et al., 2007).

A técnica analítica de fluorescência de raios-X por energia dispersiva (μ -EDXRF), é semi-quantitativa, baseando-se na medida da intensidade (número de fótons coletados por unidade de tempo) dos raios-X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra

quando devidamente excitada (BERTIN, 1978). A intensidade da energia característica emitida pelos componentes da amostra é diretamente proporcional à concentração de cada elemento presente na amostra. Portanto, uma avaliação quantitativa por comparação pode ser conduzida para se determinar a relação entre os teores dos elementos cálcio (Ca) e fósforo (P) presentes no composto mineral (hidroxiapatita) da estrutura óssea. Nessa técnica é necessário o uso de padrões primários e, em alguns casos, de padrões secundários para quantificar, por interpolação, os teores composicionais em uma determinada amostra.

Dentre as principais vantagens da μ -EDXRF, pode ser citada que a mesma é uma técnica analítica não-destrutiva, a varredura pode ser feita rapidamente, o resultado pode ser obtido em tempo real e destaca-se o fato de que não há qualquer necessidade de preparação prévia da amostra. A análise por μ -EDXRF é muito utilizada para estudo de materiais inorgânicos. Nos últimos 10 anos, essa técnica também tem sido utilizada para o estudo de tecidos biológicos (BUENO et al., 2005).

A espectroscopia FT-Raman é uma técnica analítica não-destrutiva que fornece informações sobre as ligações orgânicas dos componentes e, portanto, complementar à técnica de fluorescência de raios-X. A análise por μ -EDXRF, em conjunto com a espectroscopia Raman proporcionará a aquisição de um número maior de informações das alterações químicas que podem ocorrer nos componentes da estrutura óssea.

2. JUSTIFICATIVA

Embora haja algumas evidências sobre o efeito adverso da osteoporose sobre o processo de osseointegração, principalmente na porção óssea medular, observado em estudos utilizando modelos animais, ainda existem controvérsias sobre a longevidade dessas restaurações implanto-suportadas. Essas evidências são quase sempre obtidas de avaliações retrospectivas. Recentemente, SHIBLI et al., 2008, avaliando histologicamente implantes removidos de pacientes com e sem osteoporose, observaram que não havia diferenças entre o percentual de contato osso-implante entre esses pacientes, pelo menos após a osseointegração. Embora esse seja um resultado oriundo de estudo histológico retrospectivo, esses achados também levantaram importantes questionamentos sobre a reabilitação de indivíduos osteoporóticos utilizando implantes osseointegrados. Durante o processo de submissão e publicação do artigo supra-citado o editor chefe do *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, Professor Piet E. Haers, comentou em uma de suas mensagens a importância e relevância do tópico osteoporose: *"The topic osteoporosis and dental implants is "hot" since many years but no real progress has been made to identify this as a risk factor (clinical trials and animal experiments). The present paper contributes to the discussion from a completely other point of view (retrieved histologies). This is a good idea and the material is unique and the study is to my knowledge the first of its kind in the literature. According to the bone specialists osteoporosis quite confident that this paper, although the conclusion shows no differences and the groups may not be comparable, will be quoted in the literature in the future."*

Como esse assunto ainda é controverso na literatura, são necessários estudos clínicos prospectivos e controlados, para uma melhor compreensão da influência da osteoporose e osteopenia sobre a osseointegração.

3. PROPOSIÇÃO

A proposição geral desse estudo prospectivo e controlado foi avaliar a influência da osteopenia sobre implantes osseointegrados de ativação imediata. Especificamente, os objetivos foram:

- Avaliar a influência da osteopenia através de parâmetros clínicos e radiográficos a perda óssea da crista óssea ao redor de implantes de ativação imediata após 4 meses sob função

- Avaliar a concentração de mineral da superfície do tecido ósseo através da espectroscopia Raman por Transformada de Forrier (FT-RS) e os níveis de Ca e P através da Espectrometria de fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF), dos fragmentos ósseo removidos da mandíbula de pacientes com osteopenia.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Seleção Inicial dos indivíduos

Os indivíduos selecionados para esse estudo foram obtidos por meio de uma triagem realizada nas dependências da Universidade de Guarulhos – UnG. Estas pacientes foram selecionadas no projeto de inclusão social realizada pela UnG, através da faculdade da Terceira Idade. Trezentos e sessenta mulheres na menopausa, com idade entre 55 e 85 anos foram inicialmente avaliadas. Para a verificação do estado de osteoporose/osteopenia, foi utilizado ultrassom de Calcâneo (*GE, Achilles Express™ Specification, São Paulo, Brasil*), que forneceu um *T-score* inicial, no qual se realizou a classificação do estado ósseo da paciente baseado na densidade do calcâneo. Esse exame fornece, aproximadamente, 98,5% de confiabilidade quando comparado aos 100% de eficácia do DXA (*Dual energy X-ray absorptiometry*). Nesse exame inicial as pacientes foram classificadas em saudáveis, osteopênicas e osteoporóticas e avaliadas por meio de uma anamnese simplificada para coleta de informações sobre histórias médicas pregressas e atuais (diabetes, problemas vasculares e oncológicos) além do hábito de fumar. Caso a paciente apresentasse qualquer uma destas características, ela era excluída do projeto e encaminhada para exame odontológico na clínica da graduação da UnG.

4.2 - Seleção dos indivíduos

Após seleção inicial, as pacientes foram examinadas clínica e radiograficamente para o estado bucal (edentulismo parcial ou total), cáries, raízes residuais, periodontia e endodontia. Após a análise clínica e radiográfica, as pacientes que apresentaram no mínimo 15mm de altura óssea e espessura óssea determinado pelo exame clínico, através do uso do especímetro, foram selecionadas para a pesquisa, e encaminhadas ao Departamento de Medicina, Disciplina de Endocrinologia Clínica, da Universidade Federal São Paulo (UNIFESP) para a realização do DXA e confirmação dos valores provenientes do exame de calcâneo (*Figura 02*).

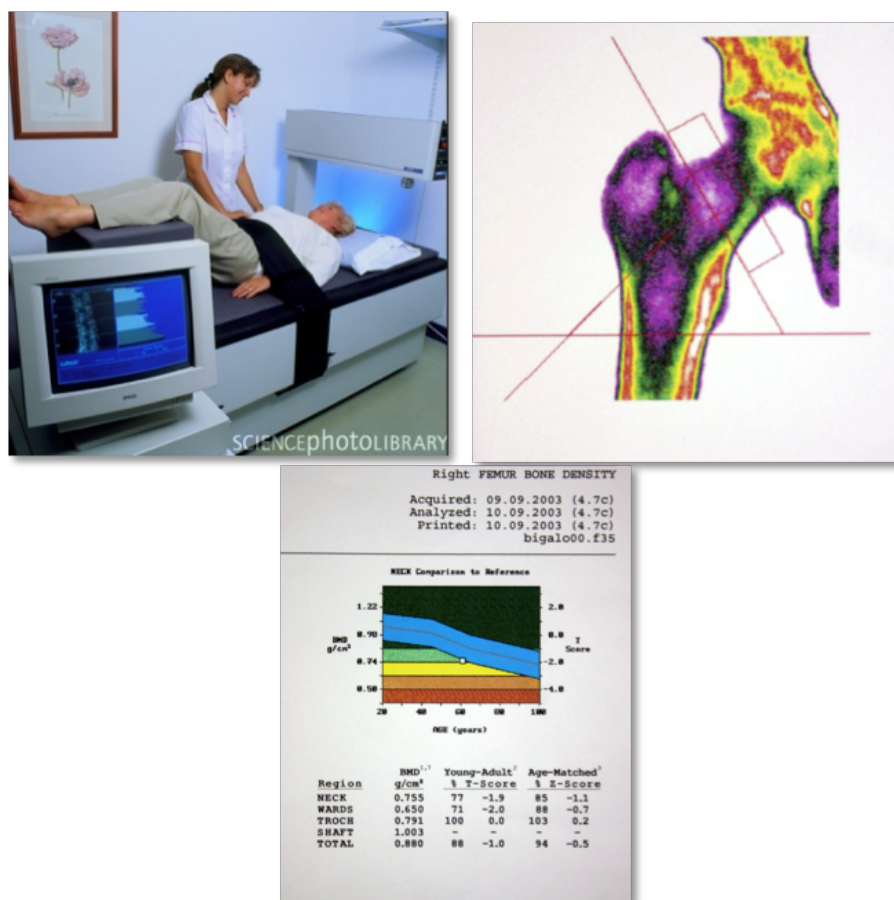


Figura 02: a) Exame de densitometria óssea realizado pelo DXA (Dual energy X-ray absorptiometry); b) Resultado obtido pelo DXA da cabeça do fêmur; c) Resultado do exame indicando paciente osteopênica.

4.3 - Inclusão das pacientes nos grupos de estudo

Para o estudo foram selecionadas 20 mulheres adultas entre 55 e 85 anos de idade que já passaram a fase da menopausa, com e sem osteopenia confirmada pelo exame de densitometria óssea, DXA da cabeça do fêmur e da 2ª. e 4ª. vértebras lombares, divididas da seguinte forma: 10 pacientes sem osteopenia (grupo controle, $T\text{-score} \geq -1$) e 10 pacientes com osteopenia (grupo Teste, $-1 \leq T\text{-score} \leq -2,5$) (OMS, KANIS 2008).

As pacientes foram submetidas à anamnese (história médica e odontológica) e exames clínicos extra- (edemas, manchas, assimetrias) e intra-orais (quantidade de tecido mole remanescente, presença ou ausência de dentes na cavidade oral, e exames periodontais). Exames complementares pré-operatórios, incluindo hemograma, coagulograma, glicemia, calcemia e creatinina foram solicitados para todas as pacientes. Esses exames foram realizados no Centro de Análises Clínicas e Farmacêuticas da UnG.

4.4 - Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos envolvidos no estudo

Os critérios de exclusão gerais dos indivíduos avaliados nesse estudo foram: doenças crônicas tais como artrite reumatóide e diabetes; fumantes e ex-fumantes; alcoolismo crônico; uso de gluco-corticoesteróides ou outras drogas imunossupressoras; doença periodontal crônica generalizada ou localizada, moderada/avançada (caracterizada como a presença de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção ≥ 5 mm e sangramento a sondagem em mais de 30% dos sítios); doenças da mucosa oral; histórico de radioterapia na região de cabeça e pescoço; insuficiente disponibilidade de tecido ósseo que inviabilizasse a inserção de implantes osseointegrados; estabilidade primária do implante durante a inserção < 30 N/cm; exclusão de medicamentos de hormônio. Indivíduos com edentulismo apenas na maxila também foram excluídos do estudo; foram realizadas cirurgias apenas na mandíbula.

Os indivíduos incluídos na amostra populacional foram informados dos procedimentos clínicos e das coletas das amostras de tecido ósseo para a análise por Espectroscopia Raman e EDX aos quais se submeteram, e assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (Processo CEP-UnG 147/2007).

4.5 - Delineamento experimental

Inicialmente, todas as pacientes (n=20) foram submetidas à anamnese, exame clínico e radiográfico. Logo após, as pacientes foram distribuídas em 2 grupos de 10 pacientes cada, de acordo com a presença ou não da osteopenia.

Todas as pacientes com osteopenia foram monitoradas pelo Departamento de Medicina, Disciplina de Endocrinologia Clínica, da Universidade Federal São Paulo (UNIFESP). Essas pacientes foram orientadas a fazer exercícios, tomar banhos de sol por pelo menos 30 minutos por dia para que o organismo realize o processo de síntese da vitamina D através da pele.

4.5.1 - Exame radiográfico Inicial (planejamento)

Realizou-se análise radiográfica, através de exames panorâmicos para todos os indivíduos e periapicais completos, para pacientes parcialmente edêntulos, objetivando avaliar a estrutura óssea para o planejamento cirúrgico-protético.

4.5.2 - Planejamento Cirúrgico-Protético (planejamento reverso)

Após a seleção dos indivíduos, todos passaram pelas seguintes etapas para a realização o planejamento reverso da cirurgia e da restauração protética: moldagem inicial para confecção da moldeira individual, moldagem funcional, tomadas das guias e planos de referência (rolete de cera), tomada do arco facial e montagem em articulador semi-ajustável, prova dos dentes em cera e planejamento cirúrgico-protético para realização da cirurgia apenas na mandíbula. O arco oposto, caso fosse total ou parcialmente desdentado, foi reabilitado por meio de prótese removível convencional. Os indivíduos receberam o número necessário de implantes osseointegrados na região edêntula (no mínimo um implante – restauração imediata – em áreas parcialmente edêntulas e no máximo seis implantes – carga imediata – em áreas totalmente edêntulas), dependendo da disponibilidade de tecido ósseo remanescente e do planejamento reverso (cirúrgico-protético).

Para o cálculo dessa amostragem, foi realizado cálculo da potência para perda óssea vertical e índice de sobrevivência (<http://stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/n2.html>), baseado nos resultados dos estudos de PAYERET et al., 2008 e AMORIN et al., 2007, encontrando uma potência de 80% para uma amostragem de 10 a 13 pacientes.

4.5.3 - Inserção dos implantes e obtenção de amostra para Espectroscopia Raman e μ -EDXRF

Os implantes osseointegrados do tipo cone morse *platform switching* (Titanium Fix, São José dos Campos, SP) com tratamento de superfície em todo o seu desenho a base de óxido de alumina com partículas de 100 μ m e ácido nítrico (Figura 03), foram inseridos seguindo as instruções do fabricante. Um a seis implantes (com diâmetro de 4,0mm e comprimento mínimo de 10mm) foram inseridos na região edêntula. Após elevação de retalho total e adequação do rebordo ósseo (quando necessário) por meio de fresas, brocas e raspadores ósseos, a guia cirúrgica, confeccionada após planejamento reverso, foi presa ao rebordo por meio de parafusos para fixação (1,6mmx8mm) ou nos dentes adjacentes para evitar o deslocamento da mesma durante o preparo das lojas cirúrgicas. Uma das perfurações foi realizada com o auxílio de uma fresa tipo trefina com o diâmetro idêntico ao da fresa cirúrgica (2,0mm de diâmetro) para obtenção de fragmento de tecido ósseo da paciente. Estes fragmentos ósseos foram armazenados em nitrogênio líquido e posteriormente em freezer a -86°C, para permitir avaliação

por meio de espectroscopia Raman no infravermelho próximo (ER-IVP) e do espectrometria de micro-fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF), no Lab. De Espectroscopia Vibracional Biomédica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, IP&D/UNIVAP.

Foto analise forca atomica Figura 3

As perfurações restantes foram realizadas seguindo o protocolo de fresagem (brocas helicoidais 2,5 mm até 3,4mm) com profusa irrigação com solução fisiológica estéril até confecção final dos sítios cirúrgicos que receberam os implantes. Os implantes foram inseridos com auxílio de torquímetro manual, até no máximo 2mm abaixo da crista óssea, e somente submetidos à ativação imediata caso apresentassem uma estabilidade primária igual ou superior a 30N/cm. Os implantes que não apresentaram estabilidade primária foram ativados tardiamente pelo método convencional (após 4 meses de osseointegração) e foram excluídos (os implantes) do estudo. (ver item **4.4 - Critérios de inclusão e exclusão dos indivíduos envolvidos no estudo**).

4.5.4 - Instalação e moldagem dos pilares protéticos

Após a inserção dos implantes, pilares tipo mini pilar cônico ou *microunit* (próteses múltiplas aparafusadas) ou tipo UCLA (próteses unitárias aparafusadas) foram selecionados e instalados, ainda com o campo aberto, segundo instruções do fabricante para verificar a adaptação do pilar ao implante (Figura 04). Os pilares apresentaram altura de cinta (distância base da prótese-base de assentamento do pilar) de 1,0 a 4mm, dependendo da espessura da mucosa e da profundidade de inserção do implante. Suturas simples com fios de seda 4.0 foram realizadas e moldagens de transferência com silicone de adição realizadas para obtenção do modelo de trabalho por meio de moldagens de arrasto.

4.5.5 - Confecção e instalação da prótese

Sobre o modelo de trabalho, foi confeccionada a estrutura metálica ou restauração provisória de resina sobre a qual foi confeccionada a prótese implanto-suportada provisória para ser submetida à carga imediata ou restauração imediata. No caso de estruturas metálicas, elas foram confeccionadas com titânio por meio de soldas de plasma (Micro-pulse, EDG, São Carlos, SP) que, posteriormente, foram recobertas por resina acrílica. A prótese foi instalada, dentro de no máximo 48 horas após o procedimento cirúrgico (COCHRAM et al., 2004).

FOTOS CLINICAS figura 4

4.5.6 - Processamento e avaliação do tecido ósseo por meio de Espectroscopia Raman por Transformada de Forrier – FT-RS

Os fragmentos de tecido ósseo, removidos por meio de trefina antes da inserção dos implantes osseointegrados, foram acondicionados em frascos apropriados para manutenção em tambor de nitrogênio líquido e, posteriormente, acondicionados em freezer a -86°C (LOPES et al., 2005, LOPES et al., 2007).

Antes da análise Raman, as amostras foram removidas do freezer a -86°C e permaneceram à temperatura ambiente (Figura 05). As análises foram realizadas em um espectrômetro FT-RS (RFS 100/S – Bruker Inc., Karlsruhe, Germany) no Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica do IP&D – UNIVAP, São José dos Campos, SP (Figura 05). As amostras foram excitadas por um laser de Nd:YAG ($\lambda=1064\text{ nm}$). A potência do laser de excitação utilizada sobre a amostra foi de 250 mW com resolução espectral de 4 cm^{-1} . Para cada amostra, os espectros foram coletados, longitudinalmente, em 3 pontos diferentes sobre a superfície óssea, 300 varreduras cada, resultando em um total de 36 espectros. Para análise espectral qualitativa e semi-quantitativa, primeiramente foi necessário o ajuste da linha-base, ruído de fundo, usando para tal uma rotina matemática especificamente utilizada no software *Matlab*, gentilmente cedido pela Prof^a. Dr^a. Anita Mahadevan-Jansen (*Vanderbilt University, USA*).

As mudanças dos componentes orgânicos e inorgânicos da superfície óssea foram analisadas por comparação das áreas integradas pelos picos do Raman centrados em 1071 cm^{-1} , 2940 cm^{-1} e o pico de 961 cm^{-1} . As áreas integradas dos picos foram calculadas pelo software *Microcal Origin 7.0* (*Microcal Software, nv., Northampton, MA, USA*).

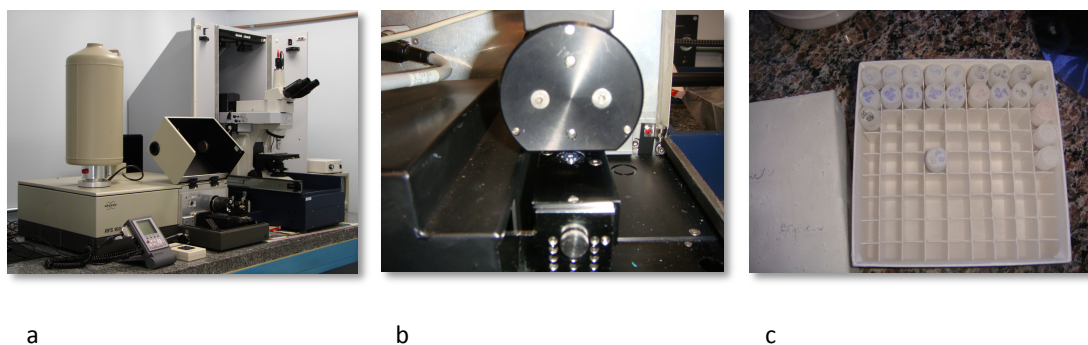


Figura 05: a) Aparelho de Espectroscopia Raman; b) Suporte de amostra para a análise do Raman; c) Amostras de tecido ósseo das pacientes em tubos para a análise do Raman.

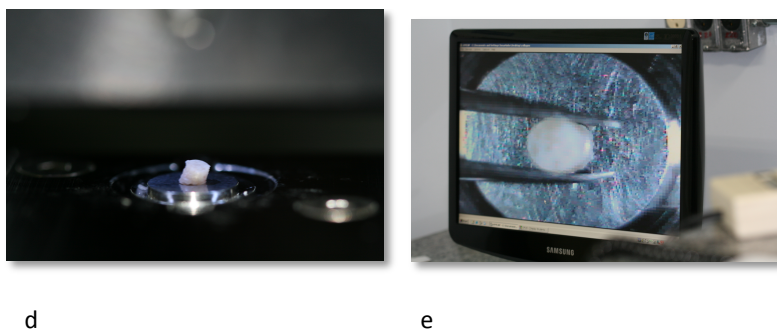
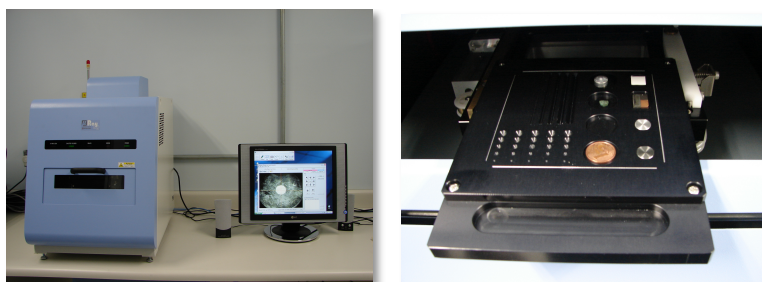


Figura 05: d) Amostra de osso colocada no suporte pronta para ser analisada; e) Imagem gerada pelo computador do posicionamento da amostra.

4.5.7 - Processamento e avaliação do tecido ósseo por meio da Espectrometria de Micro-Fluorescência de raios-x por energia dispersiva (μ -EDXRF)

As análises dos componentes minerais, cálcio (Ca) e fósforo (P) das amostras foram realizadas em um espectrômetro de Fluorescência de Raios-X marca Shimadzu (Kyoto, Japan), modelo μ EDX-1300, no LEVB/IP&D/UNIVAP, equipado com um tubo de raio-x de rhodium e um detector semi-condutor de Si(Li) resfriado por nitrogênio líquido (N_2) (Figura 06). Esse equipamento é acoplado a um computador para aquisição e processamento de dados. Nas análises de μ -EDXRF, as amostras foram colocadas na câmara e a superfície das amostras foram irradiada com raios-X, sendo realizada uma varredura longitudinal de 3 pontos equidistantes da superfície óssea da amostra dos grupos controle e osteopenia. As medidas foram tiradas com uma média de 200 leituras por ponto em tempo real e um tempo de integração de 25%. A faixa de medida da energia dos fótons foi de 0,0 – 20,0 eV. A calibração do equipamento foi feita utilizando-se, como referência, reagente comercial certificado de hidroxiapatita estequiométrica - $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ - com grau de pureza mínimo 99,999%. As medidas foram coletadas utilizando-se os parâmetros fundamentais da emissão de raios-x característicos dos elementos Ca e P, onde os elementos O, H e C foram usados para o balanço químico. A energia de calibração foi ajustada usando padrões internos do equipamento (Al).



a

b

Figura 06: a) Aparelho de Micro-espectrometria de raio-x dispersivo – EDXRF; b) Suporte para colocação das amostras para a análise.

4.5.8 - Exame clínico e Exame radiográfico

Após aparafusamento da prótese provisória, ela permaneceu em posição por um período de 120 dias para evitar micromovimentos e, conseqüentemente, a perda do implante osseointegrado. As pacientes foram acompanhadas semanalmente durante o primeiro mês para avaliação pós-operatória, instrução de higiene oral e checagem de oclusão das restaurações implanto-suportadas, e mensalmente até o período de 4 meses.

Os parâmetros clínicos perimplantares foram avaliados somente após completados 120 dias de pós-operatório, quando as próteses foram removidas e os implantes avaliados. A perda de osseointegração foi verificada segundo a presença de dor ou mobilidade. Após confirmação da osseointegração, foi realizada a avaliação clínica para os seguintes parâmetros: presença (1) ou ausência (0) de placa bacteriana visível, sangramento marginal, sangramento à sondagem e supuração; profundidade de sondagem (mm) - caracterizada pela distância da margem periimplantar até o fundo do sulco, nível clínico de inserção (mm) - caracterizado pela distância de ponto fixo previamente determinado (junção conector/implante) até o fundo de sulco.

O exame periimplantar foi realizado por um único examinador previamente treinado e calibrado (ARAÚJO *et al.* 2003). As medidas de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção foram determinadas utilizando uma sonda periodontal manual do tipo Carolina do Norte (PCPUNC 15 Hu-friedyMfg Co Inc. Chigago, IL, EUA). As mensurações foram realizadas em 6 faces do implante: mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, médio-lingual e disto-lingual.

Os exames radiográficos foram realizados por meio de filmes do tipo Ektaspeed (*Kodak, Eastman Co, EUA*) utilizando-se a técnica do paralelismo nas seguintes consultas: 0 e 120 dias. As radiografias obtidas foram processadas pelo método tempo-temperatura e logo após digitalizadas por meio de câmera digital (*Canon EOS 300D, Tokyo, Japão*). Em seguida, foram realizadas as mensurações da distância entre a base do conector protético e a crista óssea alveolar periimplantar, utilizando-se o software *Image Tool 3.0* (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Os critérios adotados para definir a remodelação crestal periimplantar foram baseados da distância entre o conector protético e a crista óssea alveolar periimplantar, obtida no tempo 0 (baseline) e 120 dias após cirurgia. Estas mensurações foram realizadas por um único examinador previamente treinado com o auxílio das medidas reais do implante. Este cálculo dado pelo software teve sua distorção minimizada tendo como referencia as medidas reais do implante

4.6 - Análise estatística

4.6.1 - Avaliação clínica

Parâmetros clínicos foram analisados em 6 sítios por implante, em cada indivíduo. A média das mensurações clínicas de profundidade de sondagem e nível clínico de inserção, assim como a média da porcentagem de sítios apresentando placa visível, sangramento marginal, sangramento à sondagem e supuração foram computados para cada implante, em seguida para cada indivíduo e dentro de cada grupo. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para examinar diferenças entre os grupos. Significância estatística foi estabelecida a nível de 5% ($p < 0,05$).

4.6.2 - Avaliação radiográfica

A avaliação radiográfica foi realizada pelo software *Image tool 3.0* onde foram obtidas as medidas da distancia entre a base do conector protético e a crista óssea perimplantar remanescente no tempo 0 e 120 dias, na mesial e distal, sendo estas medidas computadas para cada implante, em seguida para cada indivíduo e dentro de cada grupo. O teste de Mann-Witney foi utilizado para examinar diferenças entre os grupos. Significância estatística foi estabelecia a nível de 5% ($p < 0,05$).

4.6.3 - Avaliação dos dados estequiométricos do FT-RS e do μ -EDXRF

As médias das mensurações e o desvio padrão dos valores obtidos após análise da espectroscopia, dados estequiométricos, foram calculados para cada amostra e, posteriormente, dentro de cada grupo. Foi realizado testes de normalidade e o teste *t* de *student* para examinar diferenças entre os grupos. A significância estatística foi estabelecida a nível de 5% ($p < 0,05$).

4.6.4 – Avaliação entre o número de implantes perdidos por grupo

A avaliação do número de implantes perdidos em cada grupo foi realizada utilizando o teste de Qui-quadrado, sendo a significância estatística estabelecida a nível de 5% ($p < 0,05$)

5. RESULTADOS

Os resultados para as características epidemiológicas de todos os indivíduos e as médias dos parâmetros clínicos periodontais no exame inicial das pacientes parcialmente edêntulos (Tabela 01) demonstraram que os grupos eram homogêneos ($p>0,05$) no início do estudo, exceto pelos valores do *T-score*, no qual as pacientes com osteopenia apresentaram menores escores ($p<0,05$), dado este justificado pelo critério de inclusão.

Tabela 01 – Média (+DP) dos parâmetros clínicos periodontais e demográficos no exame inicial para os dois grupos avaliados.

	Grupo Controle	Grupo Teste
Número de pacientes	10	10
Idade (anos)	61,81±5,2	61,70±7,6
DXA*	0,17±0,71	-1,52±0,31
<i>n</i> Edêntulos		
Totais ^{NS}	2	4
Parciais ^{NS}	8	6
PS (mm) ^{NS}	2,23±0,98	1,77±0,51
NIC (mm) ^{NS}	1,15±1,0	1,26±1,1
% Sítios		
IP ^{NS}	13,82±3,82	7,8±2,33
IG ^{NS}	3,58±1,28	2,32±1,96
SS ^{NS}	11,40±6,71	10,25±6,11
SUP ^{NS}	0	0

Teste de Mann-Witney, * $p<0,05$ e ns $p>0,05$. DXA=Dual energy X-ray absorptiometry ; PS=Profundidade de Sondagem; NIC=Nível de Inserção Clínica; IP=Índice de Placa; IG=Índice Gengival; SS=Sangramento a Sonda; SUP=Supuração.

Os dados obtidos das características dos implantes inseridos nas pacientes com e sem osteopenia estão apresentados nas Tabelas 02. Todas as 20 pacientes selecionadas no início do estudo e distribuídas entre os 2 grupos permaneceram até o término da avaliação. Ao todo, foram inseridos 76 implantes, sendo 41 no grupo controle e 35 no grupo teste. 40 implantes

foram restaurados imediatamente e 35 receberam carga imediata. Entretanto, 3 implantes inseridos em 3 pacientes do grupo controle parcialmente edêntulas, que receberam restaurações implanto-suportadas bilateralmente na mandíbula apresentaram mobilidade em um dos implantes após 30 dias da instalação das restaurações, e foram removidos, sendo excluídos da avaliação. Um implante não foi ativado por não atingir o torque necessário para carregamento da restauração imediata. Portanto, ao final do estudo, 72 implantes foram avaliados (37 do grupo controle e 35 do grupo teste) (Figura 07).

Tabela 02: Posição e comprimento dos implantes (4mm de diâmetro) usados no estudo para ambos os grupos.

Grupos	Número de Implantes	Comprimento (mm)	Posição dos Implantes												
			47	46	45	44	43	42	41	31	33	34	35	36	37
Controle	37	10,0		1										3	
		11,5		2	2	2		1	2	3		2	2	2	1
		13			1	3		1				4	1	2	1
		15													
Teste	35	10				1								2	
		11,5		1			1				1	3	1		
		13	1	2		1	2		2	2	1		1	2	
		15		2	1	2			2	2		3			
TOTAL			1	8	4	9	3	2	6	7	1	10	7	12	2

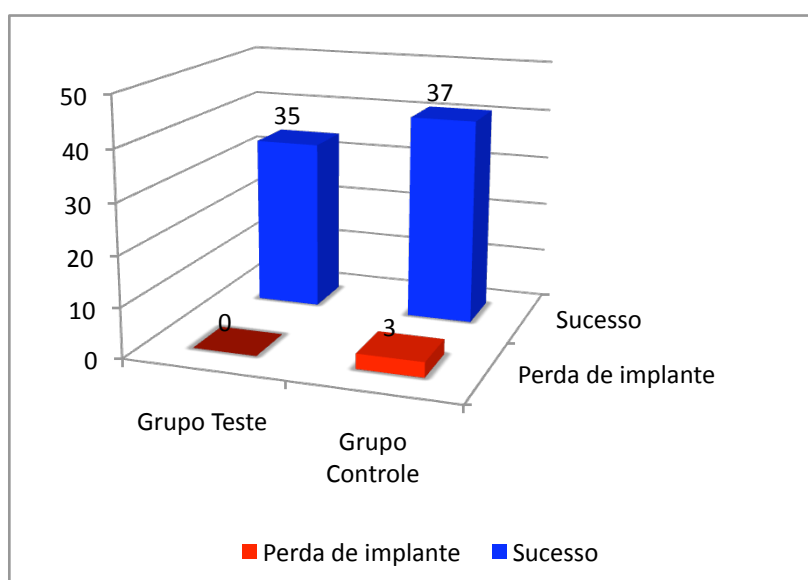


Figura 07: Número de implantes osseointegrados e perdidos do grupo controle e teste após 120 dias de o tratamento. Teste Qui-quadrado $p > 0,05$.

FOTOS RAIOS X figura 8, 9, 10, 11

Quanto às restaurações implanto-suportadas remanescentes, aos 120 dias pós operatório nenhuma das próteses instaladas apresentou qualquer problema como fraturas, solturas de parafusos ou dos dentes (nos casos de protocolos). Algumas pacientes que receberam protocolos fixos imediatos relataram aumento da retenção alimentar sob a prótese devido à retração da mucosa e adaptação do rebordo ósseo após período de cicatrização.

5.1 - Resultados clínicos

120 dias após terapia, as 20 pacientes foram avaliadas para os parâmetros clínicos periodontais dos implantes inseridos (Tabela 03). Nenhum dos implantes apresentou retração ou hiperplasia periimplantar. Ambos os grupos apresentaram características clínicas semelhantes, exceto para o índice sangramento marginal, que foi significativamente maior para o grupo controle ($p < 0,05$). Em relação à remodelação óssea periimplantar, os valores obtidos variaram entre 0,72mm e 0,61mm para os grupos controle e teste respectivamente. A maior perda óssea foi observada nos implantes unitários restaurados imediatamente em ambos os grupos (0,73mm para implantes restaurados e 0,52mm para os implantes carregados).

Tabela 03: Média (+DP) dos índices clínicos peri-implantares avaliados dos implantes osseointegrados aos 120 dias após terapia, para os dois grupos.

	Grupo Controle	Grupo Teste
PS (mm) ^{NS}	3,37±0,71	3,94±1,63
NIC (mm) ^{NS}	2,51±0,45	2,42±0,57
PO (mm) ^{NS}	0,72±0,28	0,61±0,52
% sítios		
IS*	28,37±26,94	5,55±16,66
IP ^{NS}	3,12±5,78	0
SS ^{NS}	27,39±45,03	16,01±33,02
SUP ^{NS}	0	0

PS: Profundidade de sondagem; NCI: nível clínico de inserção, PO: Perda óssea radiográfica; IS: índice de sangramento marginal; IP: índice de placa visível; SS: sangramento a sondagem; SUP: supuração. Teste de Mann-Whitney: * $p < 0,05$; ns: não significativo $p > 0,05$.

5.2 - Resultados da Caracterização química do Raman e Caracterização química por espectrometria de Micro-fluorescencia.

Os espectros obtidos pelo técnica FT-RS estão apresentados na Figura 13. Esses dados foram obtidos após redução do *background* e do ruído presentes nas amostras durante a varredura dos espécimes (Figura 12). Os picos referentes ao fosfato (PO_4), carbonato (CO_3), assim como as proporções de CO_3 /amida e PO_4 /amida, embora fossem maiores para o grupo controle, não diferiram significativamente entre os grupos ($p > 0,05$).

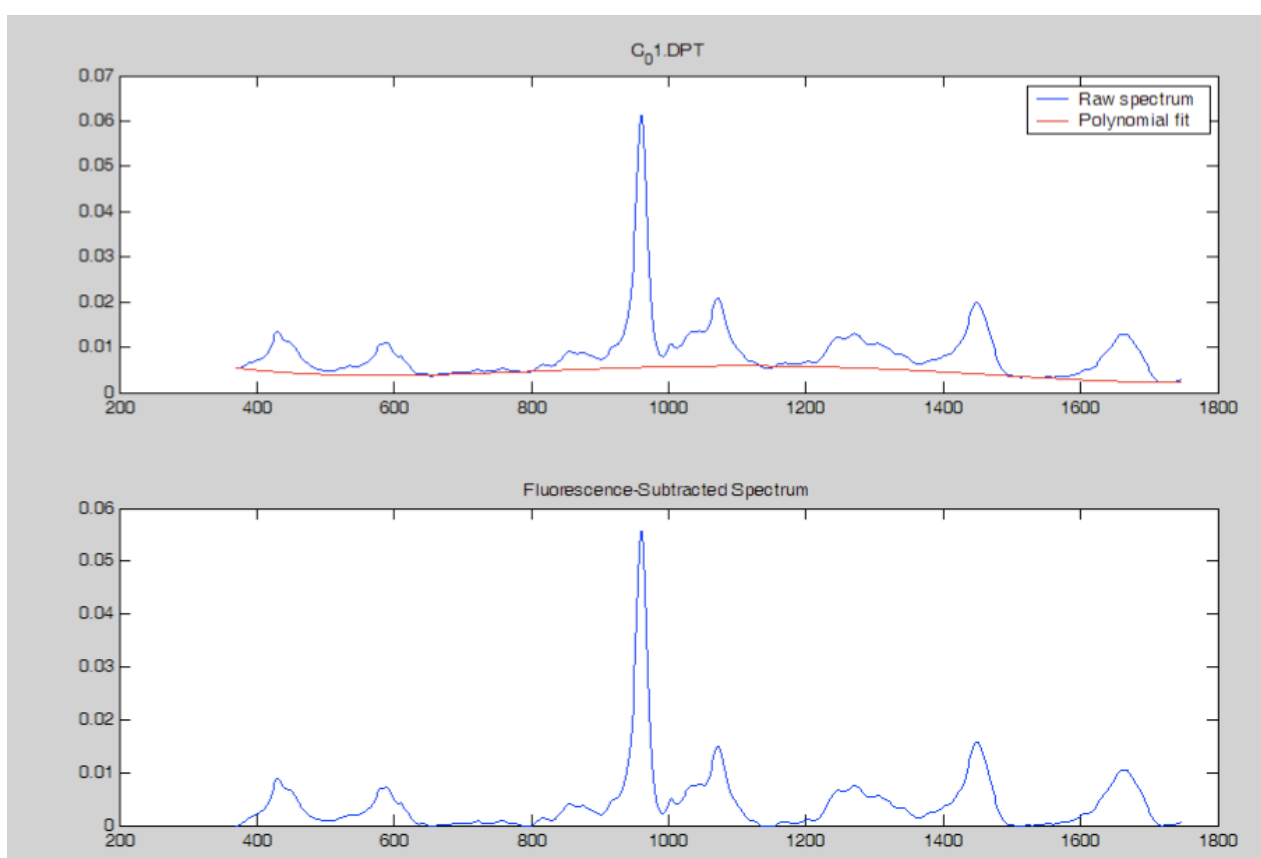


Figura 12: Espectros de Raman obtidos antes (a) e após (b) remoção do ruído. Este procedimento foi realizado para normalizar os dados do gráfico evitando assim a interferência na leitura dos espectros.

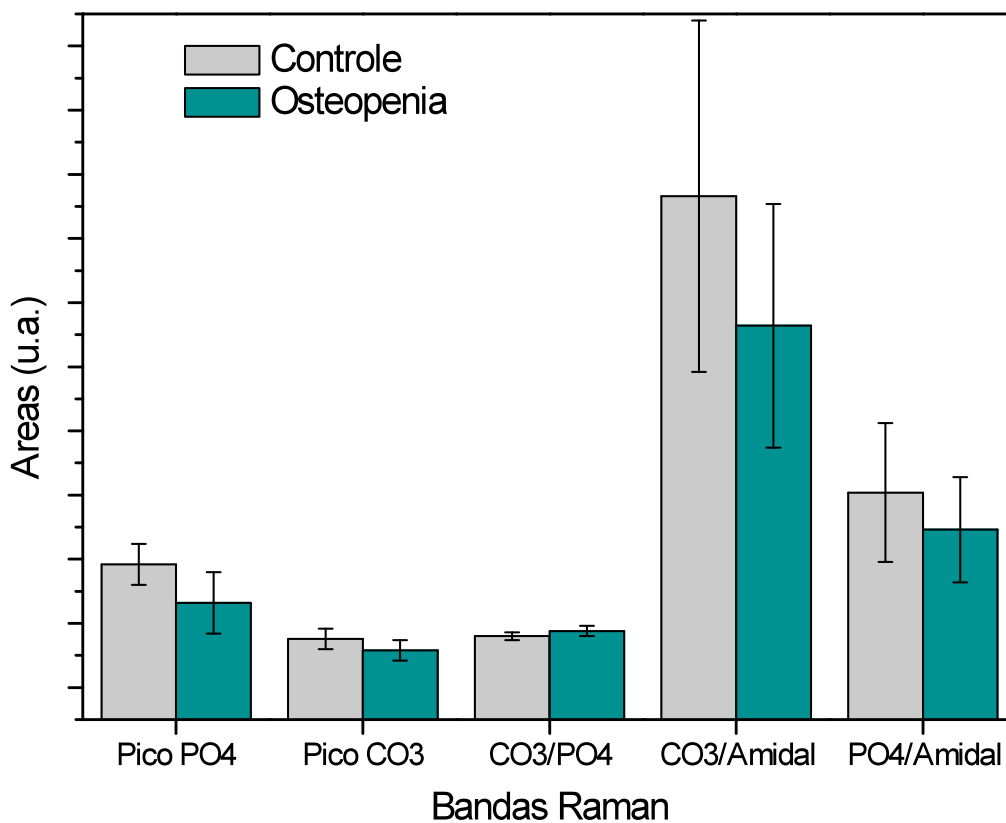


Figura 13: Média(\pm DP) dos picos de fostato (PO_4), carbonato (CO_3), proporção cálcio sobre fostato, proporção de cálcio sobre Amida I, e proporção de fostato sobre Amidal, mensurados em unidades de área (u.a.) entre os grupos controle ($n=10$ pacientes) e osteopenia ($n=10$ pacientes). Teste t Student $p>0,05$.

A análise semi-quantitativa realizada pelo μ -EDXRF (Figura 14) mostrou uma similaridade para ambos os grupos para as concentrações de cálcio (Ca), fósforo (P) e a proporção Ca/P ($p>0,05$).

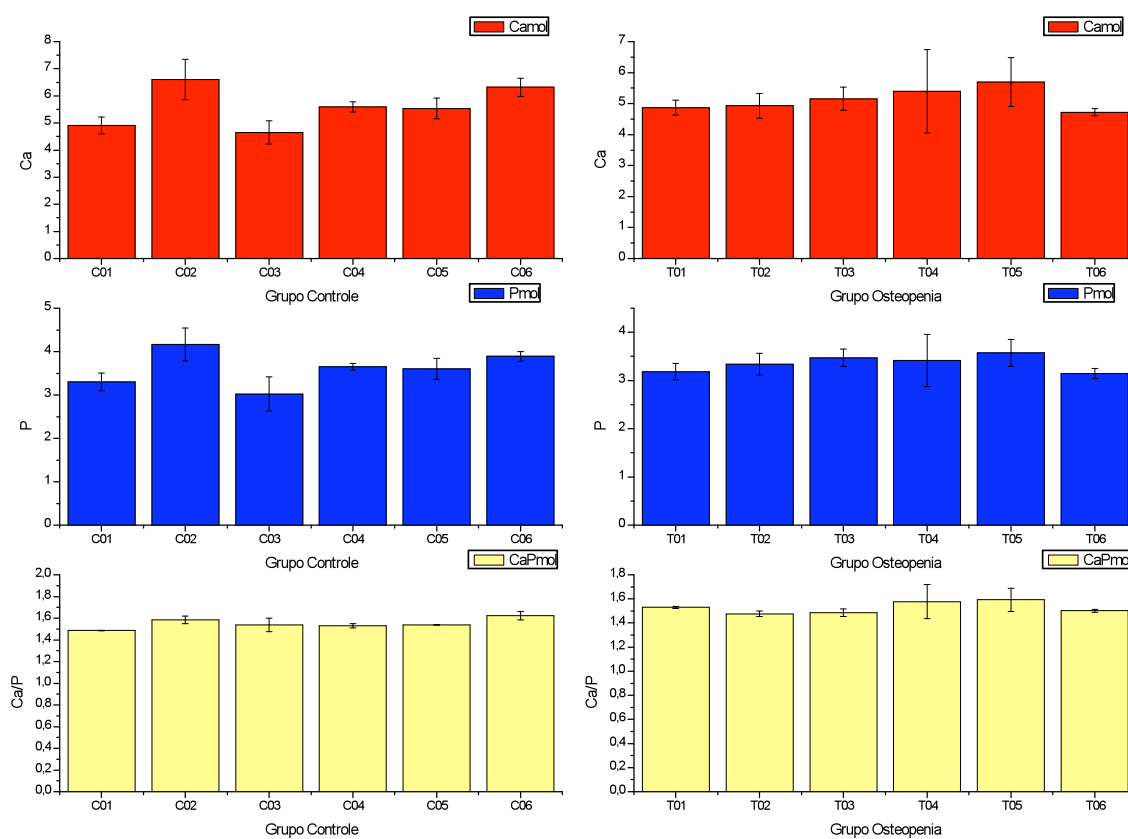


Figura 14: Média (+DP) das concentrações (mol) de cálcio (Ca), fósforo (P) e proporção Ca/P obtidos pelo EDX para os grupos controle e teste. Teste t student ($p > 0,05$).

6. DISCUSSÃO

A ativação imediata de implantes osseointegrados é uma técnica previsível, principalmente em áreas de melhor quantidade e qualidade óssea (SENERBY & GOTTLAW, 2008). No presente estudo, pacientes saudáveis e osteopênicas receberam restaurações implanto-suportadas ativadas e submetidas a carregamento oclusal imediato na mandíbula sem, no entanto, apresentarem diferenças clínicas e radiográficas significativas entre os grupos, exceto pelo índice de sangramento marginal maior no grupo controle (Tabela 03). Estudos prévios (SENERBY & GOTTLAW, 2008) avaliaram a efetividade de implantes carregados imediatamente na mandíbula, obtendo índices de sucesso que variaram entre 90 a 100%, resultado este muito semelhante aos 95,54% encontrado em nosso desenho experimental. Entretanto, cumpre salientar que os estudos supra-citados avaliaram esse procedimento reabilitador em pacientes saudáveis, uma vez que não há menção para inclusão de pacientes osteopênicos ou osteoporóticos.

Fatores sistêmicos como a osteoporose e a osteopenia poderiam alterar a reação de cicatrização do tecido ósseo na região do *gap* periimplantar. A dinâmica do tecido ósseo periimplantar durante os períodos de cicatrização pode ser comparada à formação do calo ósseo em fraturas de ossos longos. As unidades de remodelação óssea ou *BMUs* são baseadas em um equilíbrio entre a aposição e reabsorção óssea (MANOLOGAS, 2000; VEGA et al., 2007).

Esse equilíbrio dinâmico entre os osteoblastos e os osteoclastos são regulados pela via RANK-RANKL-OPG (ÖZMEN et al., 2007) e na osteoporose esse equilíbrio é alterado pela deficiência do estrógeno durante a menopausa. Consequentemente, na osteoporose e osteopenia, a densitometria óssea obtida pelo *DXA* mostra valores de *T-score* menores quando comparados aos escores de pacientes saudáveis. Estudos prévios (JEFFCOAT, 2006 e DRAGE et al., 2007) sugerem que a densidade óssea nos ossos longos e nas vértebras lombares e cervicais muitas vezes pode não refletir a mesma situação nos maxilares. Comparando os valores do *DXA* obtidos nas vértebras lombares, cervicais e cabeça do fêmur com áreas intra-orais como ramo ascendente, corpo e sínfise da mandíbula e área anterior da maxila em pacientes, com e sem osteoporose DRAGE et al., 2007, mostraram que não houve correlação entre as densidades ósseas obtidas na mandíbula com outras áreas do corpo, exceto na parte ascendente do ramo da

mandíbula. Os autores consideraram essa correlação entre a densidade óssea de outras partes do esqueleto com o ramo ascendente da mandíbula como clinicamente insignificante, uma vez que os implantes não são inseridos nessa região. Esses achados corroboram, indiretamente, os achados histológicos obtidos por SHIBLI et al., 2008, no qual o percentual de contato osso-implante de implantes removidos de pacientes com e sem osteoporose foram semelhantes, ao menos após a osseointegração.

A remodelação óssea periimplantar observada ao redor dos implantes inseridos e ativados imediatamente em ambos os grupos apresentaram em média, 0,66 mm de perda óssea. Esses resultados são semelhantes aos estudos clínicos conduzidos por HURZELER et al., 2007 e VELA-NEBOT et al., 2006 nos quais implantes carregados de maneira convencional apresentando *platform switching* apresentaram uma perda óssea de 0,22mm e 0,76mm respectivamente. A utilização de implantes com conexão do tipo cone Morse potencializa o conceito *platform switching*. Assim, com redução dos micro-movimentos, geralmente presentes em implantes com hexágono externo e interno, e com a redução do infiltrado inflamatório (HERMANN et al., 2000; BROGGINI et al., 2006) juntamente com o posicionamento mais oclusal da junção prótese/componente protético (DEGIDI et al., 2009; PIATTELLI et al., 2009), reduzem a remodelação ou perda óssea periimplantar, e até mesmo auxiliam na aposição do tecido ósseo sobre o pescoço do implante (DEGIDI et al., 2008). No presente estudo, a restauração imediata associado a problemas oclusais foi, provavelmente, fator complicador que levou não só à perda de 3 implantes mas também foi responsável pelo aumento da perda óssea periimplantar nos implantes restaurados imediatamente, independentemente do grupo avaliado (0,73mm nos restaurados imediatamente e 0,54mm nos carregados imediatamente). Recentemente, SENNERBY & GOTTLAW, 2008, em uma revista sistemática da literatura, avaliaram a perda óssea ao redor de implantes de hexágono externo e interno carregados e ativados imediatamente na mandíbula, e observaram perdas óssea que variavam entre 2,1 a 0,70 mm respectivamente.

Os achados clínicos e radiográficos após avaliação de 4 meses mostraram não haver diferenças entre os grupos saudável e osteopênico. Apesar da osteopenia ser uma interface da doença osteoporose e apresentar uma redução de massa óssea, resultando em uma arquitetura óssea mais frágil a esforços mecânicos, os resultados estequiométricos obtidos pela espectroscopia Raman revelaram que, embora o grupo controle apresentasse maiores médias por unidade de área (u.a.) de fosfato e carbonato, e maiores proporções de fosfato/amida1 e

carbonato/amida¹, estas diferenças não foram significativas (Figura 13). Esses resultados corroboram os achados sobre densidade óssea realizados por DRAGE et al., 2007. Em nosso estudo, as pacientes diagnosticadas como osteopênicas apresentaram menores densidades ósseas quando avaliadas pelo *DXA* e comparadas ao grupo controle. A densidade óssea obtida pela varredura do feixe do *DXA* resulta em imagens convertidas em pixels x pixels. Esta conversão é baseada nos valores da quantidade mineral (fostato, carbonato, concentração de amida¹) presente nas estruturas como cabeça do fêmur, 2^a e 4^a vértebras lombares. Logo, segundo os espectros obtidos pelo Raman, em nosso estudo, essa diferença, embora avalie diretamente o tecido ósseo, não diferiu entre os grupos. Assim, duas situações podem ser levantadas: 1) que a densidade óssea na mandíbula não se correlaciona com os valores obtidos em outras partes do esqueleto e 2) que a formação embrionária do tecido ósseo seria fator determinante na composição mineral. Essa última hipótese é baseada no fato de que os ossos longos apresentam origem endocondral, enquanto os osso da face, exceto pelo côndilo possui formação intramembranosa. Essa é uma teoria muito discutida uma vez que, do ponto de vista histológico, não é possível detectar diferenças na arquitetura ou disposição do tecido ósseo em microscopia óptica ou de varredura após a formação óssea (MARCO et al., 2005). Cumpre salientar que os dados desse estudo não compararam, de maneira direta, às densidades obtidas pelo Raman do tecido obtido da mandíbula com o *DXA* obtido de outras partes do esqueleto e que as pacientes de nosso estudo são osteopênicas e não osteoporóticas. A composição mineral do tecido ósseo sofre variações no tamanho e distribuição dos cristais de hidroxiapatita e até mesmo a substituição e remanejo dos mesmos, como por exemplo a incorporação de magnésio (Mg) e carbonatos (CO₃) (CARDEN & MORRIS, 2000). Já a composição tecidual pode incluir mudanças no *cross-link* do colágeno, frequentemente associada a fraturas (PASCHALIS et al., 2004) e propriedades de materiais regenerativos, tais como membranas e barreiras (HERNANDEZ et al., 2005; CIRELLI et al., 1997). Por prover uma resolução micro-espacial, a espectroscopia Raman é utilizada para gerar imagens que avaliam essas variações estruturais químicas. A espectroscopia Raman e a análise EDXRF são importantes complementos das técnicas convencionais de determinação do conteúdo mineral, quantificando e analisando as variações locais das estruturas moleculares da matriz óssea e do mineral.

McCREADIE et al., 2006 demonstraram que havia diferenças significativas na composição química, avaliada pela espectroscopia Raman, do tecido cortical da crista ílica de pacientes com

e sem osteoporose. Os autores observaram ainda a semelhança na composição do tecido ósseo medular dessas mesmas pacientes, sugerindo que essas diferenças entre o tecido cortical e medular sejam resultado do alto nível de remodelamento e metabolismo ósseo na porção medular e da variabilidade da composição química nessa região. Evento semelhante pode ser associado aos implantes osseointegrados. Em nosso estudo, os implantes foram inseridos em alvéolos cirúrgicos que sofreram altas atividades celulares para remodelação óssea além, é claro, da presença da carga oclusal, quer seja ela direta ou indireta. A região periimplantar oferece uma situação ímpar no metabolismo ósseo celular, uma vez que as características osteocondutivas da superfície do implante (DAVIES, 2007) e a presença de estímulo oclusal ao tecido ósseo poderiam estimular essa osteogênese de maneira direta, resultando em um fator mais local do que sistêmico (osteopenia).

Entretanto, futuros estudos longitudinais avaliando também a utilização de implantes de ativação imediata em pacientes com osteoporose, poderão dirimir estas dúvidas.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que:

- A osteopenia não influenciou clínica e radiograficamente os implantes osseointegrados de ativação imediata;
- O tecido ósseo osteopênico removido da mandíbula apresentou as mesmas características minerais quando comparada ao grupo controle;
- A osteopenia parece não influenciar o índice de sucesso de implantes de ativação imediata aos 120 dias após cirurgia.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSAADI G, QUIRYNEN M, KOMÁREK A, VAN STEENBERGHE D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19:670-6.

ASTRAND P, AHLQVIST J, GUNNE J, NILSON H. Implant Treatment of patients with edentulous jaws: a 20-year follow-up. *Clin Implant Dent Relat Res* 2008; 10:4:207-17.

AMORIM MA, TAKAYAMA L, JORGETTI V, PEREIRA RM. Comparative study of axial and femoral bone mineral density and parameters of mandibular bone quality in patients receiving dental implants. *Osteoporos Int* 2006;17:1494-1500.

ARAUJO MWB, HOVEY KM, BENEDEK JR, GROSSI SG, DORN J, WACTAWSKI-WENDE J, GENCO RJ, TREVISAN M. Reproducibility of probing depth measurements using a constant-force electronic probe: analysis of inter- and intraexaminer variability. *J Periodontol* 2003; 74:1736-1740.

BERTIN EP. Introduction to X-ray Spectrometric analysis. New York, Plenum, 1978.

BRENNAN-CALANAN RM, GENCO RJ, WILDING GE, HOVEY KM, TREVISAN M, WACTAWSKI-WENDE J. Osteoporosis and oral infection: independent risk factors for oral bone loss. *J Dent Res*. 2008; 87:4:323-7.

BROGGINI N, MCMANUS LM, HERMANN JS, MEDINA R, SCHENK RK, BUSER D, COCHRAN DL. Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface. *J Dent Res*. 2006; 85:5:473-8.

BUENO MIMS, CASTRO MTPO, de SOUZA AM, DE OLIVEIRA EBS, TEIXEIRA AP. X-ray scattering processes and chemometrics for differentiating complex samples using conventional EDXRF equipment. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2005; 78: 96-102.

CARDEN AM. Application of vibrational spectroscopy to the study of mineralized tissues (review). *J Biomed Opt* 2000; 5:259-68.

CIRELLI JA, MARCANTONIO E JR, ADRIANA R, MARCANTONIO C, LIA RC, GOISSIS G, ROSSA C JR.

Evaluation of anionic collagen membranes in the treatment of class II furcation lesions: an histometric analysis in dogs. *Biomaterials* 1997; 18:18:1227-34.

COCHRAN DL, MORTON D, WEBER HP. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding loading protocols for endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19:109-13.

Consensus Development Conference on Osteoporosis. Hong Kong, April 1-2, 1993. *Am J Med* 95 (5A):1S-78S.

D'AMELIO P ET AL. Estrogen deficiency increases osteoclastogenesis up-regulating T cell activity: a key mechanism in osteoporosis. *Bone* 2008 DOI:10.1016/j.bone.2008.02.017

DATASUS, Departamento de Informática do SUS ([HTTP://www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br) acessado em 20/05/2008).

DEGIDI M, PIATTELLI A, SHIBLI JA, STROCCHI R, IEZZI G. Bone formation around a dental implant with a platform switching and another with a TissuCare connection: a histologic and histomorphometric evaluation in man. *Titanium* 2009; 1:8-15.

DEGIDI M, IEZZI G, SCARANO A, PIATTELLI A. Immediately loaded titanium implant with a tissue-stabilizing/maintaining design ('beyond platform switch') retrieved from man after 4 weeks: a histological and histomorphometrical evaluation. A case report. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19:276-82.

DEGIDI M, NARDI D, PIATTELLI A. Peri-implant tissue and radiographic bone levels in the immediately restored single-tooth implant: a retrospective analysis. *J Periodontol.* 2008; 79:252-9.

DEGIDI M, PIATTELLI A, GEHRKE P, CARINCI F. Clinical outcome of 802 immediately loaded 2-stage submerged implants with a new grit-blasted and acid-etched surface: 12-month follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006; 21:763-8.

DRAGE NA, PALMER RM, BLAKE G, WILSON R, CRANE F, FOGELMAN I. A comparison of bone mineral density in the spine, hip and jaws of edentulous subjects. *Clin Oral Impl Res* 2007; 18:4:496-500.

DUARTE PM, CESAR NETO JB, GONCALVES PF, SALLUM EA, NOCITI FH. Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats. *Implant Dent* 2003; 12:340-346.

ELSUBEIH ES, HEERSCHJE JNM. Effects of postmenopausal osteoporosis on the mandible. In: Zarb G, Lekholm U, Albrektsson T, Tenenbaum H. Aging, osteoporosis and dental implants. *Illinois: Quintessence Publishing* 2002; 207-215.

ESPOSITO M, HIRSCH JM, LEKHOLM U, THOMSEN P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci*. 1998; 106:721-64.

ESPOSITO M, THOMSEN P, ERICSON L, LEKHOLM U. Histopathological observations on early oral implant failures. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14:798-810.

FRIBERG B, EKESETUBBE A, MELLSTROM D, SENNERBY L. Branemark Implants and Osteoporosis: A Clinical Exploratory Study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2001; 3:1:20-6.

FRIBERG B, JEMT T, LEKHOLM U. Early failures in 4641 consecutively placed Bränemark dental implants. A study from stage I surgery to the connection of completed prostheses. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991; 6:142-146.

GIRO G, GONÇALVES D, SAKAKURA CE, PEREIRA RM, MARCANTONIO JÚNIOR E, ORRICO SR. Influence of estrogen deficiency and its treatment with alendronate and estrogen on bone

density around osseointegrated implants: radiographic study in female rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105:2:162-7.

GIRO G, SAKAKURA CE, GONÇALVES D, PEREIRA RM, MARCANTONIO E JR, ORRICO SR. Effect of 17beta-estradiol and alendronate on the removal torque of osseointegrated titanium implants in ovariectomized rats. *J Periodontol.* 2007; 78:1316-21

GLAUSER R, ZEMBIC A, RUHSTALLER P, WINDISCH S. Five-year results of implants with an oxidized surface placed predominantly in soft quality bone and subjected to immediate occlusal loading. *J Prosthet Dent.* 2007; 97:59-68.

GRASSI S, PIATTELLI A, DE FIGUEIREDO LC, FERES M, DE MELO L, IEZZI G, ALBA RC JR, SHIBLI JA. Histologic evaluation of early human bone response to different implant surfaces. *J Periodontol.* 2006; 77:1736-43.

HERMANN JS, BUSER D, SCHENK RK, HIGGINBOTTOM FL, COCHRAN DL. Biologic width around titanium implants. A physiologically formed and stable dimension over time. *Clin Oral Implants Res.* 2000; 11:1:1-11.

HOLAHAN CM, KOKA S, KENNEL KA, WEAVER AL, ASSAD DA, REGENNITTER FJ, KADEMANI D. Effect of osteoporotic status on the survival of titanium dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; 23:5:905-10.

HÜRZELER M, FICKL S, ZUHR O, WACHTEL HC. Peri-implant bone level around implants with platform-switched abutments: preliminary data from a prospective study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65:33-9.

JEFFCOAT M. The association between osteoporosis and oral bone loss. *J Periodontol* 2005; 76:11:2125-34.

JEFFCOAT MK. Safety of Oral Bisphosphonates: Controlled studies on alveolar bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21:349-353.

KANIS JA ET AL. European guidance for the diagnosis and mangement of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis Int* 2008; 19:399-428.

KWON TY, FUJISHIMA T, IMAI Y. FT-Raman spectroscopy of calcium hydroxide medicament in root canals. *Int Endodontic J* 2004; 37:7:489-93.

MANOLOGAS SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporsis. *Endocr Rev* 2000; 21:115-137.

MARCO F, MILENA F, GIANLUCA G, VITTORIA O. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron* 2005; 36:7-8:630-44.

MCCREADIE BR, MORRIS MD, CHEN T, RAO DS, FINNEY WF, WIDJAJA E, GOLDSTEIN SA. Bone tissue compositional differences in women with and without osteoporotic fracture. *Bone* 2006; 39:1190-1195.

MELO L, PIATTELLI A, LEZZI G, D'AVILA S, ZENÓBIO EG, SHIBLI JA. Human histologic evaluation of a six-year-old threaded implant retrieved from a subject with osteoporosis. *J Contemp Dent Pract*. 2008; 9:99-105.

NKENKE E, FENNER M. Indications for immediate loading of implants and implant success. *Clin Oral Implants Res*. 2006; 17:2:19-34.

OZAWA S, OGAWA T, IIDA K, SUKOTJO C, HASEGAWA H, NISHIMURA RD, NISHIMURA I. Ovariectomy hinders the early stage of bone-implant integration: histomorphometric, biomechanical, and molecular analyses. *Bone* 2002; 30:137-143.

ÖZMEN B, KIRMAZ C, AYDIN K, KAFESCILER SO, GUCLU F, HEKIMSOY Z. Influence of the selective oestrogen receptor modulator (raloxifene hydrochloride) on IL-6, TNF- α , TGF- β 1 and bone turnover markers in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Eur Cytokine Netw.* 2007; 18:148-153.

PASCHALIS EP, SHANE E, LYRITIS G, SKARANTAVOS G, MENDELSON R, BOSKEY AL. Bone fragility and collagen cross-links. *J Bone Miner Res* 2004; 19:2000-4.

PIATTELLI A, DEGIDI M, IEZZI, SHIBLI JA. Early bone formation around immediately restored implants with and without occlusal contact: a histological and histomorphometric evaluation in man. A case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009 (in press).

QIU S, RAO DS, PALNITKAR S, PARFITT AM. Differences in osteocyte and lacunar density between Black and White American women. *Bone* 2006; 38:130-135

QUIRYNEN M, DE SOETE M, VAN STEENBERGHE D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13:1-19.

QUIRYNEN M, NAERT I, VAN STEENBERGHE D, TEERLINCK J, DEKEYSER C, THEUNIERS G. Periodontal aspects of osseointegrated fixtures supporting an overdenture. A 4-year retrospective study. *J Clin Periodontol.* 1991;18:719-728.

SALVADOR, V.L.R. Introdução à técnica de espectrometria de fluorescência de raios-X. Apostila da disciplina: Fluorescência de Raios-X, do curso de pós-graduação em Tecnologia Nuclear, IPEN, USP, São Paulo, 2006.

SAKAKURA CE, GIRO G, GONÇALVES D, PEREIRA RM, ORRICO SR, MARCANTONIO E JR. Radiographic assessment of bone density around integrated titanium implants after ovariectomy in rats. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:134-8.

SENNERBY L, GOTTLLOW J. Clinical outcomes of immediate/early loading of dental implants. A literature review of recent controlled prospective clinical studies. *Aust Dent J.* 2008; 53:1:S82-8. Review.

SHIBLI JA, AGUIAR KC, MELO L, D'AVILA S, ZENÓBIO EG, FAVERI M, IEZZI G, PIATTELLI A. Histological comparison between implants retrieved from patients with and without osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 37:321-7.

SHIBLI JA, AGUIAR KC, MELO L, FERRARI DS, D'AVILA S, IEZZI G, PIATTELLI A. Histologic analysis of human peri-implant bone in type 1 osteoporosis. *J Oral Implantol.* 2008; 34:12-6.

SHIBLI JA, GRANDE PA, D'AVILA S, IEZZI G, PIATTELLI A. Evaluation of human bone around a dental implant retrieved from a subject with osteoporosis. *Gen Dent.* 2008; 56:64-7.

SHIBLI JA, GRASSI S, DE FIGUEIREDO LC, FERES M, MARCANTONIO E JR, IEZZI G, PIATTELLI A. Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007; 80:377-85.

SHIBLI JA, MARCANTONIO E, D'AVILA S, GUASTALDI AC, MARCANTONIO E JR. Analysis of failed commercially pure titanium dental implants: a scanning electron microscopy and energy-dispersive spectrometer x-ray study. *J Periodontol.* 2005; 76:1092-9.

SHIBLI JA, MARTINS MC, LOTUFO RF, MARCANTONIO E JR. Microbiologic and radiographic analysis of ligature-induced peri-implantitis with different dental implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003; 18:383-90

SHIBLI JA, MARTINS MC, RIBEIRO FS, GARCIA VG, NOCITI FH JR, MARCANTONIO E JR. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17:273-81.

SOARES LES, BRUGNERA JR A, ZANIN FAA, PACHECO MTT, MARTIN AA. Effects of treatment for manipulation of teeth and Er:YAG laser irradiation on dentin: A Raman spectroscopy analysis. *Photomed Laser Surg* 2007; 25:50-7.

TSUDA H, RUBEN J, ARENDS J. Raman spectra of human dentin mineral. *Eur J Oral Sci* 1996; 104:2:123-31.

VAN STEENBERGHE D, QUIRYNEN M, MOLLY L, JACOBS R. Impact of systemic diseases and medication on osseointegration. *Periodontol 2000* 2003; 33:163-71.

VAN STEENBERGHE, D., QUIRYNEN, M. & NAERT, I. Survival and success rates with oral endosseous implants. In: Lang, N.P., Karring, T. & Lindhe, J. *Proceedings of the 3rd European Workshop on Periodontology* 1999; 242- 54.

VAN STEENBERGHE D, JACOBS R, DESNYDER M, MAFFEI G, QUIRYNEN M. The relative impact of local and endogenous patient-related factors on implant failure up to the abutment stage. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13:617-622

VEGA D, MAALOUF NM, SAKHAE K. The role of RANK/RANKL/OPG: clinical implications. *J Clin Endocrin Metab.* 2007 DOI:10.1210/jc.2007-0646

VELA-NEBOT X, RODRÍGUEZ-CIURANA X, RODADO-ALONSO C, SEGALÀ-TORRES M. Benefits of an implant platform modification technique to reduce crestal bone resorption. *Implant Dent.* 2006; 15(3):313-20.

WACTAWSKI-WENDE J. Periodontal diseases and osteoporosis: association and mechanisms. *Ann Periodontol.* 2001; 6:1:197-208. Review.

WACTAWSKI-WENDE J, HAUSMANN E, HOVEY K, TREVISAN M, GROSSI S, GENCO R. The association between Osteoporosis and alveolar crestal height in postmenopausal women. *J Periodontol* 2005; 76:11:2116-124.

WHO, Guidelines for Preclinical Evaluation and Clinical Trials in *Osteoporosis*, 2007.