

MARIA SALETE SANDINI LINDEN

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA NICOTINA NA OSSEOINTEGRAÇÃO
DE IMPLANTES USINADOS E ANODIZADOS: ESTUDO EM TÍBIAS DE
COELHOS

Tese apresentada ao Centro de Pós-
Graduação/ CPO São Leopoldo Mandic,
para obtenção do grau de Doutor em
Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Implantodontia

CAMPINAS

2007

MARIA SALETE SANDINI LINDEN

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA NICOTINA NA OSSEOINTEGRAÇÃO
DE IMPLANTES USINADOS E ANODIZADOS: ESTUDO EM TÍBIAS DE
COELHOS

Tese apresentada ao Centro de Pós-
Graduação/ CPO São Leopoldo Mandic,
para obtenção do grau de Doutor em
Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Implantodontia

Orientadora: Profa Dra Juliana Cama
Ramacciato

Co-orientador: Prof. Dr. Francisco Carlos
Groppo

CAMPINAS
2007

**Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca e
Centro de Documentação do Centro de Pesquisas
Odontológicas "São Leopoldo Mandic"**

L744a Linden, Maria Salete Sandini.
Avaliação da influência da nicotina na osseointegração de implantes
usinados e anodizados: estudo em tíbias de coelhos / Maria Salete Sandini
Linden. – Campinas: [s.n.], 2007.
100f.: il.

Orientador: Juliana Cama Ramacciato.
Tese (Doutorado) – C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-
Graduação.

1. Osseointegração. 2. Nicotina. 3. Implantes dentários.
I. Ramacciato, Juliana Cama. II. C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro
de Pós-Graduação. III. Título.

*C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS
SÃO LEOPOLDO MANDIC*

Folha de Aprovação

*A tese intitulada: “AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA NICOTINA NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES USINADOS E ANODIZADOS: ESTUDO EM TÍBIAS DE COELHOS” apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Doutor em Ciências Odontológicas área de concentração: **Implantodontia** em 14/12/2007, à comissão examinadora abaixo denominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.*

Prof. (a) Dr (a) Juliana Cama Ramacciato
Orientador

Prof. (a) Dr (a) Rui Barbosa de Brito Júnior
1º Membro

Prof. (a) Dr (a) Rogério Heládio Lopes Motta
2º Membro

Prof. (a) Dr (a) Micheline Sandini Trentin
3º Membro

Prof. (a) Dr (a) Maria Antonieta Lopes de Souza
4º Membro

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e meu irmão que em outra dimensão velam por nós.

Ao meu esposo e filhos pelo simples fato de existirem e me acompanharem sempre.

Ao Gustavo, meu companheiro de atividades acadêmicas.

À minha irmã, esposo e familiares o agradecimento pela força e carinho.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, pessoa especial que encontrei em meu caminho, Profa. Dra. Juliana Cama Ramacciato, sempre presente com sua ajuda e incentivo docente, por sua orientação, dedicação, disponibilidade e amizade, muito obrigado.

Ao Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, igualmente especial pela sua humanidade e acessibilidade, co-orientador atuante nos momentos em que a ajuda se fez necessária.

À Profa. Dra. Maria Antonieta Lopes de Souza, pela sua bagagem científica, pela sua presença relevante na academia da pós-graduação da Universidade de Passo Fundo, em especial pela Faculdade de Odontologia, o nosso carinho.

Ao Prof. Dr. Fábio André dos Santos, por seus préstimos e auxílios.

Aos meus colegas da turma do Doutorado, pela amizade e momentos de confraternização.

À Conexão Sistemas de Prótese, nas pessoas do Dr. Rodolfo Candia Alba Júnior, do Douglas Figueira, da Elisabeth Simões, do João Vaiano, do Eduardo May e demais funcionários da empresa pelo apoio e fornecimento do material para realização desta pesquisa e essencialmente pela nossa grande amizade.

Ao Prof. Dr. Carlos Nelson Elias, a quem admiro pela sua capacidade e envolvimento com a Implantodontia.

Ao Centro de pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic, na pessoa do Prof. Dr. José Luis Junqueira e de mais professores e funcionários pela acolhida fraterna.

Em especial, ao colega Doutorando Ricardo Ciantelli, pela amizade e capacidade de trabalho sempre atuante, a minha admiração.

À Universidade de Passo Fundo, em especial à Faculdade de Odontologia, meu núcleo de origem, Prof. Rui Getúlio Soares, Reitor da Universidade de Passo Fundo RS, ex-diretor da Faculdade de Odontologia, Prof. Antonio Augusto Pretto, ex-diretor da Faculdade de Odontologia de Passo Fundo RS, Profa. Ms. Miriam Lago Magro, atual coordenadora da Faculdade de

Odontologia, Prof. Ms. João de Carli, Colegas e Funcionários da Faculdade da FOUPF.

Às secretárias da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo por todo o apoio e amizade no decorrer da jornada.

Ao Biotério da Universidade de Passo Fundo, RS, na figura de seu coordenador, Prof. Sergio Machado Porto, e de seu Médico Veterinário, Émerson Bernardon Silva e demais funcionários.

À colega Profa. Dra. Karen Cerra Bavaresco, pelo suporte científico e préstimos.

Ao Colega Ms. Americo Loft, pela amizade, auxílio e conhecimentos prestados.

Ao Doutorando Marcos Eugênio de Bittencourt pela amizade e companheirismo nesta atividade acadêmica e aos demais com quem convivemos estes anos do curso de doutorado, seja em Campinas, seja em Passo Fundo, o meu muito obrigado por tudo.

À Glauca, pela solicitude e disponibilidade sempre presente nas ocasiões em que se fez mais necessária.

Aos demais amigos e pessoas que, embora não citadas, colaboraram e nos incentivaram para que esse trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	8
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	10
RESUMO.....	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Falhas no sucesso da osseointegração relacionadas ao hábito de fumar.....	17
2.2 Efeitos da nicotina nos processos de reparo e osseointegração	29
2.3 Implantes usinados e texturizados (anodizados)	40
3. PROPOSIÇÃO	57
4. MATERIAL E MÉTODO.....	58
4.1 Critérios de inclusão- modelo animal e grupos	59
4.2 Procedimento cirúrgico.....	60
4.3 Medicação pós-operatória	63
4.4 Coleta das amostras de sangue	64
4.5 Análise bioquímica-atividade da fosfatase alcalina sérica	64
4.6 Análise toxicológica- detecção e quantificação da nicotina no sangue total (base livre) e cotinina	64
4.7 Protocolo de eutanásia	65
4.8 Reabertura dos implantes, TRT (teste de remoção ao torque).....	65
4.9 Coleta das amostras ósseas.....	67
4.10 Tomadas radiográficas periapicais digitalizadas	67
4.11 Metodologia para análise da densidade óptica das radiografias periapicais digitalizadas.....	68
4.12 Análise estatística.....	71

5. RESULTADOS.....	72
5.1 Resultados dos pesos dos animais entre os grupos	72
5.2 Resultados da fosfatase alcalina entre os grupos e às superfícies dos implantes.....	73
5.3 Resultados entre níveis de nicotina (Ng/MI) e cotinina (Ng/MI) do grupo Teste	74
5.4 Resultados dos valores de força do teste de remoção ao torque (Trt) Em relação aos grupos e superfícies de implantes.....	75
5.5 Resultados da densitometria óptica óssea entre os grupos e superfícies de implantes.....	76
6. DISCUSSÃO	78
7. CONCLUSÃO	89
ABSTRACT.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Resumo dos diversos processos de modificação da textura superficial do titânio.....	42
GRÁFICO 1 - Reprodutibilidade intra-examinador. Gráfico de Bland-Altman dos dados obtidos em duas análises com intervalo de 48 horas.	58
A reprodutibilidade intra-examinador está dentro dos limites de concordância.....	58
FIGURA 2 - Tricotomia do membro inferior dos animais.....	61
FIGURA 3 - Demarcação no leito receptor da localização do implante.....	61
FIGURA 4 - Perfuração seqüencial de brocas.....	62
FIGURA 5 - Superfície do implante anodizado e colocação.....	62
FIGURA 6 - Suturas interrompidas.....	63
FIGURA 7 - Demarcação dos grupos.....	63
FIGURA 8 - Reabertura do implante após oito semanas.....	66
FIGURA 9 - Torquímetro digital acoplado ao montador do implante.....	66
FIGURA 10 – Torquímetro Modelo TQ 680.....	66
FIGURA 11 - Leitura do TRT em pico, coelho nº 5, implante usinado, grupo teste.....	66
FIGURA 12 - Bloco de tibia osteotomizado.....	67
FIGURA 13 - Aparelho de raio-x SATELEC.....	68
FIGURA 14 - Amostra óssea.....	68
FIGURA 15 - Radiografia digitalizada do animal nº 01 (grupo teste) implante usinado.....	68
FIGURA 16 - Radiografia digitalizada do animal nº 4 (grupo teste) implante anodizado.....	68
FIGURA 17 - Definição da área mensurada.....	69

FIGURA 18 - Densidade óptica na área pré-determinada (linhas verde) utilizando o programa Image Pro Plus 4.5.....	69
FIGURA 19 - Análise da densidade (pixel) do padrão de referência.....	70
FIGURA 20 - Correção nos dados através da escala de referência.....	70
TABELA 1 - Médias e desvios-padrão dos pesos dos animais entre os grupos	72
GRÁFICO 2 - Comparação entre os grupos (teste e controle), superfícies de implantes e a fosfatase alcalina (UI/L).....	73
GRÁFICO 3 - Concentração de nicotina (ng/mL) cotinina (ng/mL) no grupo teste.....	74
GRÁFICO 4 - Comparação entre os grupos (teste e controle), superfícies de implantes e o TRT	75
GRÁFICO 5 - Comparação entre os grupos controle e teste, superfícies de implantes e densidade óssea	76
GRÁFICO 6 - Correlação entre o TRT, densidade óssea (pixels), grupos e superfícies de implantes	77

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

®	- Marca registrada
µg	- micrograma
µm	- micrômetro
Al	- alumínio
ALP	- Fosfatase alcalina
BA	- densidade óssea na área das roscas
BD	- densidade óssea fora das áreas das roscas
BIC	- contato osso-implante
BMC	- contato osso-metal
BMP-4	- proteína morfogenética do osso
Ca	- cálcio
CCD	- charge couple device
Cp	- Fosfato de Cálcio
H ₂ SO ₄	- ácido sulfúrico
HGF	- fibroblastos gengivais humanos
IFC	- inalação da fumaça do cigarro
Kg	- quilograma
kVp	- kilovoltagem
LPS	- lipopolissacarídeos bacterianos
mA	- miliamperagem
MAO	- oxidação micro-arc
MEV	- microscopia eletrônica de varredura
mg	- miligrama
mL	- megalitro

ml	- mililitro
mm	- milímetros
N/cm	- Newton por centímetro
NaCl- SF	- soro fisiológico
Ng	- nanograma
Nm	- nanômetro
P	- Fósforo
Ra	- Média aritmética dos valores de altura a partir de μm
RFA	- frequência de ressonância magnética
RGD	- argina-glicina-ácido aspártico
S	- Sulfúrico
SBF	- solução de fluido corpóreo
T- CAM	- Molécula de adesão tetra-celular
TiO ₂	- Dióxido de titânio
™	- Marca registrada
TRT	- Teste de Remoção ao Torque
UI/L	- unidade internacional por litro

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar dois fatores que podem interferir no processo da osseointegração: o uso da nicotina e a superfície dos implantes dentais. Vinte e dois coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos. As tíbias direita e esquerda receberam respectivamente implantes dentais usinados e anodizados. Onze animais receberam injeções subcutâneas de nicotina 3mg/dia/kg, três vezes ao dia. O grupo controle, recebeu solução subcutânea de 0,9% NaCl 3mg/kg/dia, três vezes ao dia. Após oito semanas, os animais foram mortos e amostras de sangue foram obtidas para dosar nicotina, cotinina. Também, foram realizadas nas amostras das tíbias, análises da fosfatase alcalina, biomecânica e densitométrica. Os níveis plasmáticos de nicotina e cotinina foram $0,5 \pm 0,28$ ng/mL e $9,5 \pm 6,51$ ng/mL, respectivamente. Nenhuma diferença estatística significativa ($p = 0,402$) foi observada entre os níveis de fosfatase alcalina do grupo teste (anodizado e usinado = $37,9 \pm 4,84$ UI/L) e grupo controle (usinado = $40,8 \pm 11,88$ UI/L; anodizado $40,75 \pm 12,46$ UI/L). Anodizados e usinados também não mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,999$). O teste de remoção ao torque também não mostrou diferenças estatisticamente significativas entre usinado (controle = $25,0 \pm 8,46$ Ncm; teste = $38,3 \pm 13,52$ Ncm;) e anodizado (controle = $31,2 \pm 6,76$ Ncm; teste = $35,5 \pm 14,17$ Ncm), entretanto o grupo teste mostrou valor maior de contra torque que o controle ($p = 0,027$). A densidade óptica mostrou, nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,590$) entre teste (usinado = $109,2 \pm 32,01$ pixel; anodizado = $94,2 \pm 30,25$ pixel) e controle (usinado = $105,0 \pm 28,78$ pixel; anodizado = $86,4 \pm 33,96$ pixel) e entre usinado e anodizado ($p = 0,135$). Concluiu-se que baixas doses de nicotina, não causaram efeitos deletérios na osseointegração de implantes dentais. A superfície dos implantes não influenciou os parâmetros estudados.

Palavras-chave: Implantes usinados e anodizados. Osseointegração. Nicotina.

1. INTRODUÇÃO

O sucesso da osseointegração tem sido associado constantemente à qualidade da densidade óssea que pode ser prejudicada, entre outras causas, pelo tabagismo. Vários autores confirmaram esse efeito deletério em pacientes fumantes moderados e pesados, principalmente quando se colocam implantes na maxila, em relação a fumantes leves e não fumantes (BAIN & MOY, 1994; DE BRUYN & COLLAERT, 1994; BAIN, 1996; HASS *et al.*, 1996; EKFIELDT *et al.*, 2001; KOURTIS *et al.*, 2004; MOY *et al.*, 2005). Entretanto, ECKERT *et al.* (2001), com índices de falhas igualmente maiores em maxila do que em mandíbula, não conseguiram correlacionar as mesmas ao tabagismo.

Diferenças significativas de sucesso na sobrevida de implantes colocados em não fumantes quando comparados a fumantes (BAIN & MOY, 1993; WALLACE, 2000; VEHEMENTE *et al.*, 2002; MUNDT *et al.*, 2006) bem como complicações pós-cirúrgicas (JONES *et al.*, 1995; SCHWARTZ-ARAD *et al.*, 2002; McDERMOTT *et al.*, 2003) estão sedimentadas na literatura em estudos de curta e longa duração. Estudos retrospectivos verificaram que o consumo do cigarro determinou maior índice de falhas nos implantes antes de serem submetidos à carga funcional (DE BRUYN & COLLAERT, 1994) e dificultou a reparação de enxertos ósseos e a osseointegração de implantes (JONES & TRIPLETT, 1992; KAN *et al.*, 1999; WIDMARK *et al.*, 2001), sendo seus efeitos deletérios proporcionais à quantidade diária de cigarros fumados (BAIN & MOY, 1994; EKFIELDT *et al.*, 2001).

LINDQUIST *et al.* (1997), em acompanhamento de dez anos, demonstraram que a diferença entre o sucesso de pacientes fumantes e não

fumantes é significativa no período inicial da osseointegração, porém, essa diferença não é significativa com o passar dos anos. Esta conclusão, contudo, não encontrou respaldo no trabalho de KUMAR *et al.* (2002), que em um período de 18 meses o hábito de fumar não desempenhou um papel significativo na obtenção da osseointegração com implantes de superfície modificada.

Modelos animais com protocolos variados na utilização da nicotina do cigarro têm sido freqüentemente testados através de injeções subcutâneas, inalação da fumaça do cigarro ou bombas mini-osmóticas subcutâneas, avaliando sua influência no reparo ósseo ao redor de implantes (IWANIEC *et al.*, 2000; IWANIEC *et al.*, 2001; STEFANI *et al.*, 2002; CÉSAR-NETO *et al.*, 2003; CÉSAR-NETO *et al.*, 2005; BALATSOUKA *et al.*, 2005; DUYGULU *et al.*, 2006).

Trabalhos na literatura também têm demonstrado correlações entre o tabagismo relacionado a parâmetros bioquímicos, fisiológicos e celulares (PEACOCK *et al.*, 1993; PAYNE *et al.*, 1996; YUHARA *et al.*, 1999; SYVERSEN *et al.*, 1999).

RAMP *et al.* (1991) demonstraram que a nicotina é capaz de inibir a atividade da fosfatase alcalina e a síntese do colágeno num padrão dose-dependente; YUHARA *et al.* (1999) associaram nicotina com aumento de deposição de íons cálcio, produção de fosfatase alcalina e diminuição da atividade osteoclástica; IWANIEC *et al.* (2000) não encontraram perda de volume, resistência ou massa óssea em três meses, na exposição de ratas em crescimento, com concentrações séricas de nicotina superiores às aquelas encontradas em fumantes e os estudos de PEACOCK *et al.* (1993) não relataram influência negativa da nicotina sobre funções celulares envolvidas com o reparo ósseo e sim estímulo da

proliferação e adesão dos fibroblastos após administração de baixas concentrações de nicotina.

Autores que encontraram em seus estudos alterações celulares e funcionais relacionaram estes achados com concentrações de nicotina superiores às encontradas no plasma de pacientes fumantes (JAMES *et al.*, 1999).

BAIN (2003) tem sugerido que o advento das superfícies rugosas dos implantes de titânio elucidaram as diferenças entre fumantes e não fumantes, mas há um número limitado de estudos a respeito e os que existem provam resultados variados.

Nos estudos de KUMAR *et al.* (2002) índices de perdas ósseas foram similares para implantes de titânio com superfície rugosa tanto em fumantes quanto em não fumantes. Por sua vez, BAIN *et al.* (2002) não encontraram nenhuma diferença entre grupos de fumantes e não fumantes monitorando implantes de superfície usinada e texturizada sendo que PEÑARROCHA *et al.* (2004), demonstraram que implantes de titânio de superfície rugosa apresentaram maior perda óssea em fumantes do que em não fumantes, principalmente quando são colocados em maxila.

A visão geral das vantagens potenciais das diferentes superfícies de implantes é complexa e em ossos de boa qualidade, têm sido relatados índices de sucesso de até 99% para implantes com superfície usinada após dez anos de acompanhamento (LINDQUIST *et al.*, 1997), corroborados mais recentemente por VASCONCELOS *et al.* (2004), com 97,4% de sucesso tanto para implantes de superfície usinada quanto para os texturizados, instalados em maxilas reconstruídas com enxerto ósseo. Contudo, estudos como os de JAFFIN & BERMAN (1991), BAIN *et al.* (2002), IVANOFF *et al.* (2003), ROCCI *et al.* (2003), PALMA *et al.* (2006) e

SHIBLI *et al.* (2007a) demonstraram estabilidade e taxas de sucessos menores com os implantes usinados comparados aos texturizados em enxertos ou osso de baixa qualidade, muito embora seja consenso que implantes usinados são mais resistentes à contaminação bacteriana.

Embora a osseointegração possa ser alcançada com sucesso utilizando superfícies usinadas e texturizadas de implantes, alguns estudos experimentais têm demonstrado valores maiores de contato osso/implante e de torque de remoção para implantes anodizados quando comparados aos implantes usinados (ALBREKTSSON *et al.*, 2001; SUL, 2003; ELIAS *et al.*, 2005; ROCCI *et al.*, 2003; PALMA *et al.*, 2006; SHIBLI *et al.*, 2007b).

É possível que a modificação da superfície dos implantes possa facilitar o percentual de contato osso-implante (XIROPAIDIS *et al.*, 2005). Outros autores, como GLAUSER *et al.* (2001) e GLAUSER *et al.* (2003) comentaram que o uso de implantes oxidados pode melhorar o prognóstico em situações clínicas desafiadoras.

Sendo assim, o presente trabalho buscou avaliar de forma comparativa a osseointegração entre implantes usinados e anodizados em modelo animal submetido à ação de nicotina injetável, um dos vários componentes da fumaça do cigarro reportada como responsável por vários efeitos negativos na literatura.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Falhas no sucesso da osseointegração relacionadas ao hábito de fumar

Atualmente, falhas na osseointegração têm sido relatadas devido a várias causas, podendo estar associadas a pouca altura do rebordo alveolar ou reduzida densidade óssea (JAFFIN & BERMAN, 1991). Além disso, o menor contato osso implante pode estar relacionado a condições que ocasionam distúrbios sistêmicos como tabagismo, deficiência de estrógeno ou uso prolongado de antiinflamatórios não-esteróides seletivos, os quais podem prejudicar o reparo ósseo ao redor de implantes (CÉSAR-NETO *et al.*, 2005; DUARTE *et al.*, 2005).

A densidade óssea reduzida pode levar a uma estabilidade primária inadequada, resultando em micro-movimentação excessiva e falha de implante. O fumo, por sua vez, parece estar significativamente relacionado com a taxa de sucesso dos implantes, apresentando um risco relativo 2,5 vezes maior para pacientes fumantes em relação a pacientes não fumantes (WILSON & NUNN, 1999) e uma maior incidência de complicações (exposição de implante), considerando-se a intensidade e freqüência do hábito de fumar (SCHWARTZ-ARAD *et al.*, 2002).

JONES & TRIPLETT (1992) relacionando o cigarro a prejuízos no reparo em quinze pacientes adultos (cinco fumantes e dez não fumantes) submetidos a intervenções de enxerto ósseo com simultânea colocação de implantes, citam que 80% dos fumantes habituais submetidos a esses procedimentos cirúrgicos demonstraram pior saúde, definida como perda de osso ou implante, comparada à percentagem de somente 10% de não fumantes. Cinco dos quinze pacientes perderam osso ao redor dos implantes e quatro destes cinco (80%) admitiram ter

fumado no período pré-operatório. Os autores concluíram que, embora outros fatores possam ter interferido, o tabaco se constitui em um forte fator de risco, associado com problemas em todo o mundo em uma série de pacientes.

BAIN & MOY (1993) acessaram os vários fatores que predispunham falhas de implantes em um grupo de 540 pacientes, com 2.194 implantes, dos quais 130 foram classificados como falhas, representando uma taxa total de 5,92%. Do total, foram instalados 390 implantes (17,78%) em pacientes fumantes, sendo que 44 falharam e 1.804 (82,22%) em não fumantes, dos quais falharam 86. Essas diferenças foram consideradas estatisticamente significantes em todas as áreas, exceto na região posterior da mandíbula. Índices de falhas foram de 4,76% em não fumantes e 11,28% em fumantes ($p < 0,001$). Com este estudo retrospectivo os autores afirmaram que o uso crônico do tabaco predispõe os indivíduos a uma qualidade óssea pobre, o que afeta diretamente a longevidade dos implantes e que o fumo foi em grande parte o fator mais significativo das perdas dos implantes. Para tentar contornar o problema, propuseram um protocolo de interrupção do uso do fumo no período próximo do tempo da cirurgia.

Os mesmos autores BAIN & MOY (1994) conduziram um estudo em 412 pacientes e 1.379 implantes com o propósito de avaliar a relação da qualidade óssea e fumo na incidência de falhas de implantes. Os pacientes foram divididos em não fumantes, fumantes leves (< de meio pacote por dia), fumantes moderados (meio ou um pacote ao dia) e fumantes pesados (> de um pacote por dia). Os índices de falhas de implantes nesses grupos foram: não fumantes 4,42%; fumantes leves 4,92%; fumantes moderados 15,06% e fumantes pesados 12,8%. Enquanto a distribuição global da qualidade óssea foi de 13,6% para osso tipo 1; 29,4% para tipo 2; 34,9% para tipo 3 e 22,0% para tipo 4, foi encontrada uma incidência

significativamente maior de osso tipo 4 em fumantes moderados e pesados (37,9%) em relação a não fumantes e fumantes leves (17,6%), (qui-quadrado; $p < 0,01$). Os autores concluíram que fumantes pesados e moderados têm uma influência negativa na qualidade óssea e que tais pacientes devem ser avisados quanto ao prognóstico comprometido em relação aos implantes dentais.

DE BRUYN & COLLAERT (1994) confirmaram os resultados de BAIN & MOY (1993), obtidos em estudos retrospectivos, com diferentes populações, usando diferentes sistemas de implantes. O estudo descreveu o efeito do cigarro nas falhas iniciais de fixação antes da carga funcional com restaurações protéticas fixas. De 208 implantes instalados na mandíbula, somente 1 (0,5%) foi perdido e nenhum efeito deletéreo do cigarro pôde ser detectado na cirurgia dos implantes. Na maxila de 244/10 implantes falharam (4%); 7/78 implantes falharam em fumantes e 3/166 em não fumantes. Falhas em fixações ocorreram em 31% dos fumantes apesar de excelente qualidade óssea, do comprimento longo das fixações e da estabilidade inicial ótima. Somente 4% de não fumantes tinham falhas, em muitos casos devido à pior qualidade óssea. Este estudo indicou que não houve diferença no sucesso entre os grupos na mandíbula, onde o tecido ósseo é geralmente mais denso que na maxila. Nesta última, um índice de falha de 9% antes da carga foi observado em fumantes quando comparado a 1% em não fumantes, sendo estatisticamente significativo, apesar do fato de em ambos os grupos a qualidade óssea ser compatível.

JONES *et al.* (1995) compararam as complicações de implantes entre fumantes e não fumantes, incluindo 65 pacientes e 351 implantes. Pesquisaram as complicações pós-cirúrgicas (implantes perdidos, exposições prematuras, dor prolongada após cirurgia e inflamação prolongada dos tecidos moles), comparando

usuários e não usuários do tabaco. Dos 65 pacientes, 21 eram usuários e 44 não usuários. Do total de usuários, 17 não seguiram a recomendação de reduzir ou deixar de fumar por um período de tempo após a colocação dos implantes. Implantes perdidos por usuários de tabaco foram significativamente maiores que nos não usuários ($p < 0,05$). Pacientes usuários perderam 28,6% dos implantes (9/129 total), enquanto os não usuários apresentaram uma taxa de 6,8% de implantes perdidos (5/222 total).

BAIN (1996) descreveu um protocolo para cessar o hábito de fumar uma semana antes e oito após o início da colocação dos implantes. Os pacientes (78) foram divididos em três grupos: não fumantes, fumantes que seguiram o protocolo de cessar o hábito e fumantes que continuaram a fumar. Dezesete, de 19 falhas, ocorreram na maxila, sendo que as duas falhas mandibulares ocorreram em dois diferentes pacientes: um que fumou mais de uma carteira por dia e o outro, um não fumante, com um implante de 7 mm na região posterior da mandíbula. Os resultados para cada grupo de pacientes foram: fumantes que seguiram o protocolo = 4 falhas para total de 34 implantes, com percentagem de 11,76%; fumantes que continuaram a fumar = 5/13 (38,46); não fumantes = 10/176 (5,68). As falhas em pacientes que seguiram o protocolo ocorreram todas em sujeitos do sexo feminino com idade de 72 a 76 anos (fumaram por mais de cinquenta anos), osso qualidade tipo IV, (LEKHOLM & ZARB, 1985), e região anterior e posterior da maxila, com comprimentos variando entre 13 e 7 mm. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre índices de falhas dos grupos não fumantes e fumantes que continuaram a fumar ($p < 0,005$) e entre os grupos de fumantes que seguiram o protocolo de cessar o hábito e fumantes que continuaram a fumar ($p < 0,05$), mas

nenhuma entre os grupos de não fumantes e os grupos dos que seguiram o protocolo de cessar o hábito.

Entretanto, em outro estudo retrospectivo, o fumo não demonstrou estar nitidamente envolvido na perda dos implantes, quando avaliado num total de 1.236 implantes instalados em 380 pacientes. Para obter-se informações sobre fatores de risco relativos, os índices foram analisados de acordo com o hábito de fumar, gênero e idade do paciente. Um dado interessante foi que os maiores índices de perdas de implantes ocorreram em homens fumantes, com idade superior a 65 anos (MINSK *et al.*, 1996).

HAAS *et al.* (1996) correlacionaram o fumo com periimplantite dos tecidos. A observação clínica e radiográfica de 366 implantes em 107 pacientes que fumavam foi comparada com um grupo de mil implantes em 314 pacientes não fumantes. As médias durante esse período (idade dos pacientes, localização dos implantes, percentagem de dentaduras parciais fixas e overdenture) foram consistentes em ambos os grupos. Não houve diferença significativa nas médias maxilares e mandibulares dos índices de higiene entre o grupo de fumantes e o de não fumantes. Entretanto, o grupo de fumantes mostrou um alto escore no índice de sangramento e média de profundidade de bolsa periimplante, grau de inflamação da mucosa periimplante e reabsorção radiograficamente visível mesial e distal ao implante. Na maxila, no grupo de fumantes, essas constatações foram significativamente maiores do que as observadas nos grupos de fumantes da mandíbula e não fumantes da maxila ($p < 0,01$). Nenhuma diferença foi observada entre os dois grupos na mandíbula. À parte os efeitos sistêmicos do tabaco no organismo humano, co-fatores locais mostraram-se responsáveis pela alta incidência de periimplantite em fumantes, exercendo um efeito particularmente negativo na

maxila. Esses achados confirmam que fumantes tratados com implantes dentais possuem um grande risco de desenvolver periimplantite.

LINDQUIST *et al.* (1997) escreveram sobre um estudo de acompanhamento de dez anos associando perda óssea marginal ao redor de implantes mandibulares osseointegrados e hábito de fumar. Participaram da pesquisa 45 pacientes edêntulos, 21 fumantes e 24 não fumantes. O nível ósseo peri-implante foi medido por radiografias intra-orais, as informações sobre hábitos de fumar baseadas em cuidadosa entrevista e a higiene oral foi avaliada clinicamente pelo acúmulo de placa. Os resultados a longo prazo foram bons, apenas três implantes (1% dos implantes) foram perdidos. A perda óssea média durante o período experimental foi de 1 mm. Entretanto, esta perda foi cerca de duas vezes maior nos pacientes fumantes (sexo masculino: 1,4 mm e sexo feminino: 1,2 mm) que nos não fumantes (sexo masculino: 0,6 mm e sexo feminino: 0,7 mm) e foi diretamente correlacionada com a quantidade de cigarros consumidos. Fumantes com pior higiene oral apresentaram maior perda óssea marginal ao redor de implantes que aqueles com melhor higiene oral. A perda óssea foi menor ao redor dos implantes mais posteriores (pré-molares) que ao redor daqueles na região mesial dos incisivos. Em fumantes, a diferença na perda óssea entre implantes na região dos incisivos e região dos pré-molares foi extremamente significativa ($p < 0,001$) após um ano, permanecendo assim através do período. Em não fumantes, essa diferença foi menor e não foi estatisticamente significativa até após cinco ou seis anos.

WILSON & NUNN (1999) investigaram a relação do genótipo IL-1 (interleucina), hábito de fumar, idade dos pacientes e a sobrevivência dos implantes. Vinte e sete pacientes com 33 implantes perdidos ou perda óssea de 50% em

radiografias foram comparados a um grupo de 38 pacientes sem experiências de perda óssea ou implantes. O hábito de fumar demonstrou ser um fator de aumento de risco em falhas de implantes ao redor de 2,5. Não houve evidências estatísticas de que pacientes positivos para o genótipo IL-1 possam ter aumentado o risco para a falha de implantes. Não houve também nenhuma aparente relação entre a idade dos pacientes, o tempo desde a colocação e a perda dos implantes.

KAN *et al.* (1999) investigaram, em um estudo retrospectivo, a influência do consumo de cigarros sobre o índice de sucesso de implantes colocados em seios maxilares que receberam enxertos ósseos. Sessenta pacientes (16 fumantes e 44 não-fumantes) receberam 228 implantes, sendo setenta implantes colocados em 26 seios maxilares de fumantes e 158 implantes em 58 seios maxilares de não-fumantes. Os pacientes não fumantes apresentaram uma maior taxa de sucesso (82,7%) que os pacientes fumantes (65,3%). O índice total do sucesso cumulativo dos implantes foi 76%, entretanto, não foi encontrada uma correlação entre a quantidade de cigarros consumida e o número de falhas de implantes ($p > 0,99$). Concluiu-se, através desse estudo, que o tabagismo parece ser prejudicial ao sucesso de implantes colocados em seios maxilares que receberam enxertos ósseos.

Usando um teste de Qui-quadrado, no ano de 2000, WALLACE também avaliou a relação entre o consumo de cigarros e a taxa de falha dos implantes de titânio. Participaram dessa pesquisa 56 pacientes que receberam 187 implantes e foram acompanhados por um período de quatro anos. Os resultados mostraram uma taxa de insucesso de 16,6% para os fumantes e 6,9% para os não-fumantes ($p < 0,01$) sendo que nos implantes mais curtos (10 mm ou menos) foram mais

suscetíveis às falhas os pacientes fumantes. Concluiu-se que o tabagismo é um fator de risco para a perda de implantes dentais.

Avaliando implantes MK II com plataforma larga, ECKERT *et al.* (2001) obtiveram uma taxa de sucesso baixa, onde 57 implantes instalados na mandíbula apresentaram um total de perda de 19%; e na maxila de 28 implantes instalados houve perda de 29%. Porém, quando a taxa de falha foi associada com fatores específicos como o fumo, bruxismo, localização do implante, enxerto do seio maxilar e história de tratamento de canal no sítio de implantação, não foram constatadas diferenças estatisticamente significantes.

Em um estudo retrospectivo, implantes foram instalados em pacientes edêntulos na maxila e divididos em dois grupos, sendo que o critério de inclusão para o grupo de estudo consistia na falha de, pelo menos, metade dos implantes. Pôde-se observar a presença de pacientes fumantes severos (+ de dez cigarros ao dia) quatro vezes maior no grupo de estudo, apesar de possuir o mesmo número de pacientes que o grupo controle. Foram selecionados 54 pacientes divididos em dois grupos: a) pacientes que perderam pelo menos metade dos implantes que receberam e b) pacientes que não perderam nenhum implante. Para uma melhor padronização da amostra, os participantes do grupo B foram escolhidos de acordo com sua similaridade aos pacientes do grupo A. Levou-se em consideração, principalmente, o número de implantes colocados, a data da colocação, o sexo e a idade. Diversos aspectos relacionados à perda precoce e tardia de implantes foram abordados. Em relação ao consumo de cigarros, observou-se que a quantidade de fumantes severos (consumo > que dez cigarros/dia) era quatro vezes maior no grupo A. Além disso, os autores relataram que tabagismo, bruxismo e falta de suporte

ósseo eram fatores a serem considerados na prevenção da perda de implantes (EKFELDT *et al.*, 2001).

Em pacientes, apresentando a maxila severamente reabsorvida e indicados para o tratamento com implantes, foram oferecidas três opções de tratamento: 1) realização de enxerto ósseo e instalação do implante; 2) localização modificada do implante mas sem realizar enxerto ósseo; e 3) confecção de próteses totais. Maior número de implantes foi perdido em pacientes fumantes do que em não fumantes. No grupo 1, havia dezesseis pacientes, sendo que a taxa de falha foi de 74% (17/23) em três pacientes fumantes e 10% (8/78) em treze pacientes não fumantes. Essa diferença foi menor no grupo 2, com vinte pacientes: 20% (9/44) em oito fumantes e 11% (6/53) em doze não fumantes. Quando os grupos foram analisados em conjunto, a taxa de falhas foi de 39% em fumantes e 11% em não fumantes, após o período de observação de cinco anos, embora praticamente todas as perdas de implantes tenham ocorrido nos dois primeiros anos (WIDMARK *et al.*, 2001).

KUMAR *et al.* (2002) avaliaram o efeito do cigarro na obtenção da osseointegração em 1.183 implantes dentários de superfície modificada colocados em 461 pacientes durante um período de 18 meses. O grupo de fumantes consistia de pacientes que fumavam meia carteira ou mais de cigarros por dia. O índice geral de sucesso para fumantes e não fumantes na obtenção da osseointegração foi de 98,1%. Dos implantes colocados em fumantes, 97% osseointegraram com sucesso e 98,4% igualmente, dos colocados em não-fumantes ($p < 0,05$). Os autores concluíram nesse estudo retrospectivo de curta duração que o cigarro não desempenha um papel significativo na obtenção da osseointegração em implantes dentais de superfície modificada.

Ainda em 2002, BAIN *et al.*, monitorando implantes de superfície usinada e implantes Osseotite em relação ao fumo, encontraram em 2.117 implantes usinados de não fumantes, índice cumulativo de sucesso em três anos, de 92,8% e de 93,5% para 492 implantes do grupo dos fumantes. O índice cumulativo de sucesso igualmente em três anos para 1.877 implantes Osseotite de pacientes não fumantes foi de 98,4% e de 98,7% para 397 implantes Osseotite do grupo de fumantes. Nenhuma diferença foi observada entre grupos de fumantes e não fumantes nesta população de pacientes, mas houve uma diferença clínica relevante entre os dois tipos de implantes.

VEHEMENTE *et al.* (2002) por outro lado, em uma estimativa de sobrevivência de um a cinco anos em implantes, identificaram os fatores de risco em 677 pacientes associados com falhas de implantes através de validação estatística. Enquanto outros estudos identificaram vários fatores associados a falhas, nesse estudo somente o uso de tabaco ($p = 0,0004$) e colocação de implante em estágio único ($p = 0,01$) foram estatisticamente associados com um aumento de risco para falhas de implantes.

SCHWARTZ-ARAD *et al.* (2002) compararam a incidência de complicações em 959 implantes entre fumantes e não fumantes, sendo que os 261 pacientes foram divididos em três grupos: não fumantes, fumantes leves (menos de dez cigarros ao dia) e fumantes pesados (mais que dez cigarros ao dia). Os fumantes foram divididos em dois subgrupos de acordo com a duração do hábito de fumar (mais ou menos de dez anos). A média total de falhas para não fumantes foi de 2% e 4%, para fumantes. Complicações como exposição expontânea dos implantes e implantes falhos foram encontradas em mais altas percentagens (46%)

em grupo de fumantes, que em grupos de não fumantes (31%). Implantes imediatos falharam menos freqüentemente que não imediatos.

O estudo de McDERMOTT *et al.* (2003), identificou os tipos de freqüência e fatores de riscos associados com complicações seguidos à colocação de implantes. Variáveis previstas foram agrupadas em categorias: demográfica, história médica, implante-específico, anatômica, protética e reconstrutiva. Complicações foram agrupadas em: inflamatórias, protéticas, operacionais e categorias maiores ou menores. A amostra foi composta de 677 pacientes e a freqüência total de complicações de implantes foi 13,9% (10,2% inflamatório, 2,7% protético, 1% operacional), dos quais 53% foram menores. O modelo multivariado Cox revelou que o fumo, o uso de implantes de estágio único e procedimentos reconstrutivos foram estatisticamente associados com um aumento de risco para complicações totais ($p \geq 0,05$). Dos três fatores associados com um aumento de risco para complicações, concluiu-se que o uso do tabaco e estágio do implante poderiam ser modificados pelo profissional para melhorar os resultados.

KOURTIS *et al.* (2004) analisaram retrospectivamente 1692 implantes de diferentes fabricantes sendo que 50,4% foram instalados em 201 pacientes fumantes e 49,6% em 204 pacientes não fumantes. O fumo influenciou a sobrevivência dos implantes e aumentou a falha em pacientes fumantes, significativamente. Setenta e quatro implantes (4,4%), no total de 1.692 implantes, falharam. O índice de falhas foi mais alto na maxila em pacientes com doenças metabólicas, em osso de qualidade D4 (LEKHOLM & ZARB, 1985), em fumantes e em pacientes com higiene oral deficiente.

Para investigar reabsorção óssea ao redor de implantes (108) um ano após a colocação de próteses, PEÑARROCHA *et al.* (2004) usaram três técnicas:

panorâmica extraoral, periapical intraoral convencional e radiografias digitais em 42 pacientes. Perdas ósseas foram calculadas da diferença entre medidas iniciais e finais. Média da perda óssea em altura foi determinada ser 1,36 mm por radiografias extra orais panorâmicas, 0,76 mm para radiografias intra orais periapicais e 0,95 mm para radiografias digitais. Os implantes localizados na maxila daqueles pacientes, que fumavam onze a vinte cigarros por dia, foram associados com perda óssea significativamente maior. Os autores concluíram que radiografias periapicais e digitais foram mais apuradas que ortopantomografia na determinação da perda óssea peri-implante. Fumantes e localização de implantes na maxila foram associados com aumento da reabsorção óssea marginal perimplantar.

MOY *et al.* (2005) processaram correlações entre idade, gênero, localização dos implantes, qualidade e volume ósseo e história médica com a sobrevivência de implantes a fim de estabelecer a proporção relativa dos riscos (RR). O aumento da idade foi fortemente associado com o risco de falha de implantes. Comparados a pacientes mais jovens (menos de quarenta anos), pacientes com idade de sessenta a setenta e nove anos tiveram um risco significativamente maior de falhas (RR = 2,24; $p < 0,05$). Fumantes (RR = 1,56), diabetes (RR = 2,75), radiação de cabeça e pescoço (RR = 2,73) e terapia pós-menopausa estrogênica (2,55) foram também correlatas com significativas taxas de falhas. O total de implantes perdidos na maxila foi de 8,16% e 4,93% na mandíbula. Os autores concluíram que o total de falhas é baixo e que não há contraindicações absolutas na colocação de implantes. Estas correlações deverão ser planejadas durante o tratamento e registradas no processo do consentimento assistido do paciente.

MUNDT *et al.* (2006) examinaram a sobrevivência dos implantes e resultados das próteses sobre os mesmos explorando fatores de risco em potenciais nas falhas de implantes. A sobrevivência de 663 implantes colocados em 159 pacientes foi de 91,8% após cento e vinte meses. Implantes mandibulares tiveram taxas de índices maiores que implantes maxilares (96% versus 89%, $p = 0,011$). O índice de falhas para implantes foi de 15% sobre fumantes atuais, 9,6% sobre fumantes antigos e 3,6% sobre não-fumantes. As diferenças entre não fumantes, fumantes antigos e fumantes atuais foram significativas (não fumantes versus fumantes antigos: $p = 0,036$, não fumantes versus fumantes atuais: $p = < 0,001$, fumantes antigos versus fumantes atuais: $p = 0,003$). Somente o número de anos do hábito de fumar foi significativamente associado com um aumento de risco de falhas de implantes. Os autores concluíram que o risco relativo das falhas de implantes aumentaram com a duração do hábito de fumar.

PAQUETTE *et al.* (2006) recentemente declararam que o hábito de fumar constitui um fator de risco sistêmico com efeitos adversos, incluindo perda de dentes e implantes. Relataram ainda que fumantes apresentam higiene oral deficiente, epóxia e vasoconstrição dos tecidos, aumento de secreção inflamatória e persistência do biofilme patogênico.

2.2 Efeitos da nicotina nos processos de reparo e osseointegração

O tabaco em geral e o consumo de cigarros, em particular, podem provocar efeitos nocivos diretos ao expor o usuário a muitas substâncias citotóxicas presentes em sua composição.

Mais de quatro mil toxinas são derivadas do tabaco. Entre estas encontram-se venenos como monóxido de carbono, toxinas como os radicais oxigenados, aldeídos como acrolein e acetaldeído, substâncias carcinogênicas como as nitrosamidas e substâncias psicoativas como a nicotina (CATTANEO *et al.*, 2000). Segundo os autores, não só a nicotina e cotinina alteram os principais processos celulares, mas também os aldeídos (componentes voláteis do tabaco) inibem ou diminuem os padrões morfológicos dos fibroblastos de forma diretamente proporcional à dose, sugerindo-se que em baixas concentrações seu efeito pode ser reversível.

Considerada um dos componentes mais importantes do tabaco devido ao seu potencial tóxico, podendo ser absorvida na cavidade oral pelos tecidos moles, aderir às superfícies dentárias ou encontrar-se no plasma, a nicotina na saliva oscila entre 96ng a 1,6mg/ml e no plasma de 15ng a 1,8µg/ml. Estas grandes variações entre os valores máximo e mínimo podem ser explicadas por variações no metabolismo individual, o tipo de tabaco consumido, a frequência e intensidade do hábito e as diferentes técnicas de avaliação (GONZÁLEZ *et al.*, 1996). Na cavidade bucal, as concentrações são bastante altas, em função do contato direto com a fumaça do cigarro e da produção contínua de saliva e de fluido crevicular, este último atuando como reservatório da substância em níveis de cinco a seis vezes mais alto que o plasma ou a saliva (PEACOCK *et al.*, 1993; PAYNE *et al.*, 1996).

A nicotina é rapidamente metabolizada primeiramente no fígado, sendo que 70% presente no organismo é metabolizada para cotinina, apresentando a maior concentração no plasma (VARTIAINEN *et al.*, 2002). A meia vida plasmática da nicotina é curta (trinta a cento e cinquenta minutos), enquanto que a cotinina apresenta uma meia-vida plasmática de 11 a 24 horas, podendo atingir

concentrações variáveis de 106ng/mL a 1ug/mL na saliva e 48ng/mL a 1,1 ug/mL no plasma (GONZÁLEZ *et al.*, 1996).

O fibroblasto é a principal célula dos tecidos periodontais e a literatura suporta a hipótese de que os principais produtos do tabaco como a nicotina, cotinina e os aldeídos têm efeitos tóxicos diretos nos fibroblastos do ligamento periodontal e do tecido gengival, sendo importante destacar que as evidências demonstradas nos trabalhos nos levam a concluir que os fibroblastos são afetados por essas substâncias, o que explicaria em parte a plausibilidade biológica da elevada incidência e severidade da doença periodontal destrutiva em fumantes crônicos.

Segundo HANES *et al.* (1991), a toxicidade atribuída à nicotina é explicada por um mecanismo de proteção celular: a molécula é reconhecida pelos fibroblastos como uma substância injuriante, sendo absorvida pela célula para sua eliminação. Quando são absorvidas grandes quantidades da droga, a exposição prolongada e constante a altas concentrações pode originar uma toxicidade intracelular, capaz de alterar o metabolismo e até levar à morte celular, pois o mecanismo de eliminação da nicotina pela célula é muito mais lento que sua absorção.

Deve-se também considerar que uma das principais funções do fibroblasto é a produção e regulação da matriz extracelular. Evidências mostram que a integridade da matriz extracelular pode ser alterada pela nicotina em concentrações superiores a 500 ng/mL, aumentando a atividade da collagenase e inibindo a produção de fibronectina e colágeno tipo I (TIPTON & DABBOUS, 1995).

PAYNE *et al.* (1996) observaram que a nicotina sozinha não provocou aumento significativo da secreção da prostaglandina E₂ (PGE₂) ou interleucina 1 β (IL-1 β) (mediadores inflamatórios responsáveis pela reabsorção óssea) pelos

monócitos sangüíneos periféricos, quando comparada ao controle. Entretanto, a produção de PGE₂ foi bastante aumentada quando a nicotina foi administrada com lipopolissacarídeos bacterianos (LPS). Já a secreção de IL-1 β foi maior com a solução de LPS sozinha do que associada à nicotina.

PEACOCK *et al.* (1993) investigaram a influência da nicotina (o maior componente da fase particulada do cigarro de tabaco) na reprodução e adesão em culturas de fibroblastos gengivais humanos (HGF). As concentrações de nicotina usadas foram 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; e 0,4 μ M, sendo a média de concentração sérica para fumante 0,1 μ M. Contrariando outros autores, observaram que quanto maior a concentração de nicotina, maior a adesão dos fibroblastos gengivais aos pratos de cultura de plástico comparados ao controle. Baixas concentrações de nicotina inclusive estimularam a reprodução celular, enquanto altas concentrações não provocaram qualquer efeito. Os autores sugeriram que a nicotina poderia não ser a única substância envolvida em várias respostas teciduais provocadas pelo tabaco e que outros agentes presentes na fumaça do cigarro poderiam ser responsáveis pelos efeitos negativos.

Igualmente investigando os efeitos de nicotina e cotinina na adesão e crescimento dos fibroblastos derivados do ligamento humano periodontal, JAMES *et al.* (1999) encontraram que a nicotina inibiu a adesão e o crescimento dos fibroblastos em todas as concentrações estudadas (> 1mg/ml e > 0,5 mg/ml). Já a cotinina pareceu inibir o crescimento e adesão dos fibroblastos na maior concentração estudada (10 μ g/ml), porém esse resultado não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Ainda em 1999, YUHARA *et al.* avaliaram a influência da nicotina sobre o metabolismo ósseo de culturas de células utilizando três linhagens de células:

clonais osteogênicas da calvária de ratos (ROB-C26), clonais pré-osteoblásticas da calvária de camundongos (MC3T3-E1) e células tipo osteoblasto retiradas de uma cultura de células da medula óssea de ratos. Os resultados revelaram que a nicotina estimulou a deposição de íons cálcio pelas células osteogênicas e aumentou a produção de fosfatase alcalina nas células ROB-C26 de maneira dose-dependente. Por outro lado, ambas as atividades foram diminuídas nas células MC3T3-E1. Além disso, observou-se que a nicotina reduziu a atividade dos osteoclastos e afetou negativamente a diferenciação de células pré-osteoblásticas em osteoblastos maduros. Os autores concluíram que a nicotina pode ter um efeito crítico sobre o metabolismo ósseo.

SYVERSEN *et al.* (1999) estudaram os possíveis efeitos deletérios da inalação da nicotina na densidade óssea mineral e propriedades mecânicas em fêmures de ratas. Os animais foram expostos ao vapor de nicotina vinte horas, cinco dias por semana por dois anos. A concentração de nicotina inalada no ar foi conservada em um nível tal (100 ng/ml) para que se obtivesse uma concentração de nicotina no plasma excedendo àquela de fumantes pesados. Não houve diferença em densidade óssea mineral entre os ratos-controle (n = 7) e ratos expostos à nicotina (n = 23) (média $0,216 \pm 0,021$ g/cm² e $0,210 \pm 0,014$ g/cm², respectivamente) (p = 0,19). Em conclusão nenhum efeito negativo da inalação da nicotina foi encontrado nos fêmures de ratas.

IWANIEC *et al.* (2001) investigaram o efeito químico da nicotina adicionada ao tabaco, nos índices séricos minerais e hormônios de cálcio em ratas adultas para elucidar as controvérsias, abordando o impacto da nicotina na integridade óssea. Os animais receberam: solução salina (n = 12), baixa dose de nicotina (4,5 mg/kg/dia, n = 12) ou alta dose nicotina (6,0mg/kg/dia, n = 12),

administradas subcutaneamente através de bomba mini-osmótica, por três meses. Sangue do fêmur, tíbia e vértebras lombares (3-5) foram coletados na necrópsia para determinar os níveis minerais e concentração hormonal, densidade óssea do fêmur e vértebras, turnover ósseo da tíbia e resistência óssea do fêmur. A presença de nicotina no soro (111 ± 7 e 137 ± 10 ng/ml para baixa e alta dose dos grupos de nicotina respectivamente) confirmou a efetividade da droga despejada pela via da mini bomba osmótica. Os níveis séricos de fósforo livre e paratormônio (PTH) foram altos em ratas tratadas com altas doses de nicotina e os níveis séricos de calcitonina foram menores em ratas tratadas com ambas: altas e baixas doses de nicotina do que em ratas do grupo controle. Tratamento com nicotina não teve efeito no turnover ósseo medular ou cortical da tíbia ou conteúdo e densidade óssea mineral do fêmur.

STEFANI *et al.* (2002) avaliaram a influência da nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio com diferentes tratamentos de superfície. Trinta e duas coelhas Nova Zelândia receberam dois implantes de titânio em cada tíbia (sendo dois usinados e dois jateados com óxido de alumínio Al_2O_3), num total de 128 implantes. Os animais foram sorteados para receber a) solução fisiológica; b) 0,37mg de nicotina/Kg/dia; c) 0,57mg/kg/dia; e d) 0,93% mg/kg/dia, através de injeção subcutânea. Receberam aplicação intramuscular de solução de calceína verde a 2%, para marcação do tecido ósseo neoformado, nos dias zero, sete e décimo-quinto após a implantação. Os animais foram sacrificados 42 dias após a colocação dos implantes e a análise estatística (teste ANOVA) não revelou diferença significativa considerando o efeito da nicotina na cicatrização óssea ao redor dos implantes ($P > 0,05$). Entretanto, uma significativa influência da superfície do implante no grau de contato osso-implante foi detectada no grupo C ($30,13\% \pm 4,97$ e $37,85 \pm 8,85$ para superfícies usinadas e tratadas respectivamente) e grupo D

(27,79% \pm 3,93 e 33,13 \pm 8,87, de usinada para superfície tratada respectivamente) ($p < 0,05$). Concluiu-se que a nicotina não influenciou o reparo ósseo ao redor dos implantes de titânio e que implantes com superfície tratada favoreceram a extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante nos animais tratados com nicotina.

NOCITI *et al.* (2002) avaliaram a influência da fumaça de cigarro sobre o reparo e a densidade óssea ao redor de implantes de titânio colocados em ambas as tíbias de 32 ratos Wistar adultos. O grupo teste ($n = 14$) foi exposto à fumaça de dez cigarros, contendo 1,3 mg de nicotina cada, por oito minutos, três vezes ao dia. Os animais foram sacrificados sessenta dias após a colocação dos implantes e a densidade óssea foi medida na área cortical e medular. Na área cortical, uma leve diferença na densidade óssea foi notada entre os grupos (96,18% \pm 1,08% e 95,38 \pm 1,17% nos grupos controle e teste respectivamente; $p > 0,05$), mas não foram estatisticamente significantes. Em contraste, a densidade óssea foi significativamente menor na área óssea medular, nos animais que foram expostos à inalação do cigarro (17,57% \pm 6,45 e 11,30% \pm 6,81 para os grupos 1 e 2 respectivamente $p < 0,05$). Os autores concluíram que, embora a exposição intermitente do cigarro não tenha afetado seriamente a densidade óssea cortical, a mesma pode comprometer a qualidade óssea ao redor de implantes na área medular.

CÉSAR NETO *et al.* (2003) revisaram a influência da nicotina na cicatrização dos implantes considerando duas condições: inalação da fumaça do cigarro e administração subcutânea da nicotina (3 mg/kg) duas vezes ao dia. Quarenta e cinco ratos Wistar foram aleatoriamente divididos em três grupos: grupo 1: controle, $n = 19$; grupo 2: inalação intermitente da fumaça de cigarro, $n = 15$; e

grupo 3: administração subcutânea da nicotina, $n = 11$. Após sessenta dias, os animais foram sacrificados e o grau de contato osso implante (BIC) e a área óssea (BA) entre os limites das roscas dos implantes foram medidos nas zonas ósseas cortical e medular. Na zona cortical, inalação da fumaça do cigarro apresentou uma influência negativa em BIC e BA pelo teste Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Por outro lado, a administração de nicotina não influenciou parâmetro algum ($p > 0,05$). Na zona de osso medular, inalação da fumaça de cigarro também resultou em decréscimo do BIC comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). Igualmente o BA foi significativamente menor nos grupos 2 e 3 quando comparado ao grupo controle ($p > 0,05$). Concluíram os autores que o impacto negativo do cigarro nos implantes pode ser devido a mais de uma molécula presente na fumaça do cigarro e que a nicotina mostra ser parcialmente contribuinte, especialmente no osso medular.

Novamente CÉSAR-NETO *et al.* (2005), conduziram um estudo radiográfico em 41 ratos Wistar machos avaliando a influência da inalação da fumaça do cigarro e o efeito da sua interrupção na qualidade óssea da tíbia. Os grupos designados aleatoriamente foram: grupo 1- controle; grupo 2- três meses de inalação da fumaça do cigarro e dois meses sem exposição à fumaça; e grupo 3- cinco meses de inalação da fumaça do cigarro. No final do experimento, as tíbias removidas foram radiografadas para análise fotodensitométrica. Os resultados mostraram que a exposição contínua à fumaça do cigarro promoveu uma significativa redução na densidade óssea ($p < 0,05$) (3,22 mm Al eq \pm 0,58; 2,93 mm Al eq \pm 0,45; 1,86 mm Al eq \pm 0,35; para os grupos 1, 2 e 3 respectivamente). Níveis semelhantes de densidade óssea foram observados nos grupos controle e interrupção (grupos 1 e 2 - $p > 0,05$). Os autores concluíram que a inalação da fumaça do cigarro pode influenciar a qualidade óssea da tíbia e que a interrupção da

inalação parece reverter esse efeito negativo resultando numa densidade óssea semelhante à do grupo controle.

Ainda CÉSAR-NETO *et al.* (2005), em um estudo histológico, investigaram a influência da cicatrização óssea ao redor de implantes quando da interrupção do hábito de fumar e avaliaram comparativamente protocolos de suspensão temporária versus suspensão completa do hábito. Sessenta e seis ratas Wistar foram aleatoriamente designadas para um dos quatro grupos: 1) controle (n-16); 2) inalação intermitente da fumaça do cigarro, noventa dias antes e sessenta dias após a colocação dos implantes (n-17); 3) inalação intermitente da fumaça do cigarro, 83 dias antes da colocação dos implantes (n-17); 4) inalação intermitente da fumaça de cigarro por 83 dias, interrupção por sete dias antes e vinte e uma semanas após a colocação dos implantes e retorno à inalação intermitente da fumaça do cigarro por mais 39 dias (n-16). Análise intergrupo (Kruskal-Wallis teste, $\alpha = 0,05$) demonstrou um efeito significativo de inalação intermitente da fumaça de cigarro na área óssea ($p < 0,05$) dentro dos limites das roscas dos implantes obtido da zona cortical e medular e que protocolos de completa ou temporária cessação de inalação da fumaça de cigarro resultaram em valores similares aos do grupo controle ($p > 0,05$) $88,91\% \pm 4,29\%$; $80,66\% \pm 6,55\%$; $84,27\% \pm 6,96\%$; $85,71\% \pm 4,7\%$ na área de osso cortical, e $51,8\% \pm 6,9\%$; $38,9\% \pm 10,8\%$; $48,7\% \pm 8,7\%$; $49,7\% \pm 8,04\%$ em área de osso medular para os grupos 1, 2, 3, e 4 respectivamente. Concluíram os autores que completa ou temporária cessação da inalação intermitente da fumaça de cigarro reverte o efeito da exposição na cicatrização óssea ao redor dos implantes de titânio em ambos, osso cortical e medular.

BALATSOUKA *et al.* (2005) investigaram o efeito da nicotina na cicatrização óssea e osseointegração em dezesseis coelhos fêmeas sendo o grupo

teste (n= 8) exposto por oito semanas ao tartarato de nicotina e o grupo controle (n=8) ao placebo (solução salina), administrados via bomba miniosmótica, liberando 15/mg de nicotina dia para os animais do grupo teste. Todos os coelhos tiveram três preparações ósseas nas tíbias. No primeiro e terceiro sítio, foram colocados implantes de 6 mm x 3,5 mm com superfície TiO₂-jateada após quatro semanas na tibia direita e após seis semanas na tibia esquerda e nenhum implante na perfuração central. Dois grupos de cicatrização, seguiram o espaço de duas (tibia esquerda) e quatro semanas (tibia direita). O teste biomecânico (TRT) foi realizado nos implantes colocados no terceiro sítio e o valor médio no grupo teste foi de $17,9 \pm 6,3$ e $37,1 \pm 5,3$ Ncm para os períodos de duas e quatro semanas respectivamente. O (TRT) médio no grupo controle foi de $19,8 \pm 7,4$ e $42,5 \pm 10,6$ Ncm para as semanas 2 e 4, respectivamente. Para as matrizes ósseas centrais sem implantes a densidade óssea (BD-c) foi determinada. Nenhuma diferença significativa nos valores de remoção ao torque foi encontrada entre o grupo teste e grupo controle. As medidas histomorfométricas do BIC e do peri-implante BD-i não mostraram diferenças significativas entre o grupo teste e grupo controle após duas ou quatro semanas. Diferenças significativas foram, contudo, encontradas entre as amostras de duas a quatro semanas. Nas matrizes ósseas centrais não houve diferença significativa no BD-c entre o teste e o grupo controle. Os autores concluíram que a exposição à nicotina num período curto de tempo não teve um impacto significativo na osseointegração dos implantes.

DUYGULU *et al.* (2006) estudaram o efeito de injeções subcutâneas de nicotina na cicatrização do tendão de Aquiles seccionado e suturado transversalmente em modelo experimental coelho. Vinte e dois coelhos Nova Zelândia, pesando 3.000 a 3.500 gramas, foram usados. No grupo experimental,

injeções de tartarato de nicotina 3mg/kg/dia foram feitas três vezes ao dia e no grupo controle foram feitas injeções subcutâneas de soro fisiológico na mesma dosagem por oito semanas. Na avaliação biomecânica, a média dos valores de resistência tênsil no grupo teste ($139,47\% \pm 44,55N$) foi significativamente menor que aquela do grupo controle ($265,9 \pm 39,01 N$) ($z = 2,309$, $p = 0,029$). Os resultados deste estudo mostraram que nicotina prejudicou a cicatrização do tendão de Aquiles após um reparo cirúrgico.

ZHOU *et al.* (2007) sugeriram que a nicotina aumenta a habilidade de fibroblastos gengivais de humanos degradarem colágeno. Entretanto o tratamento de fibroblastos do coração com nicotina segundo TOMEK *et al.* (1994), conduziu a uma diminuição da atividade de colagenase. Esses resultados conflitantes, de acordo com os autores, podem ser causados por diferenças no tipo de fibroblastos, na concentração da nicotina, no período de tratamento e no método de detecção utilizado.

Tem sido, portanto demonstrado através da literatura ter a nicotina efeitos positivos ou negativos sobre vários elementos reparativos do hospedeiro tais como motilidade dos neutrófilos (NOWAK *et al.*, 1990) e adesão dos fibroblastos (JAMES *et al.*, 1999). A maioria desses autores descreveram tais efeitos como dose-dependentes. Entretanto, outras observações têm demonstrado que nicotina pode ter efeitos benéficos anti-inflamatórios (NOWAK & RUTA, 1990), que podem reduzir os sintomas de outras doenças inflamatórias, tais como colite ulcerativa (McGRATH *et al.*, 2004). Ainda, em programas para cessar o hábito de fumar, utiliza-se a nicotina como agente terapêutico em gomas de mascar, adesivos transdérmicos, nicotina para inalação, spray nasal de nicotina com poucas contra-indicações.

CÉSAR-NETO *et al.* (2003) comentaram que, se a hipótese de que a nicotina não exerce efeitos adversos “*in vivo*”, for confirmada, pode ser de grande interesse clínico, pois, protocolos de interrupção de cigarros, baseados no uso de adesivos transdérmicos de nicotina, podem ser delineados como uma alternativa para fumantes que necessitam de colocação de implantes e que apresentam dificuldade na interrupção do hábito no período pré e pós-operatório.

2.3 Implantes usinados e texturizados (anodizados)

Existem duas formas básicas de superfícies de implantes: usinadas e texturizadas. Os implantes usinados são erroneamente denominados de lisos (aspecto macroscópico liso e brilhante). Não recebem tratamento de superfície algum além de usinagem. Microscopicamente, possuem ranhuras (circunferências microscópicas paralelas entre si e perpendiculares ao longo eixo dos implantes). Tais ranhuras são fundamentais para o posicionamento, inserção celular e viabilização da osseointegração (WENNERBERG *et al.*, 1993). As superfícies usinadas são consagradas pela combinação de estudos experimentais com investigações clínicas portadoras de critérios definidos de sucesso e fracasso. Entretanto, os ótimos resultados clínicos de estudos longitudinais de implantes, instalados nas regiões anteriores da mandíbula e maxila, não foram alcançados da mesma forma quando os mesmos implantes com superfície de titânio usinada passaram a ser instalados nas regiões posteriores. Esta limitação estimulou a pesquisa e desenvolvimento de novas superfícies de implantes, a partir de conceitos físicos e químicos.

A modificação bioquímica é um tipo de condicionamento que tem por objetivo respostas tecidual e celular específicas através da mobilização de

peptídeos, proteínas, fatores de crescimento e outras macromoléculas na superfície dos biomateriais. Superfícies contendo aminoácidos bioadesivos, arginina-glicina-ácido aspártico (RGD), por exemplo, podem ser adicionadas em materiais inertes, tendo como alvo as integrinas, receptores na membrana dos osteoblastos (GARCIA & REYES, 2005). A ligação dos osteoblastos ao fragmento RGD de proteínas da matriz extracelular é responsável por sua sobrevivência, proliferação, diferenciação, síntese e mineralização da matriz osteóide, o que em última instância, levaria à osseointegração acelerada do implante que apresentasse essas proteínas ou seqüência de peptídeos em sua superfície. Além disso, a BMP-4 (proteína morfogenética do osso), disponível na superfície da liga de titânio, mostrou-se capaz de induzir atividade osteoblástica em células osteoprogenitoras (PULEO *et al.*, 2002).

As texturas superficiais das superfícies dos implantes podem ser processadas por subtração ou adição.

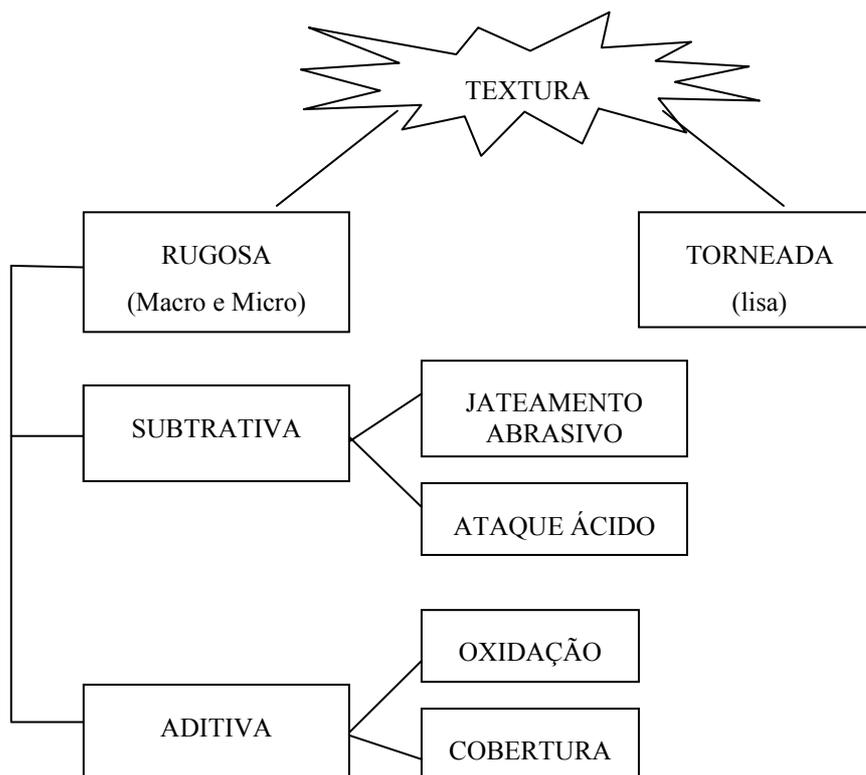


FIGURA 1 - Resumo dos diversos processos de modificação da textura superficial do titânio.
 FONTE: FERES FILHO & LIMA (2007). p. 55.

As superfícies texturizadas por adição (oxidação ou cobertura) são sinterizadas por acréscimo de material, no momento em que partículas esféricas do pó de material metálico (titânio) ou cerâmico (hidroxiapatita) tornam-se uma massa coesa com o núcleo metálico do corpo do implante. Normalmente são conseguidas através da manipulação de partículas maiores (44 a 150 μm) com formatos (esféricos) específicos e que geram uma cobertura de espessura maior (até 3000 μm) do que outros processos de adição. O resultado são irregularidades com profundidades médias de 150 a 300 μm , consideradas de excelência para o crescimento ósseo interno e contato máximo com as paredes do poro (SYKARAS *et al.*, 2000). A ausência de flancos ponteados as distingue das superfícies texturizadas por subtração.

A oxidação anódica (mecanismo aditivo de modificação química da superfície do titânio) pode utilizar diferentes ácidos diluídos como eletrólitos. A anodização gera um filme protetor sobre o metal e pode ser usada para aumentar a espessura do óxido e a resistência à corrosão, além de conferir coloração e porosidade ao material. A oxidação anódica em solução de H_2SO_4 (ácido sulfúrico), combinada com aquecimento a $600^\circ C$, mostrou ser um método eficaz de se preparar titânio com uma superfície porosa, que o torna bioativa (YANG *et al.*, 2004).

No processo de oxidação anódica o implante é colocado em uma célula eletroquímica, servindo como anodo e um potencial é aplicado à amostra, gerando reações de transferência de carga e íons, resultando no fluxo contínuo na célula elétrica. Sob condições controladas, o campo elétrico guiará o processo de oxidação que ocorrerá no anodo, resultando no aumento da espessura da camada de óxido. A espessura da camada de óxido de um implante de titânio usinado que é de $5\ \mu m$ ou $0,005\ \mu m$, aumenta para uma espessura de $1-2\ \mu m$ na porção coronal do implante e $7-10\ \mu m$ na região apical e segundo IVANOFF *et al.* (2003), gera um valor Ra em torno de $1,2\ \mu m$, aumentando a área em 95%. A camada de óxido se torna policristalina, porosa e fortemente aderida ao corpo metálico do implante (HALL & LAUSMAA, 2000).

TAKEBE *et al.* (2000) relataram que a anodização seguida de tratamento térmico provocou a deposição de um filme de hidroxiapatita sobre a superfície de titânio e aumentou a sua hidrofília e osteocondutividade, influenciando na adesão e diferenciação de células da medula óssea. Os resultados *in vitro* deste experimento sugeriram que este novo método, formando uma fina camada de um filme de deposição de HA (hidroxiapatita) na superfície de implantes usinados, pode ser

usado para conseguir um desempenho celular excelente em superfícies de implantes.

O desenvolvimento de implantes com superfícies modificadas rugosas e irregulares justifica-se pelo fato de que as depressões e indentações dessas superfícies induzem ao aumento da osteocondutividade e maior contato implante-osso. As células formadoras de osso possuem características peculiares em relação aos seus requisitos de aderência ao substrato. O osteoblasto quando cultivado sobre superfícies ásperas, exibe um fenótipo mais diferenciado (KIESWETTER *et al.*, 1996) e, segundo os autores, maior retenção do coágulo sanguíneo pela superfície áspera ou rugosa contribuiria para uma cicatrização acelerada após a instalação do implante por meio de uma formação óssea bidirecional (do leito ósseo em direção ao implante e da superfície do implante em direção ao osso).

SENNERBY *et al.* (1993) demonstraram que o reparo em volta dos implantes usinados ocorre mediante um processo de mineralização gradual em direção ao implante (osteogênese à distância), ou seja, os mecanismos que envolvem a osseointegração não iniciam na superfície dos implantes, concluindo que o implante usinado possui uma superfície que permite a mineralização óssea mas não possui uma superfície indutora. Mais recentemente, PALMA *et al.* (2006) reconheceram a dinâmica do processo em relação à neoformação óssea através de marcadores ósseos entre os implantes de superfície usinada e oxidada. Enquanto o contato osso-implante das superfícies usinadas sugeria migração do crescimento ósseo da periferia para o implante, as superfícies oxidadas estavam firmemente envolvidas por tecido ósseo sem evidência de projeções de trabéculas (osteogênese à distância).

Embora a osseointegração possa ser alcançada com sucesso utilizando ou superfícies usinadas ou superfícies texturizadas de implantes, taxas significativamente maiores de sucesso são alcançadas com sistemas de superfícies tratadas. Esses implantes têm as superfícies rugosas criadas através de revestimentos, jateamento de várias substâncias, tratamento ácido, ou a combinação de tratamentos (COCHRAN, 1999).

LARSSON *et al.* (1997) estudaram os efeitos biológicos das alterações da espessura de óxido dos implantes de titânio de um nível eletropolido para uma espessa camada de óxido formada por anodização (pois embora a microrrugosidade pareça ser uma característica importante para a resposta tecidual aos biomateriais, também existem observações que indicam uma resposta biológica às irregularidades no nível nanométrico), transformando a superfície metálica amorfa com um óxido não cristalino em uma superfície metálica policristalina com uma camada de óxido cristalino. A análise destas superfícies em alta resolução demonstrou que a nova superfície era heterogênea, principalmente nas áreas polidas de óxido espesso, mas separada por regiões porosas ao nível nanométrico. Os implantes com este óxido heterogêneo espesso pareceram ter uma resposta levemente aumentada no osso, particularmente nas primeiras semanas após a implantação.

SCHWARTZ *et al.* (1991) relataram que os osteoblastos aderidos sobre superfícies rugosas parecem ser mais propensos a transmitir seu potencial osteogênico a outras células da vizinhança, via mecanismos parácrinos de sinalização, iniciando-se assim a seqüência de eventos necessários à formação óssea (proliferação e diferenciação celulares, produção de matriz extracelular e, por fim, mineralização desta matriz).

No trabalho de ORSINI *et al.* (2000), os autores inicialmente analisaram a superfície em dez implantes usinados e em dez implantes jateados por sílica seguida de tratamento ácido. Subsequentemente foram avaliadas a citotoxicidade dos implantes jateados e de ataque ácido (usando culturas de fibroblastos L929), as diferenças morfológicas entre as células (culturas de osteoblastos, MG63 aderindo à superfície dos implantes usinados) e a ancoragem das células às superfícies jateadas e de ataque-ácido. Os resultados indicaram que ataque ácido com 1% de ácido fluorídrico e 30% de ácido nítrico após jateamento eliminaram partículas residuais de alumina. A média de rugosidade (R^a) produzida pelo jateamento por sílica, seguida do ataque ácido (2,15 μm) proporcionou melhora na adesão das células osteoblásticas, bem como influenciou positivamente nos fatores reguladores da formação óssea. Os resultados mostraram também que não houve reação de citotoxicidade em superfície alguma.

CORDIOLI *et al.* (2000) avaliaram implantes de titânio inseridos na metáfise tibial de doze coelhos com quatro diferentes topografias de superfície: usinada, tratada por ataque ácido, jateada por plasma spray de titânio (TiO_2) e com tratamento ácido duplo - ácido hidrófluorídrico e sulfúrico (Osseotite). Cada coelho teve quatro implantes colocados, dois em cada tíbia. Após cinco semanas, realizaram análise histomorfométrica e biomecânica (remoção ao torque), comparando os resultados. Encontraram pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) que a superfície usinada foi a mais lisa, enquanto a superfície tratada por jateamento por TiO_2 foi a mais rugosa. Pela análise da força de torque, a superfície com tratamento ácido duplo foi a que apresentou maior valor (40,85 Ncm), enquanto a superfície usinada, o menor valor (25,28 Ncm). Entre as outras duas superfícies não houve diferenças estatísticas significantes. Microscopicamente, todos os

implantes se encontraram osseointegrados, sem diferenças histológicas qualitativas. Pela histomorfometria, foi observado novamente melhor contato osso-implante para a superfície com tratamento ácido duplo (72,40%), enquanto as outras superfícies tiveram valores mais baixos e sem diferenças estatísticas significantes entre si.

Em um estudo multicentro MALÓ *et al.* (2000) coordenaram uma pesquisa, com 116 implantes usinados de vários diâmetros e configurações, distribuídos em 76 pacientes. Esses implantes foram colocados em zona estética usando técnica cirúrgica com osteotomia de transfixação apical a fim de aumentar a estabilidade inicial de tal maneira que na inserção o torque fosse maior que 30Ncm para todos os implantes. Vinte e quatro pacientes desse grupo fumaram mais que dez cigarros por dia. Os autores reportaram a 96,5% (112 de 116) o índice de sucesso de osseointegração e 100% (22 de 22), em alvéolos de extrações ou extrações recentes. Nenhum dos fumantes perdeu implantes e os autores concluíram que a estabilidade inicial dos implantes foi mais importante que o tabagismo na influência da sobrevivência dos implantes e cicatrização com esse grupo.

SENNERBY & MIYAMOTO (2000) compararam a estabilidade primária e secundária após três semanas de implantes com superfície SLA (jateamento com areia e posterior ataque ácido) e superfícies anodizadas (TiUnite™) e não observaram diferenças significativas.

A influência do fumo no sucesso da integração e a longevidade dos implantes usinados e condicionados com ácido foram avaliadas por BAIN *et al.*, em 2002. Essa avaliação combinou três estudos multicêntricos prospectivos sobre implantes usinados (n=2.614) e seus estudos multicêntricos respectivos em implantes Osseotite condicionados com ácido (n=2.288), todos com protocolos

padronizados. No total, 492 (18,9%) implantes usinados e 397 implantes Osseotite (17,5%) foram inseridos em fumantes. O consumo médio de cigarros ao dia foi de 12,1 cigarros nos usinados e 12,7 nos implantes Osseotite. Não houve diferenças significantes entre os grupos para idades ou sexo. Significativamente, mais implantes Osseotite foram colocados nas regiões posteriores da boca em relação à anterior (anterior-posterior-usinado = 3,14: 1; anterior-posterior Osseotite = 2,1: 1). A taxa de sucesso cumulativa foi de 92,8% para os usinados e 98,7% para os Osseotite. Não houve diferença significativa entre fumantes e não fumantes quanto à superfície utilizada, mas houve diferença significativa entre as superfícies usinadas e condicionadas com ácido entre os fumantes e não-fumantes. Os resultados para implantes Osseotite na maxila, com cinco falhas em 200 implantes = 97,3% e taxa de sucesso cumulativa até 70 meses, comparam-se aos dados originais para os implantes usinados, com 35 falhas em 196 implantes = 82,1% de taxa de sucesso cumulativa até os 81 meses de acompanhamento.

SUL *et al.* (2002) observaram qualitativa e quantitativamente as reações do tecido ósseo a implantes anodizados, focalizando fatores como o volume do material do implante, seu macro-design e a rugosidade da microsuperfície em pesquisas de laboratório. A resposta óssea ao implante foi relacionada, portanto, com diversas propriedades de superfície, principalmente topográficas e morfológicas. Foi analisada a reação óssea dos implantes de titânio usinados comercialmente puros (c.p) com várias espessuras de filmes óxidos após seis semanas de inserção em coelhos. Os implantes controle tinham uma camada óxida de 17-200 nm, enquanto os implantes teste revelaram uma espessura óxida entre 600 e 1000nm. Para avaliação histomorfométrica o mesmo implante tinha duas superfícies diferentes: uma superfície usinada, não modificada (controle) e o outro

lado do mesmo implante, uma superfície oxidada eletroquimicamente (teste). Este *design* dos implantes permitiu uma comparação direta entre as superfícies teste e controle num mesmo sítio biológico. Histologia das reações teciduais ao redor dos implantes e detecções histoquímicas das atividades enzimáticas ácido-fosfatase e fosfatase alcalina demonstraram achados similares ao redor de ambos os implantes: teste e controle. Os implantes teste demonstraram uma resposta óssea maior histometricamente que os implantes controle e a osteocondutividade foi mais pronunciada em volta das superfícies dos implantes teste. Os autores concluíram que os parâmetros, que diferem entre as superfícies do implante, ex: espessura óxida, distribuição do tamanho do poro, porosidade e cristalinidade dos óxidos da superfície, podem representar fatores que influenciam os resultados histomorfométricos de resposta maior do tecido ósseo, para superfícies de implantes teste, com espessura de óxido maior que 600nm.

IVANOFF *et al.* (2003) avaliaram a resposta óssea de humanos a duas superfícies de micro-implantes de titânio (oxidados-grupo teste e usinados-grupo controle). A espessura da camada de óxido do implante teste foi uma média em torno de 10µm, correspondendo à espessura de óxido da porção apical do implante TiUnite™. Vinte pacientes receberam um micro implante teste e controle em cada cirurgia. Prévio à colocação, a topografia da superfície dos implantes foi caracterizada com um perfilômetro óptico a laser. Após um período de cicatrização de seis meses e meio na maxila e três meses e meio na mandíbula, os micro-implantes foram removidos com uma trefina. Avaliação histomorfométrica demonstrou significativamente maior contato osso-implante para implantes oxidados colocados em maxila e mandíbula. A melhor resposta óssea aos implantes oxidados pode ter contribuído pelo fato de que dois implantes testes e não controle foram

perdidos. As razões para estes achados podem depender de uma ou múltiplas diferenças: espessura da camada óxida em si, o aumento da superfície rugosa, diferentes morfologias de superfície em termos de porosidade e mudança na estrutura do cristal entre as superfícies teste e controle. Estatisticamente foi encontrado mais osso dentro da área das roscas para implantes oxidados colocados em maxila e mandíbula, mas não houve diferença entre os implantes considerando a posição (maxila ou mandíbula), concluindo os autores que o estudo histológico em maxilares humanos demonstrou uma melhor resposta óssea para implantes oxidados que para implantes usinados.

SUL (2003) investigou a reação do tecido ósseo frente a diferentes propriedades químicas de óxidos na superfície de implantes de titânio oxidados. No grupo controle foi utilizado um implante usinado (superfície lisa) e nos grupos testes (três) foram utilizados implantes oxidados eletroquimicamente pelo método de oxidação micro-arc (MAO), sendo incorporada em cada grupo teste uma camada de óxido sulfúrico (S), de fosfato (P) e de cálcio (Ca). Estes grupos foram avaliados pelo teste biomecânico de contra torque. Para avaliação histomorfométrica, foram desenvolvidas superfícies dupla-face para cada implante: uma metade do implante com superfície oxidada eletroquimicamente (superfície teste) e a outra metade com superfície usinada (superfície controle). Oitenta implantes foram inseridos no fêmur e nas tíbias de dez coelhos adultos (Nova Zelândia) por seis semanas. Os valores de remoção ao torque foram de 16,8 Ncm ($\pm 4,5$; variando 10-25 Ncm) para implantes S; 15,1 Ncm ($\pm 4,3$ variando 9-20 Ncm) para implantes P; 19,4 Ncm ($\pm 3,1$ variando 14-24 N cm) para implantes Ca e 12,7 Ncm ($\pm 1,9$; variando 10-15 Ncm) para implantes controle. Houve diferenças significativas entre os implantes com S e os controles ($p=0,022$), implantes Ca e controles ($p=0,0001$), implantes Ca e implantes P

($p=0,005$), mas não mostrou diferenças significativas entre os outros ($p>0,05$). Além disso, o osso, ao contato com o metal (BMC) em volta de todo o implante, demonstrou 186% de aumento em implantes S, 232% de aumento em implantes P e 272% de aumento em implantes Ca quando comparados aos pares dos grupos controle. Com base na análise comparativa das características da superfície, resultante de diferentes respostas ósseas entre todos os grupos, concluiu-se que a química da superfície e a topografia separadamente, ou juntas, jogam um papel importante na resposta óssea aos implantes oxidados.

ROCCI *et al.* (2003) conduziram um estudo comparando implantes de superfície usinada e implantes Ti-Unite™ quando da aplicação de carga imediata em próteses fixas parciais na região posterior de mandíbula. No grupo teste, 22 pacientes receberam 66 implantes superfície Ti-Unite™ conectados com 24 próteses fixas no dia da inserção dos implantes. No grupo controle, 22 pacientes receberam 55 implantes usinados conectados com 22 próteses parciais no dia da inserção. Três implantes de superfície Ti-Unite™ e oito de superfície usinada falharam durante as sete primeiras semanas de carga. A média de sucesso cumulativo para a superfície Ti-Unite™ após um ano da carga protética foi de 95,5% e para a superfície usinada 85,5%. Quando se usaram implantes usinados, o número de falhas foi significativamente maior (14,4% x 4,5%) em pacientes tabagistas e em sítios ósseos de qualidade tipo IV (LEKHOLM & ZARB, 1985), um padrão que não foi observado para os implantes anodizados. O estudo demonstrou uma média de sucesso 10% maior com carga imediata na mandíbula posterior suportada por implantes Ti-Unite™ comparada com o sucesso de implantes usinados.

VASCONCELOS *et al.* (2004) avaliaram clinicamente implantes com diferentes superfícies, instalados em maxilas reconstruídas com enxerto ósseo.

Foram instalados 38 implantes Standard, com superfície lisa no grupo I e no grupo II, 38 implantes Ti-Unite™ MK III, com superfície texturizada. Do total de 76 implantes colocados, no momento da cirurgia de reabertura, observou-se sensibilidade e mobilidade de um implante Standard e um implante Ti-Unite™ resultando em índices de sucesso de 97,4% tanto para implantes de superfície lisa quanto de superfície tratada, avaliados desde o momento de sua instalação até a conexão dos pilares protéticos.

ELIAS *et al.* (2005) submeteram amostras de implantes aos tratamentos de jateamento, ataque ácido e anodização. Efetuados os tratamentos e inserção em tíbias de coelhos, os implantes foram removidos doze semanas após por meio de ensaios de contra-torque. Comparando-se os valores de torque de remoção dos implantes, pode-se observar que os implantes oxidados (anodizados) apresentaram maior resistência à remoção por torque (93,15 Ncm) que os que sofreram jateamento (TiO₂) (82,15 Ncm) e os tratados por ácido (85,45 N cm).

SUL *et al.* (2005) conduziram um estudo para investigar a função química da superfície do implante na resposta óssea e a validade da teoria da ligação biomecânica e a oxidação, (implantes bioativos), com a superfície química específica do implante, pois, segundo o próprio autor principal desse estudo, a estrutura dos microporos e a composição química da superfície do óxido dos implantes realçam a osseointegração. Dois grupos de implantes oxidados foram preparados, utilizando processo Oxidação micro arc (MAO) e inseridos em coelhos. Um grupo consistiu de grupo de implantes incorporados de íons magnésio (implantes Mg TiO) e outro consistiu implantes estequiométricos TiO₂, (implantes TiO). As propriedades oxidantes dos implantes foram caracterizadas com várias técnicas analíticas de revestimento. Após seis semanas de teste *in vivo*, os valores de remoção ao torque

dos implantes de Mg apresentaram diferenças significantes sobre implantes TiO ($p \leq 0,0001$). Os resultados do teste para os implantes de magnésio foram 37Ncm (± 4 ; média 30-42 Ncm; $n=9$) e 15 Ncm (± 4 ; média 7-22 Ncm; $n=9$) para TiO.

XIROPAIDIS *et al.* (2005) avaliaram a osseocondutividade dos implantes comparando o contato implante-osso à cobertura relativamente lisa, altamente cristalina de CP (fosfato de cálcio) com uma superfície TO (Ti Unite™) modificada porosa em dez cães labradores. Quatro implantes de titânio, sendo dois com cobertura CP e dois com superfícies TO-modificadas, foram instalados doze semanas após a extração de premolares e molares mandibulares. Foram injetados marcadores ósseos fluorescentes três e quatro semanas após a cirurgia e pre-eutanásia para monitorar o progresso da formação óssea. Os animais foram abatidos oito semanas após a cirurgia e biópsias em bloco foram preparadas para análises histológicas e histométricas. Não houve mudanças notáveis/marcantes na formação óssea e contato osso-implante aparente em comparação a superfícies TO-modificado e cobertura de CP. Contudo, a média mensurada do contato osso-implante foi 71% e 57% ($P=0,027$) para implantes de TO-modificado e de cobertura de CP, respectivamente. Concluíram os autores que a superfície TO exibe propriedades osseocondutivas excedendo àquelas de superfície CP, indicando esse estudo que a cristalinidade e ou os procedimentos químicos podem ser importantes.

Recente estudo experimental de PALMA *et al.* (2006) em macacos avaliou a osseointegração de implantes usinados e oxidados em seio maxilar preenchido por coágulo com ou sem osso autógeno por histologia, histomorfometria e através da análise da frequência de ressonância (RFA). Foram incluídos nesse estudo quatro macacos prego-tufted capuchin (*Cebus apella*), sendo que todos os animais receberam dois implantes de 3,75mm de diâmetro e 8,5mm de comprimento (um

MKIII - usinado - e um MKIII Ti-Unite™ - oxidado eletroliticamente) em cada lado da maxila. Os autores concluíram que não houve diferença entre o seio preenchido somente com coágulo local e o seio preenchido com osso autógeno em relação à frequência de ressonância, contato osso-implante e área de osso nas roscas. Porém, o contato osso-implante nos implantes oxidados exibiu melhor integração óssea comparado com os implantes usinados. Os implantes oxidados mostraram maior área de osso nas roscas nos seios com enxertos ósseos quando comparados com os implantes usinados.

SHIBLI *et al.* (2007) conduziram um estudo para avaliar o percentual da influência da superfície oxidada no contato osso-implante (BIC%), da densidade óssea na área das roscas (BA%) bem como a densidade óssea, fora da área das roscas (BD%) em maxilares humanos após dois meses de cicatrização sem carga. Trinta pacientes, com idade média de 42 anos, receberam dois microimplantes cada, durante cirurgia de implante convencional em maxila ou mandíbula. Os microimplantes, com superfície de titânio comercialmente puro (usinados) e oxidados, serviram como superfície de controle e teste respectivamente. Todos os micro implantes, exceto dois usinados e um oxidado, foram encontrados clinicamente estáveis após o período de cicatrização de dois meses. Avaliação histométrica da média BIC% foi $(21,71 \pm 13,11)\%$ e $(39,04 \pm 15,75)\%$ para as superfícies de microimplantes usinados e oxidados, respectivamente. A BD% foi maior para a superfície oxidada, embora não tenha havido diferença entre maxila e mandíbula. A superfície oxidada teve um impacto no percentual de BA para osso tipo IV (LEKHOLM & ZARB, 1985). Na data, os autores sugeriram que a superfície oxidada apresentou uma média de maior contato osso implante quando comparada com superfície usinada sem condições de carga, após um período de dois meses de

cicatrização e que a superfície oxidada mostrou um valor de média maior para todos os parâmetros ($p < 0,05$).

Ainda no ano de 2007, SHIBLI *et al.* conduziram outro estudo para avaliar a influência da superfície oxidada no contato osso implante (BIC%), bem como a densidade óssea dentro das áreas de rosca (BD%) em região posterior de maxila humana após dois meses de cicatrização sem carga. Sete pacientes (média de idade 45 anos) receberam dois microimplantes cada, de superfície usinada e oxidada, servindo como controle e teste respectivamente. Dois implantes usinados foram encontrados instáveis clinicamente no tempo de avaliação. Avaliações histométricas mostraram uma média (BIC%), de $17,40 \pm 14,16\%$ e $32,19 \pm 15,68\%$, para superfícies de implantes usinadas e oxidadas respectivamente. O BD% foi $22,13 \pm 19,06\%$ para superfície usinada e $50,40\% \pm 18,35\%$ para superfície oxidada. Os dados histológicos sugeriram que a superfície dos micro-implantes oxidados apresentou melhores valores em resultados de BIC% e BD% que a superfície de implantes usinados em tempo de cicatrização curto.

Estudos mais recentes de ELIAS & MARQUES (2007), avaliando superfícies de implantes usinadas, tratadas com ácido, anodizadas e tratadas com flúor, mostraram que a superfície com melhor biocompatibilidade avaliada pela deposição de íons da solução SBF (solução de fluido corpóreo) foi a do Vulcano® (anodizada) e, apesar dos tempos de imersão terem sido relativamente baixos, obteve-se um resultado significativamente positivo após os tratamentos Porous (tratada com ácido) e com flúor. Nesse trabalho esperava-se, porém encontrar medidas de rugosidade altas nas superfícies anodizadas ($Ra = 0,83 \pm 0,03$), mas os maiores níveis foram correspondentes aos tratamentos de superfície com ácido-Master Porous ($1,03 \pm 0,07$).

Ainda em 2007, PARK *et al.*, investigaram os efeitos da cobertura de implantes com superfície rugosa ($Ra=1,8\mu m$) por uma molécula de adesão tetra-celular (T-CAM) na formação óssea peri-implantar em fêmures de coelhos. Os autores avaliaram após oito semanas de cicatrização e concluíram que nos implantes de titânio de superfície rugosa com cobertura houve um aumento na T-CAM com acentuada formação óssea periimplantar nos fêmures de coelhos em locais de piores condições óssea.

3. PROPOSIÇÃO

Em vista de vários trabalhos na literatura demonstrarem resultados variados sobre nicotina e reparo tecidual e, mais recentemente, superfícies de implantes anodizadas na otimização de resultados, este estudo teve por objetivo investigar se a utilização de nicotina injetada diariamente, durante oito semanas, poderia interferir na osseointegração de implantes de titânio, com duas superfícies diferentes, colocados em tíbias de coelhos.

4. MATERIAL E MÉTODO

Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade de Passo Fundo em sessão de 26 de janeiro de 2005, registro no CEP 535/2006 (ANEXO 1), e na Secretaria de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic registro nº 07/032 (ANEXO 2).

Os procedimentos envolvendo os animais foram executados de acordo com o preconizado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Constituição do Estado, Lei nº 11.915, artigo 82, inciso IV, de 21 de maio de 2003, ANEXO 3), assim como pela Constituição Federal, Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979, que estabelece as normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais.

Prévio ao desenvolvimento da pesquisa, realizou-se uma concordância intra-examinador de teste e reteste com intervalo de 48 horas (GRAF. 1), referente à avaliação da densidade óssea das radiografias periapicais digitalizadas.

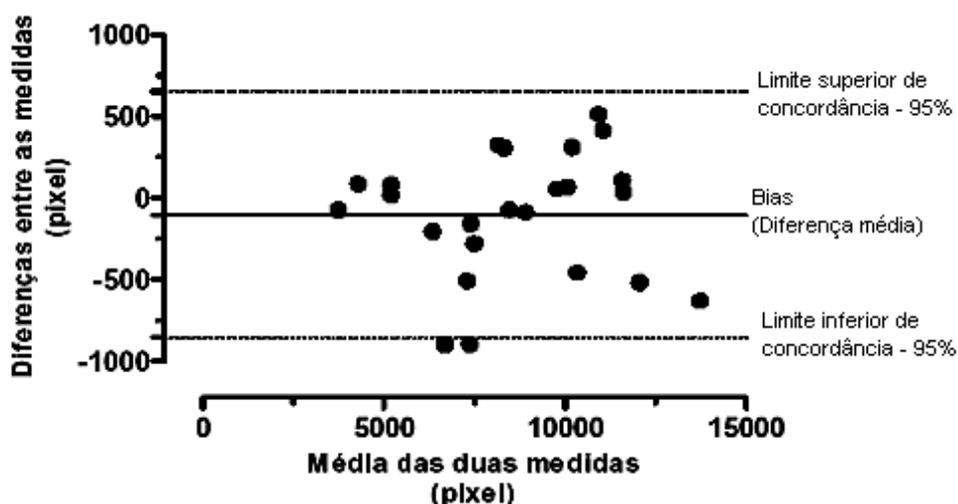


GRÁFICO 1 - Reprodutibilidade intra-examinador. Gráfico de Bland-Altman dos dados obtidos em duas análises com intervalo de 48 horas. A reprodutibilidade intra-examinador está dentro dos limites de concordância.

4.1 Critérios de inclusão- modelo animal e grupos

O experimento foi desenvolvido dentro do paradigma tradicional, analisando-se (fosfatase alcalina, nicotina base livre e cotinina, teste de remoção ao torque -TRT- e densitometria óptica). Para tanto, realizou-se um estudo experimental em coelhos, com amostragem selecionada de forma aleatória, em acordo aos critérios idade (8 a 10 meses) e peso (3,5 a 4 kg), com caráter cego. Foram utilizados 22 coelhos machos, clinicamente saudáveis, da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), obtidos na Cabanha Nova Zelândia, em Guaíba, RS. Os animais foram mantidos durante todo o período experimental no biotério da Universidade de Passo Fundo, em gaiolas plásticas individuais, devidamente identificadas, com acesso a comida (alimentação sólida¹) e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais:

Grupo I (controle):

- onze coelhos que, após a colocação dos implantes, receberam injeções sub-cutâneas de 0,09% NaCl (soro fisiológico), na dosagem de 3mg/kg/dia, três vezes ao dia (DUYGULU *et al.*, 2006), por oito semanas;

Grupo II (teste):

- onze coelhos que igualmente, após a colocação dos implantes, receberam injeções subcutâneas de tartarato de nicotina (Sigma-Aldrich, Copenhagen, Denmark AS) 3 mg/kg/dia, três vezes ao dia; (DUYGULU *et al.*, 2006), por oito semanas;

¹ Ração Sítios e Quintais – Purina individuais Nutrimentos

- todos os coelhos foram cuidados diariamente pelo biólogo e veterinário responsáveis pelo biotério.

4.2 Procedimento cirúrgico

Para o procedimento cirúrgico, os animais foram pesados a fim de se calcular as doses de atropina e anestésico. Os coelhos foram submetidos à anestesia geral com injeção de 0,50 mg de atropina,² na dose de 0,44 mg/kg, cerca de quinze minutos antes da realização da anestesia, com finalidade de prevenir a bradicardia causada pela xilazina³. A via intramuscular profunda foi utilizada para a indução anestésica, por meio da injeção de solução aquosa a 2% de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-8,6-dihidro-4-H-1,3 tiazin (xilazina), na dosagem de 5mg/kg. Após 15 minutos foi aplicada a tiletamina/zolazepan⁴ 50mg/ml, na dose de 7mg/kg, pela via endovenosa e para a manutenção foi utilizada a metade da dose inicial.

Os animais foram submetidos à tricotomia (FIG. 2) bilateral dos membros inferiores, na área compreendida entre articulação tibio-femural até a pata do animal, antissepsia com solução alcoólica de polivinilpirrolidona iodo 1%⁵ e o campo operatório foi isolado por aposição de campos estéreis descartáveis.

² Sulfato de Atropina - Ariston

³ Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-8,6-dihidro-4-H-1,3 tiazin (xilazina)

⁴ tiletamina/ zolazepan/zoletil-Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda.

⁵ Riodeine – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.



FIGURA 2 - Tricotomia do membro inferior dos animais

Com uma lâmina de bisturi nº 15, incisou-se aproximadamente 4 cm a pele e tecido subcutâneo, região correspondente à face medial superior da tíbia, em seu terço proximal (FIG. 3), divulsionou-se o plano muscular subjacente até o nível do perióstio, o qual foi descolado e mantido afastado para possibilitar as perfurações a cerca de 10mm abaixo da articulação tíbio-femural.



FIGURA 3 - Demarcação no leito receptor da localização do implante

Para a perfuração do leito implantar, foram utilizadas brocas seriadas (lança de 1,8 mm, broca piloto e brocas elicoidais de 2,0; 2,8 e 3,0 mm de diâmetro), respeitando-se a marcação de 6mm de profundidade no osso, montadas em contra-ângulo redutor 16:1, acoplado a um motor elétrico, à velocidade de trabalho de 1.500 rotações por minuto, com um torque de 36 Ncm. Todas as perfurações foram

realizadas sobre irrigação externa com solução salina com cloreto de sódio a 0,9% (FIG. 4).



FIGURA 4 - Perfuração seqüencial de brocas

Cada tíbia direita recebeu um implante usinado (Master Screw) e cada tíbia esquerda, um implante anodizado (Master Vulcano Actives[®]), ambos de 6 mm de comprimento e 3,75 de diâmetro (ANVISA - 80010290001) (FIG. 5).



FIGURA 5 - Superfície do implante anodizado e colocação

O periósteo foi reposicionado e juntamente com tecido muscular suturados, ambos, por pontos interrompidos (FIG. 6).



FIGURA 6 - Suturas interrompidas

Após, cada animal foi demarcado numericamente conforme pertencente ao grupo controle ou teste (FIG. 7).



FIGURA 7 - Demarcação dos grupos

4.3 Medicação pós-operatória

A medicação pós-operatória foi iniciada logo após o procedimento cirúrgico com o antibiótico Baytril® 5%⁶ intramuscular, na dose de 5mg/kg a cada 24 horas, durante cinco dias, associado ao antiinflamatório Ketofen® 1%⁷ na dose de 1mg/kg intramuscular a cada 24 horas, durante três dias.

⁶ Baytril (Enrofloxacin) Bayer

⁷ Ketofen (Cetoprofeno) Merial

4.4 Coleta das amostras de sangue

Após oito semanas de cicatrização, foi realizada punção da veia jugular com coleta de 10ml de sangue dos animais para as análises de fosfatase alcalina e níveis séricos de nicotina e cotinina. Para estabelecer os níveis séricos normais de fosfatase alcalina, um grupo de três coelhos, com as mesmas características daqueles utilizados nos grupos experimentais, foram submetidos a colheita de sangue e posterior dosagem.

4.5 Análise Bioquímica-atividade da fosfatase alcalina sérica

A atividade da enzima fosfatase alcalina sérica foi realizada conforme descrito por WOITGE *et al.* (2001). As amostras coletadas do sangue dos coelhos foram mantidas à temperatura ambiente por 30-40 min e, após, submetidas a uma centrifugação de 1000 g por 10 min. A dosagem da atividade da enzima foi realizada por técnicas colorimétricas, utilizando p-nitrofenilfosfato como substrato (ANEXOS 4 e 5).

4.6 Análise Toxicológica- detecção e quantificação da nicotina no sangue total (base livre) e cotinina

A detecção e quantificação da nicotina (base livre) no sangue total das amostras foram obtidas por processo de preparação pela extração por fase sólida (EFS), sendo o extrato resultante submetido à análise por método de Cromatografia Gasosa, Detector Ionização de Chama (CG/FID), Cromatógrafo HP 5890 II, Coluna Capilar BP 624-30m). O padrão utilizado foi N3876, Nicotine Free Base 98-100% - Sigma. Sensibilidade do método: 0,01%.

Do mesmo modo, a detecção e quantificação da cotinina (metabólito da nicotina) das amostras foram obtidas por processo de preparação pela extração por fase sólida (EFS, Varian HF Bond Elut LRC Certify), sendo o extrato resultante submetido a análise por método de Cromatografia Gasosa- Detector Ionização de Chama (CG/FID, Cromatógrafo HP 5890 II, Coluna Capilar BP 624-30m). Padrão C5923 (-)-Cotinine 98%-Sigma. Sensibilidade do método: 0,1ng/mL. As amostras foram armazenadas em *freezer* a -70°C no laboratório de análises toxicológicas (LATOX).

4.7 Protocolo de eutanásia

Os animais foram mortos oito semanas após a colocação dos implantes por meio de uma dose letal de anestésico, de acordo com a legislação que dispõe sobre os procedimentos e métodos de eutanásia em animais, RESOLUÇÃO Nº 714, de 20 de junho de 2002-Conselho Federal de Medicina Veterinária- CFMV. Foi utilizado o Tiopental 2,5%, na dose de 30mg/kg, via endovenosa, e logo após, cloreto de potássio.

4.8 Reabertura dos implantes, TRT (teste de remoção ao torque)

Sacrificados os animais, os locais das implantações foram acessados através de incisão. As tampas dos implantes foram removidas (FIG. 8), recolocados os montadores com seus respectivos parafusos e acoplados ao torquímetro (FIG. 9).

Os implantes foram então removidos através do movimento anti-rotacional medido com o torquímetro digital portátil.



FIGURA 8 - Reabertura do implante após oito semanas



FIGURA 9 - Torquímetro digital acoplado ao montador do implante

O modelo TQ 680, Digital/Portátil –C/R S-232, N/Série Q321145, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda, tem o local da empunhadura no torquímetro, que permite variações na posição da mão sem que haja modificação sobre o ponto de aplicação da força (FIG. 10). O módulo de leitura é mantido em “pico” e o mostrador do aparelho registra gradualmente a força aplicada de modo crescente até haver o rompimento da união implante /osso e a força aplicada é registrada no aparelho. Este valor, dado em Ncm, representa a leitura de “pico” (FIG. 11).



FIGURA 10 – Torquímetro Modelo TQ 680



FIGURA 11 - Leitura do TRT em pico, coelho nº 5, implante usinado, grupo teste

Para ocorrer total isenção durante as medições, os animais foram entregues aleatoriamente por um colaborador ao pesquisador, que não sabia qual o

grupo de animais que estava medindo. Todas as leituras foram realizadas por um operador treinado em experimentos prévios.

4.9 Coleta das amostras ósseas

As amostras ósseas de aproximadamente 10 cm, contendo os implantes, foram removidas, os blocos foram lavados em água corrente e submetidos a tomadas radiográficas periapicais digitalizadas (FIG. 12 e 14).



FIGURA 12 - Bloco de tíbia osteotomizado

4.10 Tomadas radiográficas periapicais digitalizadas

As radiografias foram obtidas com aparelho de raio-x, modelo SATELEC X-MIND-70 kVp e 8mA com ponto focal de 0,7mm x 0,7 mm, filtração de 2,5mm Al e versor digital CCD Fimet IOX-F1 (FIG. 13).



FIGURA 13 - Aparelho de raio-x SATELEC

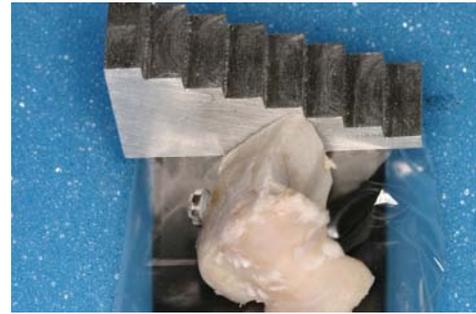


FIGURA 14 - Amostra óssea

As radiografias digitalizadas com tempo de exposição de 0,02s, foram submetidas a análise de densitometria óssea (FIG. 15 e 16).

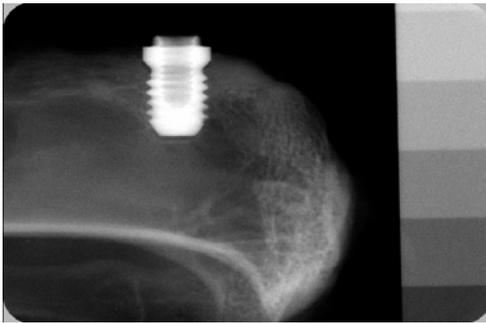


FIGURA 15 - Radiografia digitalizada do animal nº 01 (grupo teste) implante usinado

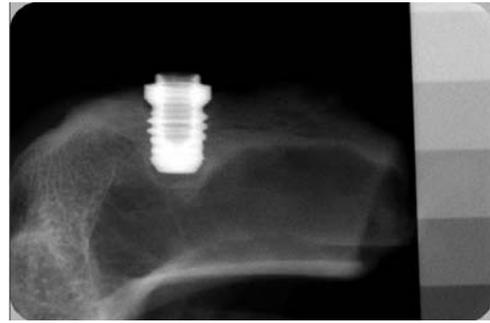


FIGURA 16 - Radiografia digitalizada do animal nº 4 (grupo teste) implante anodizado

4.11 Metodologia para análise da densidade óptica das radiografias periapicais digitalizadas

Definida a área a ser mensurada, foram padronizadas duas medidas de densidade óptica considerando a “mesial” e “distal” de cada implante, tomando como referência apical a última rosca (1) e cervical a plataforma do implante (2) (FIG. 17).

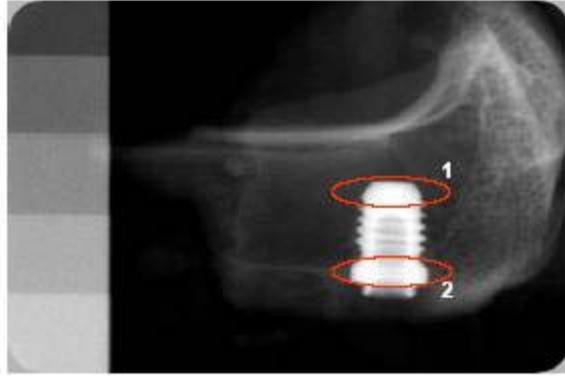


FIGURA 17 - Definição da área mensurada

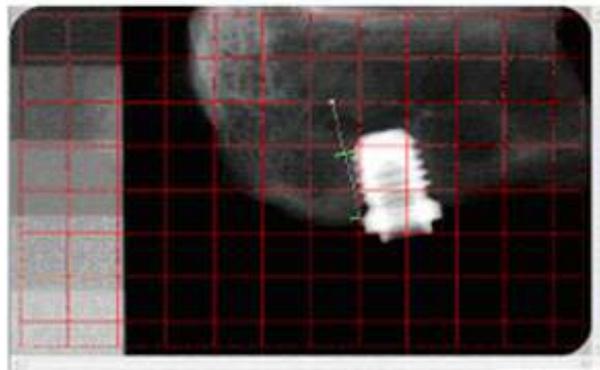


FIGURA 18 - Densidade óptica na área pré-determinada (linhas verde) utilizando o programa Image Pro Plus 4.5.

Com o programa Image Pro Plus 4.5 foi possível determinar a densidade óptica na área pré-determinada (linhas verdes) conforme a descrição acima (FIG. 18).

Após a obtenção das medidas, foi realizada a análise da densidade (pixel) do padrão de referência para cada foto, utilizando apenas quatro escalas graduadas, pois essas eram comuns a todas as fotos (FIG. 19).

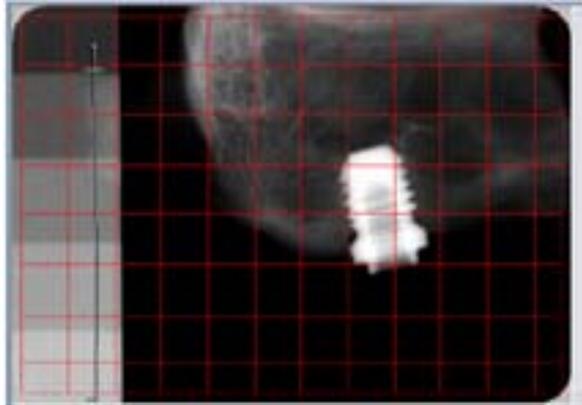


FIGURA 19 - Análise da densidade (pixel) do padrão de referência

Foi mensurado o comprimento de cada implante, por questões metodológicas (FIG. 20).

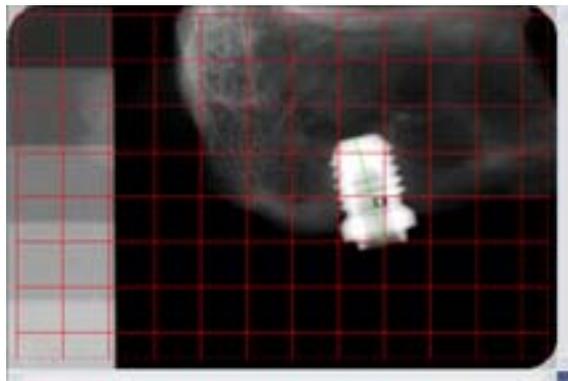


FIGURA 20 - Correção nos dados através da escala de referência

4.12 Análise Estatística

Os dados foram analisados pelos métodos de análise: teste t (peso dos coelhos), ANOVA e Bonferroni (fosfatase alcalina, teste de remoção ao torque, e densidade óptica) e correlação de Pearson entre a densidade óptica, teste de remoção ao torque e cotinina. O nível de significância considerado para os testes foi de 5%.

5. RESULTADOS

Tres animais do grupo teste morreram antes da data convencionada para o sacrifício. Os resultados foram, portanto, obtidos de 19 animais saudáveis, sacrificados após oito semanas.

A fim de se avaliar o efeito da nicotina e as características superficiais do implante sobre o processo da osseointegração, foram obtidos dados relacionados à atividade da fosfatase alcalina, nicotina e cotinina dos animais, bem como para avaliar a osseointegração nos grupos (controle e teste) e entre as superfícies de implantes foi utilizado o teste de remoção ao torque (TRT) e densitometria óssea.

5.1 Resultados dos pesos dos animais entre os grupos

A TAB. 1 mostra as médias e desvios-padrão dos pesos dos animais entre os grupos.

TABELA 1 - Médias e desvios-padrão dos pesos dos animais entre os grupos

Grupo	<i>n</i>	Peso	<i>P</i>
Grupo teste	8	4,04 ± 0,26	<i>p</i> =0,291
Grupo controle	11	4,08 ± 0,24	teste t

O peso dos animais (coelhos) não diferiu entre os grupos (*p*=0,291).

5.2 Resultados da fosfatase alcalina entre os grupos e às superfícies dos implantes

O GRAF. 2 mostra os níveis de fosfatase alcalina observados nos animais, em relação aos grupos (teste e controle) e as superfícies dos implantes.

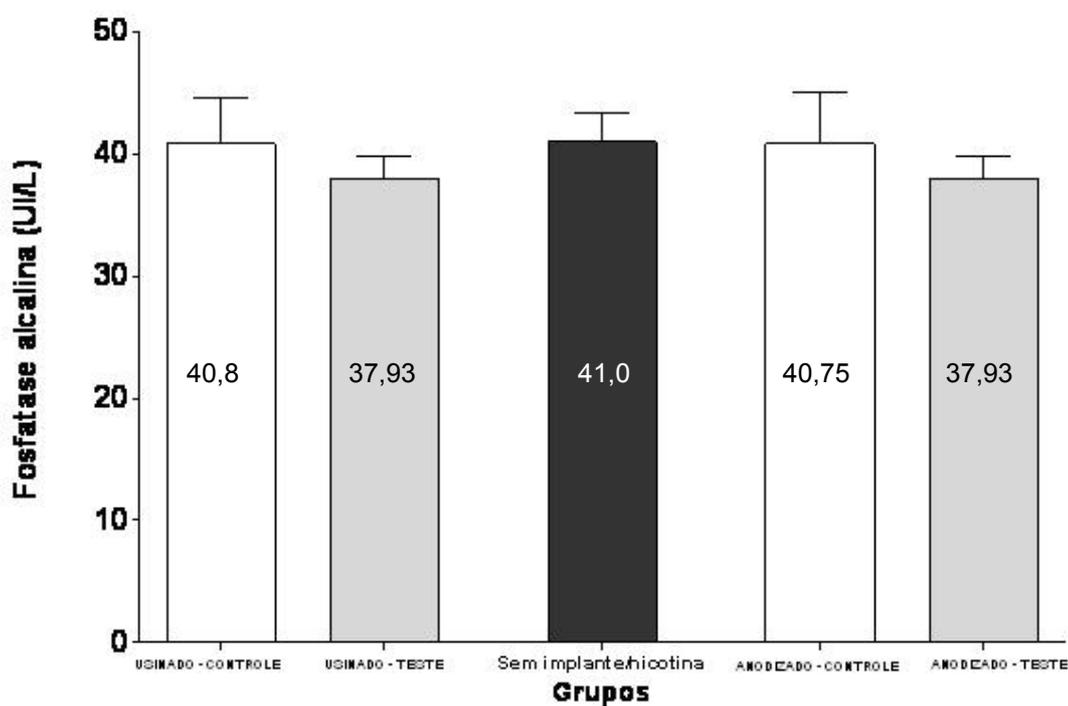


GRÁFICO 2 - Comparação entre os grupos (teste e controle), superfícies de implantes e a fosfatase alcalina (UI/L).

A fosfatase alcalina não diferiu entre grupos teste e controle (ANOVA, $p=0,402$) e nem entre as superfícies dos implantes (ANOVA, $p=0,999$).

5.3 Resultados entre níveis de nicotina (ng/mL) e cotinina (ng/mL) do grupo teste

Os níveis de nicotina e cotinina nos animais do grupo teste obtidos são mostrados no GRAF. 3.

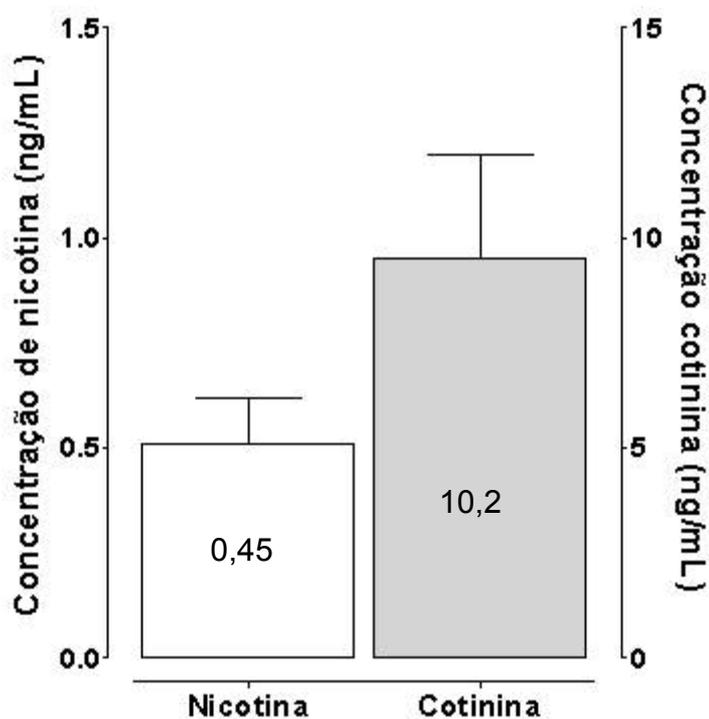


GRÁFICO 3 - Concentração de nicotina (ng/mL) cotinina (ng/mL) no grupo teste.

A concentração de cotinina foi cerca de vinte vezes maior do que a concentração de nicotina. Houve uma correlação positiva (Teste de Pearson, $r=0,9413$), significativa ($p=0,0015$) e alta entre as concentrações de nicotina e cotinina.

5.4 Resultados dos valores de força do teste de remoção ao torque (TRT) em relação aos grupos e superfícies de implantes

Para avaliar a osseointegração entre os grupos e entre as superfícies de implantes foi utilizado o teste de remoção ao torque (TRT). Os valores dos torques de remoção correspondem a força (em Newtons por cm) utilizada nos grupos (controle e teste) considerando a superfície de cada implante (usinado - tibia direita e anodizado-tibia esquerda) nos coelhos de ambos os grupos.

O GRAF. 4 mostra os resultados obtidos para este fator.

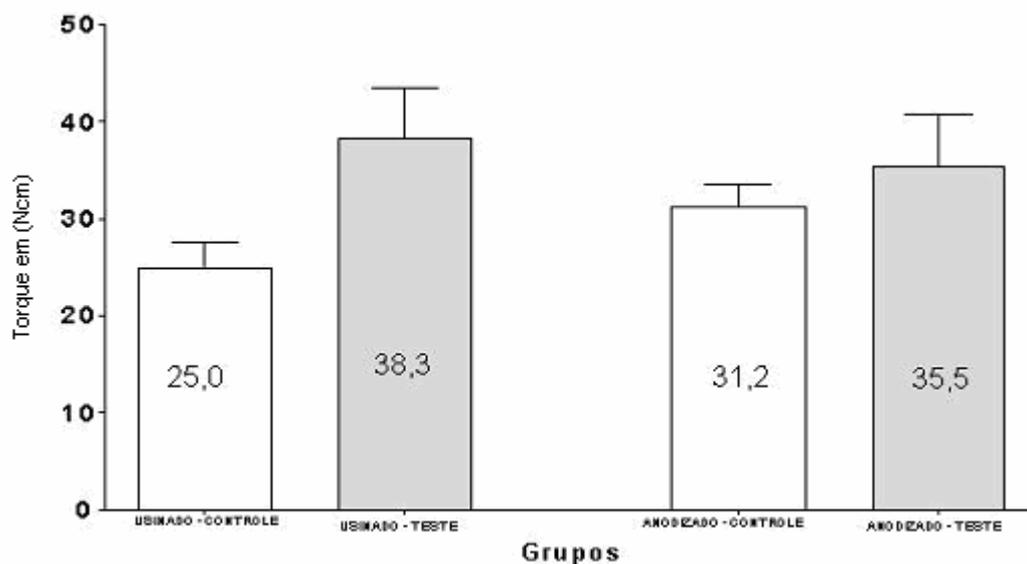


GRÁFICO 4 - Comparação entre os grupos (teste e controle), superfícies de implantes e o TRT

A análise estatística revelou que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os tipos de implante (ANOVA, $p=0,659$), mas houve entre os grupos (ANOVA, $p=0,027$), sendo que as médias do grupo controle foram menores que aquelas do grupo tratado com nicotina (Bonferroni, $p<0,01$). Entretanto, os grupos tratados não exibiram diferenças estatisticamente significantes entre si

(Bonferroni, $p>0,05$) e os grupos controle também não exibiram diferenças entre si (Bonferroni, $p>0,05$).

5.5 Resultados da densitometria óptica óssea entre os grupos e superfícies de implantes

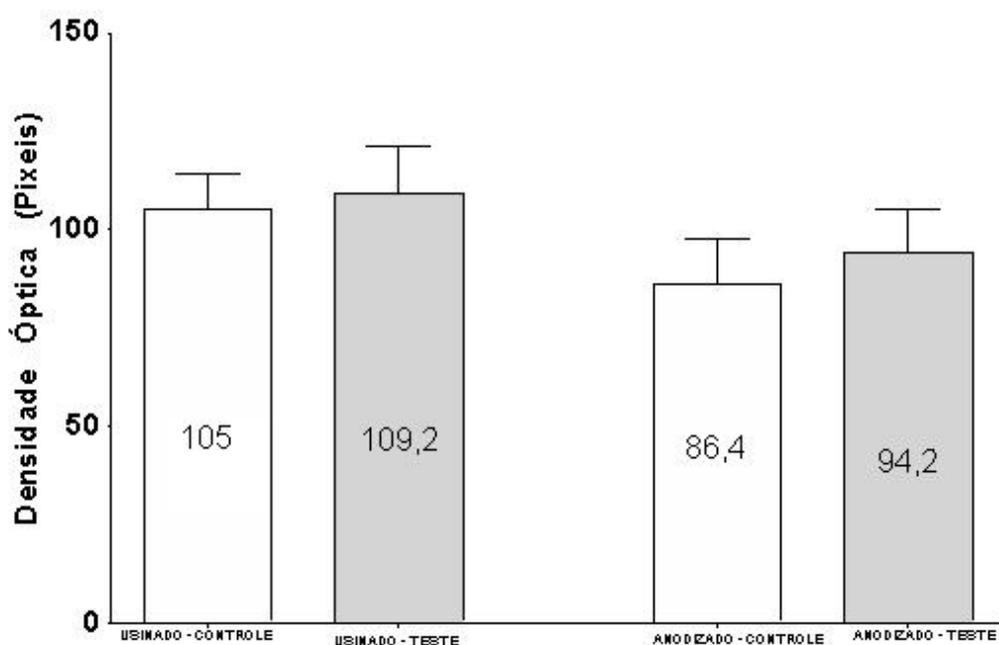


GRÁFICO 5 - Comparação entre os grupos controle e teste, superfícies de implantes e densidade óssea

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias de densidade óptica considerando os tipos de implante (ANOVA, $p=0,135$) e nem considerando os grupos (ANOVA, $p=0,590$), ou seja, a nicotina não afetou a densidade óssea e os implantes não promoveram maior densidade um em relação ao outro.

O GRÁF. 6 demonstra a correlação entre o TRT, densidade óssea, grupos e superfícies de implantes.

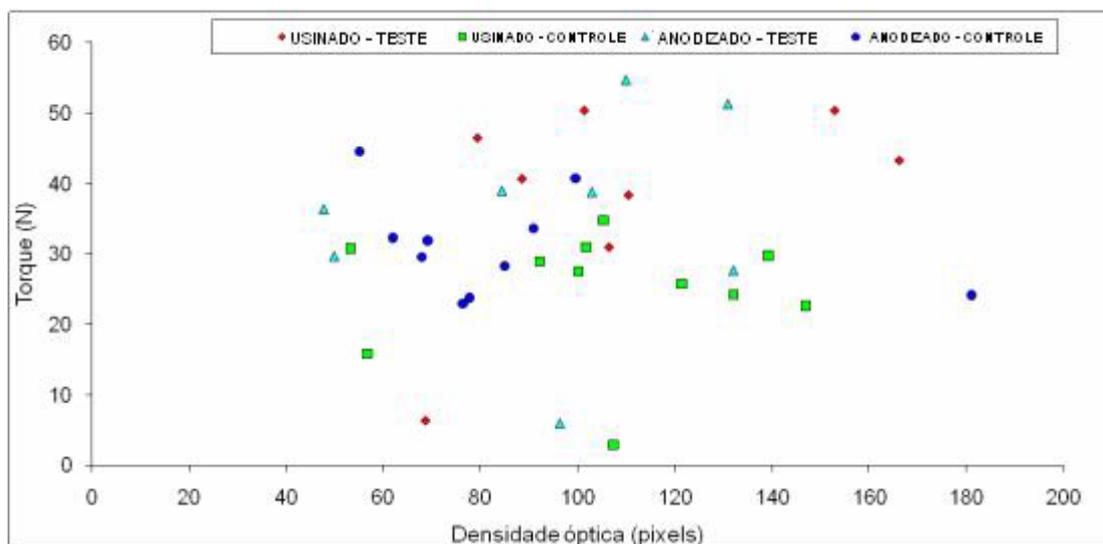


GRÁFICO 6 - Correlação entre o TRT, densidade óssea (pixels), grupos e superfícies de implantes

O teste de correlação de Pearson mostrou que não houve correlação ($p > 0,05$; $r < 0,5$) entre a densidade óptica medida em pixels e o torque necessário para remoção do implante.

6. DISCUSSÃO

Na Odontologia plástica e reconstrutiva, o efeito negativo da nicotina sobre o reparo ósseo e a longevidade dos implantes dentais, tem sido relatado frequentemente por WALLACE (2000); VEHEMENTE *et al.* (2002); McDERMOTT *et al.* (2003); KOURTIS *et al.* (2004); MOY *et al.* (2005), e, somados a esses efeitos reportados na literatura, isquemia dos tecidos e redução do crescimento interno vascular (JONES & TRIPLETT, 1992), porém, resultados conflitantes de estudos experimentais têm sido relatados por SYVERSEN *et al.* (1999); IWANIEC *et al.* (2000); IWANIEC *et al.* (2001); BALATSOUKA *et al.* (2005), não detectando o impacto negativo da nicotina nos resultados.

O principal metabólito da nicotina é a molécula de cotinina utilizada como um biomarcador de exposição do fumo. Neste estudo, a exemplo de vários outros modelos experimentais (IWANIEC *et al.*, 2000; BALATSOUKA *et al.*, 2005) utilizou-se o tartarato de nicotina injetável imediatamente após a colocação dos implantes a fim de manter os níveis plasmáticos constantes para, ao término de oito semanas, determinar o nível de cotinina sérica do grupo teste e verificar a interferência ou não desse fator na osseointegração.

PALMER *et al.* (1999) reportaram que fumantes pesados exibiram níveis de cotinina sérica maiores que 100 ng/ml, enquanto que fumantes leves tinham entre 10 e 60 ng/ml e não fumantes menos que 10 ng/ml. Utilizando tartarato de nicotina 3mg/kg/dia, três x dia, encontrou-se níveis de cotinina total entre 2,0 e 24,5 ng/ml, o que, segundo PALMER *et al.* (1999), seria comparável a um paciente que não fuma ou a um fumante leve. Ainda, níveis plasmáticos baixos de nicotina ($0,5 \pm 0,28$

ng/mL) e cotinina ($9,5 \pm 6,51$ ng/mL) encontrados no grupo teste, poderiam ser hipoteticamente considerados como sendo estimulantes (YUHARA *et al.*, 1999), ou ter efeito significativo na proliferação e adesão dos fibroblastos, a exemplo do observado por PEACOCK *et al.*, em 1993, especialmente em concentrações baixas de nicotina ($0,025\mu\text{M}$), conferindo índices similares àqueles vistos em fumantes leves, demonstrados nos resultados das médias superiores do TRT do grupo teste em relação ao controle, esse sem estímulo algum.

Torna-se lógica a correlação de que se BALATSOUKA *et al.* (2005), encontrando níveis de cotinina plasmática de 66 a 330 ng/ml (grupo teste), semelhantes a fumantes pesados, e $< 1\text{ng/ml}$ (grupo controle), sinalizaram resultados de pequena, mas não significativa diferença no efeito deletério da nicotina entre o grupo teste e placebo, quando aplicado TRT aos implantes, no presente trabalho com índices bem menores de cotinina plasmática, correspondendo a fumantes leves ou não fumantes, a nicotina não tenha afetado a osseointegração. Segundo estes autores, o nível de cotinina no sangue entre 117 e 245 ng/ml é comparável a um paciente que fuma de dez a vinte cigarros ao dia.

O objetivo deste estudo foi investigar também se as características superficiais dos implantes poderiam influenciar no reparo ósseo de implantes submetidos à administração diária de nicotina, o que levou a confrontar duas superfícies distintas, usinada e anodizada.

Foram testados implantes fabricados com titânio (Norma ASTM F-67) grau 4, submetidos ao tratamento eletroquímico de anodização para se obter a superfície Vulcano[®] com poros abertos de diâmetro entre 1 e 10 micrômetros, rugosidade $R_a(\mu\text{m})$ maior que do implante usinado e ângulo de contato da superfície com sangue humano ao redor de 55,6 graus, considerada excelente e superior aos

de superfície tratada com ácido uma vez que ensaios em coelhos mostraram o torque de remoção de implantes Vulcano® maior que o torque de remoção dos implantes usinados, jateados ou com superfície tratada com ácido (ELIAS *et al.*, 2005).

A pesquisa da superfície ideal do biomaterial é a motivação maior para se trabalhar com diferentes tecnologias, as quais apresentam aspectos em comum: aumento da rugosidade da superfície usinada do titânio resultando em maior superfície de contato com o tecido ósseo (MARTIN *et al.*, 1995; WENNERBERG *et al.*, 1998), e aumento da camada de óxido de titânio, tendo aposição óssea maior sobre a superfície do implante anodizado quando comparado às superfícies usinadas (VAN STEENBERGHE *et al.*, 2007).

Foi observado concordância nos achados da fosfatase alcalina do experimento com estudos de PEACOCK *et al.* (1993) e YUHARA *et al.* (1999), uma vez que a nicotina não inibiu a produção da enzima, pelo contrário, sinalizou, valores de TRT ligeiramente maiores observados no grupo teste para ambos os tipos de implantes, não diferindo, entretanto estatisticamente entre os grupos ($p=0,402$) e nem entre as superfícies de implantes ($p=0,999$), assemelhando-se ao experimento de SUL *et al.* (2002), em que a detecção histoquímica da atividade enzimática da fosfatase alcalina demonstrou achados similares ao redor de ambos os implantes, teste e controle. A atividade dessa enzima é conhecida como um marcador dos osteoblastos durante as fases de proliferação e diferenciação em linhagem osteoblástica, maturação das células osteoprogenitoras e preosteoblastos e tem sido reportado (TEN CATE, 2004) que alterações na função enzimática podem provocar alterações na mineralização óssea.

ELIAS *et al.*, em 2005, descreveram que células cultivadas em superfícies ásperas aumentam a produção de fosfatase alcalina e osteocálcio e que estes parâmetros são indicadores da diferenciação e aumento osteoblástico, porém, no trabalho atual, os resultados foram similares para ambas as superfícies: usinadas e anodizadas.

Os resultados do TRT, em que o implante anodizado no grupo controle, comportou-se melhor que o usinado ($31,2 \pm 6,76\text{Ncm}$ x $25,0 \pm 8,46\text{Ncm}$, respectivamente), embora estatisticamente não tenham exibido diferenças entre si correlacionam-se com os estudos de IVANOFF *et al.* (2003), de ABRAHAMSSON *et al.* (2004) e de PALMA *et al.* (2006) os quais demonstraram uma maior extensão e uma formação óssea mais rápida sobre as superfícies de implantes anodizados em relação às superfícies usinadas.

O importante aqui é salientar que, independente da nicotina, a superfície anodizada, considerando o fator tempo (oito semanas), alcançou (no grupo controle) um valor de média maior no teste de remoção ao torque. Tal ocorrência poderia ser creditada ao fato de que os implantes com este óxido heterogêneo espesso pareceram ter uma resposta levemente aumentada no osso, particularmente nas primeiras semanas após a implantação (LARSSON *et al.*, 1997; ALBREKTSSON *et al.*, 2001; SUL, 2003; ELIAS *et al.*, 2005; SHIBLI *et al.*, 2007b).

Entretanto, essa diferença poderia não ser observada após períodos mais extensos de reparo, pois, de acordo com as observações de ELLINGSEN & VIDEM (1995), parece não haver qualquer correlação significativa entre a espessura de óxido nos implantes de titânio e a resposta óssea após oito semanas de reparo em experimentos semelhantes aos resultados atuais encontrados entre: anodizados ($35,5 \pm 14,17\text{Ncm}$) e usinados ($38,3 \pm 13,52\text{Ncm}$) do grupo teste. Para

BALATSOUKA *et al.* (2005), com níveis séricos semelhantes a fumantes pesados, houve um aumento significativo dos valores do TRT entre as duas e quatro semanas, respectivamente, mas nenhuma diferença estatística significativa entre grupo controle e teste.

Os parâmetros, tempo e superfícies anodizadas ou texturizadas relacionados ao aumento de valores do TRT, se constata igualmente nos trabalhos de CORDIOLI *et al.* (2000) após cinco semanas (40,85Ncm para implantes com tratamento ácido duplo e 25,28Ncm para implantes de superfícies usinadas); SUL (2003) que, com seis semanas, implantes anodizados (grupo teste) variaram de 19,4; 16,8; e 15,1 para 12,7Ncm (grupo controle); ELIAS *et al.* (2005) que, após doze semanas obtiveram 93,15Ncm para anodizados; 82,15Ncm para os jateados e 85,4Ncm para os tratados com ácido e DUYGULU *et al.* (2006) que igualmente após oito semanas obtiveram ($139,47 \pm 44,55$ N) para o grupo teste em contrapartida aos do grupo controle ($265,9 \pm 39,01$ N).

No presente experimento convém referendar que, considerando o grupo teste, embora a superfície usinada tenha alcançado um valor sensivelmente maior em relação ao TRT, não foi estatisticamente significativo. Mesmo que tenha havido o efeito estimulante da nicotina no grupo teste, PEACKOK *et al.* (1993), YUHARA *et al.* (1999) não houve diferença significativa das superfícies entre si ($38,3 \pm 13,52$ Ncm usinados e $35,5 \pm 14,17$ Ncm anodizados) neste grupo e, igualmente, também não se verificou no grupo controle ($25,0 \pm 8,46$ Ncm usinados e $31,2 \pm 6,76$ Ncm anodizados), em concordância com os achados de MALÓ *et al.* (2000); SENNERBY & MIYAMOTO (2000); STEFANI *et al.* (2002); BAIN *et al.* (2002); VASCONCELOS *et al.* (2004), ao contrário do estudo de ROCCI *et al.* (2003) que observou falhas

significativamente maiores com implantes usinados em pacientes tabagistas e sítios ósseos de baixa qualidade comparado à implantes anodizados.

A força do torque reverso tem sido usada freqüentemente em estudos animais (SENNERBY *et al.*, 1992) para avaliar a osseointegração uma vez que os valores do TRT estão diretamente relacionados ao contato osso/implante, densidade óssea e ao tempo. De acordo com ROBERTS *et al.* (1984), nos coelhos, quando da formação óssea para a mesma ser substituída por osso lamelar, leva-se seis semanas, sendo que o tempo de recomposição cortical do coelho é cerca de três vezes mais rápido do que o homem.

Além destes, vários outros fatores segundo SENNERBY *et al.* (1992), devem ser considerados na análise dos resultados clínicos da osseointegração, tais como: altura, diâmetro do implante e tratamento de superfície. Os autores observaram que aos doze meses, o torque necessário para remoção de implantes de tíbias de coelhos foi de $35,6 \pm 8,3$ Ncm. para implantes usinados de 3,75 x 4,0 mm. No presente experimento, após dois meses, o torque de remoção no grupo teste submetido a injeções de nicotina foi de $38,3 \pm 13,52$ Ncm para implantes usinados e de $35,5 \pm 14,17$ Ncm para implantes anodizados, valores esses, maiores, que os encontrados por SENNERBY *et al.* (1992), que, em seis semanas, ficaram ao redor de 30 Ncm.

Em relação ao grupo controle, os implantes anodizados tiveram valores de torque aproximados aos dos autores (ao redor de $31,2 \pm 6,76$ Ncm) citados acima e os implantes usinados um valor levemente inferior ($25,0 \pm 8,46$ Ncm), perfazendo entre os dois grupos uma média similar àqueles e aos resultados de CORDIOLI (2000) em que, cinco semanas após a colocação dos implantes, a média de remoção ao torque foi de $25,28 \pm 3,35$ Ncm para implantes usinados e $40,85 \pm$

4,14Ncm para implantes texturizados. Tais constatações sugerem alguma interferência no grupo teste em que talvez a ação da nicotina por si só (após a administração de baixas concentrações) possa ter determinado algum efeito estimulante, como já citado, deposição de íons cálcio e produção de fosfatase alcalina em células osteogênicas com decréscimo da atividade dos osteoclastos (PEACOCK *et al.*, 1993; YUHARA *et al.*, 1999).

Considerando fumantes e altura dos implantes, são relevantes os trabalhos de WALLACE (2000) e BAIN (1996) associando falhas a implantes curtos (7, 10mm), fato este não observado no atual experimento, em que implantes de 6 mm no grupo teste apresentaram valores de torque maiores que o controle. A diferença é que no experimento somente a nicotina foi injetada, e nos trabalhos referendados, o cigarro foi testado com todos os seus componentes.

Embora o cigarro seja inalado cronicamente por humanos e o tecido ósseo exposto aos seus componentes por anos, tendo provavelmente o fumante pesado, no plasma, altas doses de cotinina por ocasião da colocação do implante, autores, como NOCITI *et al.* (2002) e STEFANI *et al.* (2002), demonstraram que estudos em coelhos testando nicotina injetável diariamente são pertinentes, sendo que CÉSAR NETO *et al.* (2003) ao compararem fumaça de cigarro e nicotina somente, constataram que nicotina sozinha não apresentou efeitos deletérios quanto aos da fumaça do cigarro, especialmente em osso medular, concluindo que os efeitos adversos do consumo do cigarro no sucesso dos implantes podem ser relatados somente se o cigarro for considerado com todos os seus componentes, e que, após o consumo do cigarro de tabaco a concentração de nicotina na cavidade bucal pode atingir níveis ainda mais altos do que aqueles encontrados no plasma (PEACOCK *et al.*, 1993).

TANAKA *et al.* (1998) encontraram que a reserva do fluxo coronário diminuiu após o fumo de cigarros com alto teor de nicotina, mas não nos cigarros com baixo teor de nicotina ou no grupo controle dos não fumantes. Concluíram que esta redução pode ser mediada pela nicotina ou por algumas substâncias desconhecidas influenciadas pelo fumo. Isto pode ser uma decorrência que tenha se verificado no trabalho: baixas concentrações de nicotina (cotinina) observadas no grupo teste não teriam ocasionado esta redução no fluxo sanguíneo e seus possíveis efeitos negativos sobre os implantes. Convém comentar aqui que PALMER *et al.* (1999) não encontraram evidências que comprovassem a teoria da vasoconstrição localizada dos tecidos gengivais por ação do consumo de cigarros.

Em relação ao tratamento de superfície, os implantes anodizados tiveram uma média de torque ligeiramente maior ($31,2 \pm 6,76\text{Ncm}$ e $35,5 \pm 14,17\text{Ncm}$) que os usinados ($25,0 \pm 8,46\text{Ncm}$ e $38,3 \pm 13,52\text{Ncm}$), confirmando os trabalhos de SUL *et al.* (2002); IVANOFF *et al.* (2003); ROCCI *et al.* (2003), que sinalizaram resultados superiores para implantes anodizados. Essas diferenças podem ser explicadas através da interação entre fatores de crescimento/hormônios e a topografia da superfície mais rugosa que favoreceriam a diferenciação celular e mineralização. Esse efeito benéfico das superfícies rugosas na osseointegração tem sido confirmado por estudos experimentais e clínicos (TAKEBE *et al.*, 2000; IVANOFF *et al.*, 2003; ABRAHAMSSON *et al.*, 2004).

É consenso que, em muitos casos de reabilitação oral com implantes, a situação não é ideal, particularmente na região maxilar de pacientes tabagistas, com qualidade óssea reduzida (pacientes com risco conhecido para osteoporose), podendo afetar de maneira adversa o sucesso desses implantes devido aos seus efeitos sobre o metabolismo ósseo, sabendo-se que danos do tabagismo

relacionam-se diretamente com o tempo a que o indivíduo se expôs, bem como à quantidade de cigarros consumidos diariamente ou dose-dependente.

Contudo, BAIN *et al.* (2002) pesquisando falhas de implantes e superfícies não encontraram diferença estatisticamente significativa em 2.614 implantes usinados e 2.274 implantes rugosos, seguidos por três anos em pacientes fumantes e não fumantes o que também foi corroborado por ECKERT *et al.* (2001), VASCONCELOS *et al.* (2004).

Os valores densitométricos no experimento, encontrados entre o grupo controle e o grupo teste ($105 \pm 28,78$ usinados e $86,4 \pm 33,96$ anodizados x $109,2 \pm 32,01$ usinados e $94,2 \pm 30,25$ anodizados, respectivamente) com leve superioridade do grupo teste corroboram com estudos que não encontraram igualmente correlação entre administração da nicotina (um dos muitos componentes do cigarro) e baixa densidade óssea (SYVERSEN *et al.*, 1999; STEFANI *et al.*, 2002; CÉSAR NETO *et al.*, 2003). No entanto, CÉSAR NETO *et al.* (2005), encontraram redução significativa na densidade óssea, com a inalação e exposição contínua à fumaça do cigarro.

Quando se considera outros estudos conduzidos em animais como os de IWANIEC *et al.* (2000) e IWANIEC *et al.* (2001) estudos esses consistentes com SYVERSEN *et al.* (1999), constata-se que os mesmos, não detectaram impacto em densidade óssea mineral de ratas após dois anos de exposição à nicotina. Por outro lado, segundo KUMAR *et al.* (2002) a literatura médica assinala que o fumo está relacionado à menor densidade óssea e que a qualidade óssea pobre, observada em fumantes, pode levar à instabilidade óssea primária inadequada, resultando em mobilidade excessiva e falhas nos implantes. No entanto, em seu estudo retrospectivo não foi observada diferença estatisticamente significativa da qualidade óssea entre fumantes e não fumantes. AKHTER *et al.* (2003) hipotetizaram outros

agentes do tabaco que a nicotina como sendo responsáveis pela diminuição da densidade óssea e aumento do risco de fratura observado em fumantes.

Fica evidente que a reabsorção óssea marginal ao redor dos implantes é associada, entre outros fatores, ao tabagismo, e a avaliação da higiene oral mostra ser este fator tão importante quanto o fator carga oclusal (LINDQUIST *et al.*, 1997; KOURTIS *et al.*, 2004) pois é possível que o sinergismo entre o vício de fumar vinte cigarros ao dia ou mais e a presença de polimorfismo do gene IL-1 sejam responsáveis pelo risco de perda do osso perimplantar logo após a reconstrução protética; embora (WILSON & NUNN, 1999) não tenham encontrado evidência estatística de que pacientes positivos para o genótipo IL-1 possam aumentar o risco para a falha de implantes, não havendo também nenhuma aparente relação entre a idade dos pacientes e o tempo desde a colocação e a perda dos implantes.

Os trabalhos futuros na área da Implantodontia terão papel fundamental na melhora da superfície dos implantes com a finalidade de potencializar a osseointegração, uma vez que implantes porosos texturizados poderão ser impregnados com fatores de crescimento e agirem como substrato para liberação dos mesmos estimulando assim respostas moleculares específicas em situações de baixa qualidade óssea.

Do exposto acima concorda-se que informações científicas básicas sobre o mecanismo de reparo ósseo, em resposta à fixação de implantes, são bem conhecidas. O que se torna necessário são estudos definitivos que avaliem a resposta dinâmica do osso, a longo prazo, e aos vários materiais e *designs* de implante nos quais as propriedades biomecânicas e biomateriais possam ser comparadas com a resposta biológica resultante das diferenças básicas no *design* e

na composição do implante associados aos fatores de risco como o tabagismo, entre outros.

7. CONCLUSÃO

Dentro das condições da presente pesquisa concluímos que:

- a) a nicotina na dose avaliada não causou efeitos deletérios à osseointegração dos implantes;
- b) a atividade da fosfatase alcalina com médias similares em ambas as superfícies dos implantes e em ambos os grupos confirmou a atividade osteoblástica em contato com diferentes materiais;
- c) a concentração de cotinina, cerca de vinte vezes maior que a de nicotina permitiu a análise e correlação dos níveis séricos
- d) o teste de contra-torque apresentou significância estatística entre os grupos sinalizando a relação entre as forças de torque obtidas e os fenômenos de reparo ósseo mas não revelou diferenças entre as superfícies dos implantes;
- e) a densitometria óptica, não demonstrou correlação entre administração de nicotina diária e promoção de maior densidade óssea entre as superfícies de implantes, e, tampouco afetou a densidade óssea dos grupos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate two factors that may interfere in the osseointegration process: the use of nicotine and the surface of dental implants. Methods: Twenty-two rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were randomly distributed in two groups. The right and the left tibias received machined (MACH) and anodized (ANOD) dental implants, respectively. Eleven animals received subcutaneous injection of nicotine 3mg/dia/kg (NICO), three times a day. The control group (CONT) received subcutaneous solution of 0.9% NaCl 3mL/day/kg, three times a day. After eight weeks, the animals were killed and blood samples were obtained in order to dose nicotine and cotinine. In addition, alkaline phosphatase, biomechanical and densitometry analysis were carried out in the tibia samples. The plasmatic levels of nicotine and cotinine were 0.5 ± 0.28 ng/mL and 9.5 ± 6.51 ng/mL, respectively. None statistically significant differences ($p=0.402$) were observed between alkaline phosphatase levels of NICO (ANOD and MACH = 37.9 ± 4.84 UI/L) and CONT (MACH = 40.8 ± 11.88 UI/L; ANOD = 40.75 ± 12.46 UI/L). ANOD and MACH also did not show statistically significant differences ($p=0.999$). The counter-torque did not show statistically significant differences between MACH (CONT = 25.0 ± 8.46 ; NICO = 38.3 ± 13.52) and ANOD (CONT = 31.2 ± 6.76 ; NICO = 35.5 ± 14.17), however, NICO showed higher counter-torque ($p=0.027$) than CONT. The optical density showed no statistically significant differences ($p=0.590$) between NICO (MACH = 109.2 ± 32.01 pixel; ANOD = 94.2 ± 30.25 pixel) and CONT (MACH = 105.0 ± 28.78 pixel; ANOD = 86.4 ± 33.96 pixel) and between MACH and ANOD ($p=0.135$). Conclusion: that low doses of nicotine did not cause deleterious effects in the osseointegration of dental implants. The surface of the dental implants did not influence the parameters studied.

Key-words: Smooth implants (machined) and anodized. Osseointegration. Nicotine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS⁸

1. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E et al. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. **Clin Oral Implants Res** 2004 Aug; 15(4): 381-92.
2. Akhter MP, Iwaniec UT, Haynatzki GR et al. Effects of nicotine on bone mass and strength in aged female rats. **J Orthop Res** 2003 Jan; 21(1): 14-9.
3. Albrektsson T, Johansson C, Lundgren AK et al. Experimental studies on oxidized implants. A histomorphometric and biomechanical analysis. **Appl Osseointegration Res** 2001; 1(1): 21-4.
4. Bain C. Smoking and implant failure-benefits of a smoking cessation protocol. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1996; 11: 756-9.
5. Bain CA, Moy PK. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1993; 8(6): 609-15.
6. Bain CA, Moy PK. The influence of smoking on bone quality and implant failure. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1994; 9: 123.
7. Bain CA, Weng D, Meltzer A. A meta-analysis evaluating the risk for implant failure in patients who smoke. **Compend Contin Educ Dent** 2002; 23(8): 695-9, 702-4.
8. Bain CA. Implant installation in the smoking patient. **Periodontol 2000** 2003; 33: 185-93.
9. Balatsouka D, Gotfredsen K, Lindh CH et al. The impact of nicotine on bone healing and osseointegration: An experimental study in rabbits. **Clin Oral Implants Res** 2005; 16: 268-76
10. Cattaneo V, Cetta G, Rota C et al. Volatile components of cigarette smoke: Effect of acrolein and acetaldehyde on human gingival fibroblast, in vitro. **J Periodontol** 2000; 71: 425-32.

⁸ De acordo com o Manual de Normalização para Dissertações e Teses da Faculdade de Odontologia e Centro de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic baseado no modelo Vancouver de 1997, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus

11. César-Neto JB, Benatti BB, Manzi FR et al. The influence of cigarette smoke inhalation on bone density. A radiographic study in rats. **Braz Oral Res** 2005 Jan-Mar; 19(1): 47-51.
12. César-Neto JB, Benatti BB, Sallum EA et al. Bone filling around titanium implants may benefit from smoking cessation: a histologic study in rats. **J Periodontol** 2005; 76(9): 1476-81.
13. César-Neto JB, Duarte PM, Sallum EA et al. A comparative study on the effect of nicotine administration and cigarette smoke inhalation on bone healing around titanium implants. **J Periodontol** 2003 Oct; 74(10): 1454-9.
14. Cochran DL. A comparison of endosseous dental implant surface. **J Periodontol** 1999 Dec; 70(12): 1523-39.
15. Cordioli G, Majzoub Z, Piattelli A et al. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2000 Sept-Oct; 15(5): 668-74.
16. De Bruyn H, Collaert B. The effect of smoking on early implant failure. **Clin Oral Implants Res** 1994 Dec; 5(4): 260-4.
17. Duarte PM, Gonçalves PF, Casati MZ et al. Age-related and surgically induced estrogen deficiencies may differently affect bone around titanium implants in rats. **J Periodontol** 2005; 76(9): 1496-501.
18. Duygulu F, Karaoglu S, Zeybek ND et al. The effect of subcutaneously injected nicotine on achilles tendon healing in rabbits. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc** 2006; 14: 756-61.
19. Eckert SE, Meraw SJ, Weaver AL et al. Early experience with Wide-Platform Mk II implants. Part I: Implant survival. Part II: Evaluation of risk factors involving implant survival. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2001 Mar-Apr; 16(2): 208-16.
20. Ekfeldt A, Christiansson U, Eriksson T et al. A retrospective analysis of factors associated with multiple implant failures in maxillae. **Clin Oral Implants Res** 2001 Oct; 12(5): 462-7.
21. Elias CN, Lima JHC, Silva-Filho FC et al. Interações de células com diferentes superfícies de implantes dentários. **Rev Bras Odontol** 2005; 62(1-2): 119-24.

22. Elias CN, Marques C. Superfícies de implantes tratados com flúor. **Rev Bras Implant** 2007; 13: 6-10.
23. Ellingsen JE, Videm K. Effect of oxide thickness on the reaction between titanium implants and bone. In: Vincenzini P. **Advances in science and technology: materials in clinical application**. Faenza: Techna; 1995. p. 543-50.
24. Feres-Filho EJ, Lima RS. **Osseointegração, filosofia e técnica de implantes de um estágio cirúrgico**. São Paulo: Quintessence; 2007. v. 2: p. 49-60.
25. García AJ, Reyes CD. Bio-adhesive surfaces to promote osteoblast differentiation and bone formation. **J Dent Res** 2005 May; 84(5): 407-13.
26. Glauser R, Gottlow J, Lundgren AK et al. Immediate occlusal loading of Branemark MkIV TiUnite™ implants placed in bone quality 4. **Appl Osseointegration Res** 2003; 3: 22-4.
27. Glauser R, Portmann M, Ruhstaller P et al. Stability measurements of immediately loaded machined and oxidized implants in the posterior maxilla. A comparative clinical study using resonance frequency analysis. **Appl Oss Res** 2001; 2(1): 27-9.
28. González YM, De Nardin A, Grossi SG et al. Serum Cotinine Levels, Smoking, and Periodontal Attachment Loss. **J Dent Res** 1996; 75(2): 796-802.
29. Haas R, Haimbock W, Mailath G et al. The relationship of smoking on peri-implant tissue: a retrospective study. **J Prosthet Dent** 1996; 76(6): 592-6.
30. Hall J, Lausmaa J. Properties of a new porous oxide surface on titanium implants. **Appl Oss Res** 2000; 1(1): 5-8.
31. Hanes PJ, Schuster GS, Lubas S. Binding, uptake, and release of nicotine by human gingival fibroblasts. **J Periodontol** 1991 Feb; 62(2): 147-52.
32. Ivanoff CJ, Widmark G, Johansson C et al. Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2003; 18(3): 341-8.
33. Iwaniec UT, Fung YK, Akhter MP et al. Effects of nicotine on bone mass, turnover, and strength in adult female rats. **Calcif Tissue Int** 2001 June; 68(6): 358-64.

34. Iwaniec UT, Fung YK, Cullen DM et al. Effects of nicotine on bone and calciotropic hormones in growing female rats. **Calcif Tissue Int** 2000 July; 67(1): 68-74.
35. Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss Branemark implantes in type 4 bone. **J Periodontol** 1991; 62: 2-4.
36. James JA, Sayers NM, Drucker DB et al. Effects of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblasts. **J Periodontol** 1999 May; 70 (5): 518-25.
37. Jones JK, Cagna D, Gardner W et al. A comparison of implant complications between tobacco users and non users. **J Dent Res** 1995; 74: 242.
38. Jones JK, Triplett RG. The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: a review of evidence and implications for patient care. **J Oral Maxillofac Surg** 1992; 50(3): 237-9.
39. Kan JYK, Rungcharassaeng K, Lozada J et al. Effects os smoking on implant succes in grafted maxillary sinuses. **J Prosthet Dent** 1999; 82(3): 307-11.
40. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD et al. The role of implant surface characteristics in the healing of bone. **Crit Rev Oral Biol Med** 1996; 7(4): 329-45.
41. Kourtis SG, Sotiriadou S, Voliotis S et al. Private practice results of dental implants. Part I: survival and evaluation of risk factors--Part II: surgical and prosthetic complications. **Implant Dent** 2004 Dec; 13(4): 373-85.
42. Kumar A, Jaffin RA, Berman C. The effect of smoking on achieving osseointegration of surface-modified implants: a clinical report. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2002; 17: 816-9.
43. Larsson C, Emanuelsson L, Thomsen P et al. Bone response to surface modified titanium implants - studies on the tissue response after 1 year to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. **J Mater Sci Mater Med** 1997 Dec; 8(12): 721-9.
44. Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. In. Bränemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. **Tissue integrated prostheses**. Osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence; 1985. p. 199-209.

45. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. Association between marginal bone loss around osseointegrated mandibular implants and smoking habits: a 10-year follow-up study. **J Dent Res** 1997 Oct; 76(10): 1667-74.
46. Maló P, Rangert B, Dvårsäter L. Immediate function of Brånemark implants in the esthetic zone: a retrospective clinical study with 6 months to 4 years of follow-up. **Clin Implant Dent Relat Res** 2000; 2(3): 138-46.
47. Martin JY, Schawartz Z, Hummert TW et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation and protein synthesis of human osteoblast-like cells (mg63). **J Biomed Mater Res** 1995; 29(3): 389-401.
48. McDermott NE, Chuang SK, Woo VV et al. Complications of dental implants: identification, frequency, and associated risk factors. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2003 Nov-Dec; 18(6): 848-55.
49. McGrath J, McDonald JW, Macdonald JK. Transdermal nicotine for induction of remission in ulcerative colitis. **Cochrane Database Syst Rev** 2004 Oct 18; (4):CD004722.
50. Minsk L, Polson AM, Weisgold A. Outcome Failures of Endosseous Implants from a Clinical Training Center. **Compendium** 1996; 17(9): 848-59.
51. Moy PK, Medina D, Shetty V et al. Dental implant failure rates and associated risk factors. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2005 July-Aug; 20(4): 569-77.
52. Mundt T, Mack F, Schwahn C et al. Private practice results of screw-type tapered implants: survival and evaluation of risk factors. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2006 July-Aug; 21(4): 607-14.
53. Nociti Jr FH, Cesar Neto JB, Carvalho MD et al. Bone density around titanium implants may be influenced by intermittent cigarette smoke inhalation: a histometric study in rats. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2002; 17(3): 347-52.
54. Nowak D, Ruta U, Piasecka G. Nicotine increases human polymorphonuclear leukocytes chemotactic response- a possible additional mechanism of lung injury in cigarette smokers. **Exp Pathol** 1990; 39(1): 37-43
55. Nowak D, Ruta U. Nicotine inhibits alpha-1-proteinase inhibitor inactivation by oxidants derived from human polymorphonuclear leukocytes. **Exp Pathol** 1990; 38(4): 249-55.

56. Orsini G, Assenza B, Scarano A et al. Surface analysis of machined versus sandblasted and acid-etched titanium implants. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2000 Nov-Dec; 15(6): 779-84.
57. Palma VC, Magro-Filho O, Oliveria JA et al. Bone reformation and implant integration following maxillary sinus membrane elevation: an experimental study in primates. **Clin Implant Dent Relat Res** 2006; 8(1): 11-24.
58. Palmer RM, Scott DA, Meekin TN et al. Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smokers. **J Periodontal Res** 1999 Oct; 34(7): 363-9.
59. Paquette DW, Brodala N, Williams RC. Risk factors for endosseous dental implant failure. **Dent Clin North Am** 2006 July; 50(3): 361-74.
60. Park JW, Lee SG, Choi BJ et al. Effects of a cell adhesion molecule coating on the blasted surface of titanium implants on bone healing in the rabbit femur. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2007 July-Aug; 22(4): 533-41.
61. Payne JB, Johnson GK, Reinhardt RA et al. Nicotine effects on PGE2 and IL-1 β release by LPS-treated human monocytes. **J Periodont Res** 1996; 31: 99-104.
62. Peacock ME, Sutherland DE, Schuster GS et al. The effect of nicotine on reproduction and attachment of human gingival fibroblasts in vitro. **J Periodontol** 1993 July; 64(7): 658-65.
63. Peñarrocha M, Palomar M, Sanchis JM et al. Radiologic study of marginal bone loss around 108 dental implants and its relationship to smoking, implant location, and morphology. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2004 Nov-Dec; 19(6): 861-7.
64. Puleo DA, Kissling RA, Sheu MS. A technique to immobilize bioactive proteins, including bone morphogenetic protein-4 (BMP-4), on titanium alloy. **Biomaterials** 2002 May; 23(9): 2079-87.
65. Ramp WK, Lenz LG, Galvin RJ. Nicotine inhibits collagen synthesis and alkaline phosphatase activity, but stimulates DNA synthesis in osteoblast-like cells. **Proc Soc Exp Biol Med** 1991 May; 197(1): 36-43.
66. Roberts WE, Smith RK, Zilberman Y et al. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. **Am J Orthod** 1984; 86(2): 95-111.

67. Rocci A, Martignoni M, Gottlow J. Immediate loading of Branemark System® TiUnite™ and machined-surface implants in the posterior mandible: a randomized open-ended clinical trial. **Clin Implant Dent Related Res** 2003; 5(1): 57-63.
68. Schwartz Z, Amir D, Boyan BD et al. Effect of glass ceramic and titanium implants on primary calcification during rat tibial bone healing. **Calcif Tissue Int** 1991 Nov; 49(5): 359-64.
69. Schwartz-Arad D, Samet N, Samet N et al. Smoking and complications of endosseous dental implants. **J Periodontol** 2002 Feb; 73(2): 153-7.
70. Sennerby L, Ericson EL. Early tissue response to titanium implants inserted in rabbit cortical bone. **J Mater Sci Mater Med** 1993; 4: 494-502.
71. Sennerby L, Miyamoto I. Insertion torque and RFA analysis of TiUnite and SLA implants. A study in the rabbit. **App Oss Res** 2000; 1(1): 31-33.
72. Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. A morphometric and biomechanical comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1992 Spring; 7(1): 62-71.
73. Shibli JA, Grassi S, Figueiredo LC et al. Human peri-implant bone response to turned and oxidized titanium implants inserted and retrieved after 2 months. **Implant Dent** 2007a Sept; 16(3): 252-9.
74. Shibli JA, Grassi S, Figueiredo LC et al. Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater** 2007b Feb; 80(2): 377-85.
75. Stefani CM, Nogueira F, Sallum EA et al. Influence of nicotine administration on different implant surfaces: a histometric study in rabbits. **J Periodontol** 2002 Feb; 73(2): 206-12.
76. Sul YT, Johansson C, Byon E et al. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants. **Biomaterials** 2005 Nov; 26(33): 6720-30.
77. Sul YT, Johansson CB, Röser K et al. Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodized implants. **Biomaterials** 2002 Apr; 23(8): 1809-17.

78. Sul YT. The significance of the surface properties of oxidized titanium to the bone response: special emphasis on potential biochemical bonding of oxidized titanium implant. **Biomaterials** 2003 Oct; 24(22): 3893-907.
79. Sykaras N, Iacopino AM, Marker VA et al. Implants materials, designs, Sand surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2000; 15: 675-90.
80. Syversen U, Nordsletten L, Falch JA et al. Effect of lifelong nicotine inhalation on bone mass and mechanical properties in female rat femurs. **Calcif Tissue Int** 1999 Sept; 65(3): 246-9.
81. Takebe J, Itoh S, Okada J et al. Anodic oxidation and hydrothermal treatment of titanium results in a surface that causes increased attachment and altered cytoskeletal morphology of rat bone marrow stromal cells in vitro. **J Biomed Mater Res** 2000 Sept 5; 51(3): 398-407.
82. Tanaka T, Oka Y, Tawara I et al. Acute effects of nicotine content in cigarettes on coronary flow velocity and coronary flow reserve in men. **Am J Cardiol** 1998 Nov 15; 82(10): 1275-8.
83. Ten Cate R. Formação e destruição dos tecidos duros. In: Ten Cate. **Histologia bucal**. Rio de Janeiro: Guanabarra Koogan; 2004, p. 68-100.
84. Tipton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. **J Periodontol** 1995 Dec; 66(12): 1056-64.
85. Tomek RJ, Rimar S, Eghbali-Webb M. Nicotine regulates collagen gene expression, collagenase activity, and DNA synthesis in cultured cardiac fibroblasts. **Mol Cell Biochem** 1994; 136: 97-103.
86. van Steenberghe D, Maréchal M, Quirynen M. Aspectos biológicos dos implantes orais In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR et al. **Carranza periodontia clínica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. v. 74. p. 1072-86.
87. Vartiainen E, Seppälä T, Lillsunde P et al. Validation of self reported smoking by serum cotinine measurement in a community-based study. **J Epidemiol Community Health** 2002 Mar; 56(3): 167-70.

88. Vasconcelos L, Petrilli G, Francischone CE. Avaliação clínica de implantes com diferentes superfícies. **Implant News** 2004; 1: 27-32.
89. Vehemente VA, Chuang SK, Daher S et al. Risk factors affecting dental implant survival. **J Oral Implantol** 2002; 28(2): 74-81.
90. Wallace RH. The relationship between cigarette smoking and dental implant failure. **Eur J Prosthodont Restor Dent** 2000 Sept; 8(3): 103-6.
91. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B. Design and surface characteristics of 13 commercially available oral implant systems. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1993; 8(6): 622-33.
92. Wennerberg A, Hallgren C, Johansson C et al. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. **Clin Oral Implants Res** 1998 Feb; 9(1): 11-9.
93. Widmark G, Andersson B, Carlsson GE et al. Rehabilitation of patients with severely resorbed maxillae by means of implants with or without bone grafts: a 3- to 5-year follow-up clinical report. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2001 Jan-Feb; 16(1): 73-9.
94. Wilson TG Jr, Nunn M. The relationship between the interleukin-1 periodontal genotype and implant loss. Initial data. **J Periodontol** 1999 July; 70(7): 724-9.
95. Woitge HW, Horn E, Keck AV et al. Biochemical markers of bone formation in patients with plasma cell dyscrasias and benign osteoporosis. **Clin Chem** 2001; 47: 689-693.
96. Xiropaidis AV, Qahash M, Lim WH et al. Bone-implant contact at calcium phosphate-coated and porous titanium oxide (Ti Unite)-modified oral implants. **Clin Oral Impl Res** 2005; 16: 532-9.
97. Yang B, Uchida M, Kim HM et al. Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. **Biomaterials** 2004 Mar; 25(6): 1003-10.
98. Yuhara S, Kasagi S, Inoue A et al. Effects of nicotine on cultured cells suggest that it can influence the formation and resorption of bone. **Eur J Pharmacol** 1999 Nov 3; 383(3): 387-93.

99. Zhou J, Olson BL, Windsor LJ. Nicotine increases the collagen-degrading ability of human gingival fibroblasts. **J Periodontal Res** 2007 June; 42(3): 228-35.

ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

DIVISÃO DE PESQUISA – VRPPG

Comitê de Ética em Pesquisa

CAMPUS I - Km 171 - BR 285, Bairro São José, Caixa Postal 611
CEP 99001-970 Passo Fundo/RS - Fone (54) 316-8370 / Fax (54) 316-
8372
cep@upf.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA

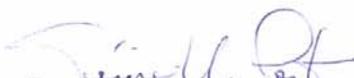
O Comitê de Ética em Pesquisa – UPF, em reunião no dia 26/01/05, analisou o projeto de pesquisa “**Avaliação da influência da nicotina na osseointegração de implantes lisos e oxidados (Vulcano®). Estudo experimental em tíbias de coelhos**”, registro no CEP 535/2006 da pesquisadora **Maria Salete Sandini Linden**.

O projeto tem como objetivo avaliar o efeito da nicotina sobre a osseointegração de implantes imediatos em tíbias de coelhos. Para isto a pesquisadora realizará um estudo experimental em 24 coelhos.

Em relação aos aspectos éticos, o Comitê houve por bem **APROVAR** o protocolo apresentado por estarem a pesquisadora e seus colaboradores comprometidos com a observância dos “*Princípios Éticos na Experimentação Animal*” preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O pesquisador deverá apresentar relatório ao CEP ao final do estudo.

Passo Fundo, 28 de março de 2005.


Prof. Sérgio Machado Porto
Coordenador Comitê de Ética em Pesquisa
VRPPG - UPF

ANEXO 2

MARIA SALETE SANDINI LINDEN

Centro de Pós-Graduação

Doutorado em Odontologia

Projeto de Pesquisa para Tese de Doutorado

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA NICOTINA NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE
AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA NICOTINA NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE
IMPLANTES LISOS E OXIDADOS (VULCANO[®])

Estudo experimental em tíbias de coelhos

Coordenadora Prof. Dr. Yvela Carakasi de Araújo

C.P.O. SÃO LEOPOLDO MANDIC

Centro de Pós-Graduação

Doutorado em Odontologia

CAMPINAS-2007

Registrado em 09/02/07

07/032
Secretaria de Pós-Graduação
SÃO LEOPOLDO MANDIC
CAMPUS JOSÉ ROCHA JUNQUEIRA

ANEXO 3

NORMAS PARA A PRÁTICA DIDÁTICO-CIENTÍFICA DA VIVISSECÇÃO DE ANIMAIS

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

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

Art. 3 - A vivissecção não será permitida:

I – sem emprego de anestesia;

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

III – sem supervisão de técnico especializado;

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

V – em estabelecimento de ensino de 1º e 2º graus e em quaisquer locais freqüentados por menores de idade.¹

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

Parágrafo 1 – Quando houver indicação, o animal poderá ser sacrificado sob estrita obediência às prescrições científicas;

Parágrafos 2 – Caso não sejam sacrificados, os animais utilizados em experiências ou demonstrações somente poderão sair do biotério 30(trinta) dias após a intervenção, desde que destinados a pessoas ou entidades idôneas que por eles queiram responsabilizar-se.

¹ Brasil. Lei 6638, de 08 de maio de 1979, que estabelece normas para a prática didático-científica da vivissecção de animais e determina outras providências.

Art.5 – Os infratores desta lei estarão sujeitos:

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

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

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

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

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

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

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

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

ANEXO 4



HOSPITAL VETERINÁRIO
LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS VETERINÁRIAS
LAUDO DE TESTES BIOQUÍMICOS



Exame n° 44339 2786106

Data: 26/11/20 Paciente: Beato 1 RGHV: 16439
 Espécie: cão Raça: _____ Idade: _____ Sexo: _____
 Proprietário: _____
 MV Requisitante: Julie *PESQUISA*

Exames solicitados

<input type="checkbox"/> Ácido úrico.....mg/dl	<input type="checkbox"/> Cálcio.....mg/dl	<input type="checkbox"/> Frutosemina.....mmol/L
<input type="checkbox"/> Albumina.....g/dl	<input type="checkbox"/> Colesterol HDL.....mg/dl	<input type="checkbox"/> GGT.....U/L
<input type="checkbox"/> ALT.....U/L	<input type="checkbox"/> Colesterol T.....mg/dl	<input type="checkbox"/> Glicose.....mg/dl
<input type="checkbox"/> Amilase.....U/L	<input type="checkbox"/> CK.....U/L	<input type="checkbox"/> Lipase.....U/L
<input type="checkbox"/> AST.....U/L	<input type="checkbox"/> Creatinina.....mg/dl	<input type="checkbox"/> Magnésio.....mg/dl
<input type="checkbox"/> Bilirubina D.....mg/dl	<input type="checkbox"/> LDH.....U/L	<input type="checkbox"/> PT.....g/dl
<input type="checkbox"/> Bilirubina T.....mg/dl	<input type="checkbox"/> Fósforo.....mg/dl	<input type="checkbox"/> Triglicéridos.....mg/dl
<input type="checkbox"/> Bilirubina I.....mg/dl	<input checked="" type="checkbox"/> F. A..... <u>36,6</u>U/L	<input type="checkbox"/> Uréia.....mg/dl

Observações: Atenção: hemólise

Examinado por: Auren Bergk Soso CRMV/RS _____
 Médica Veterinária
 CRMV/RS 8585

ANEXO 5

 UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO		LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO BIOQUÍMICA	
NF. 1		Exame nº 113/07	
Proprietário: <u>Pesq. Nicotina</u>		RG:	Data: <u>12/10/07</u>
Espécie Animal: <u>Coelho</u>	Raça:	Sexo:	Idade:
Diagnóstico provisório:		Animal sob tratamento: <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO	
Qual:		História clínica resumida:	
TIPO DE EXAME:			

Bioquímica		
<input type="checkbox"/> Albumina _____ g/dL <input type="checkbox"/> ALT _____ U/L <input type="checkbox"/> Amilase _____ U/L <input type="checkbox"/> AST _____ U/L <input type="checkbox"/> Bilirubina T _____ mg/dL <input type="checkbox"/> Bilirubina D _____ mg/dL <input type="checkbox"/> Bilirubina I _____ mg/dL <input type="checkbox"/> Cálcio _____ mg/dL	<input type="checkbox"/> Colesterol _____ mg/dL <input type="checkbox"/> CPK _____ U/L <input type="checkbox"/> Creatinina _____ mg/dL <input checked="" type="checkbox"/> Fosf. Alcalina <u>32,9</u> U/L <input type="checkbox"/> Fósforo _____ mg/dL <input type="checkbox"/> GamaGT _____ U/L <input type="checkbox"/> Glicose _____ mg/dL <input type="checkbox"/> Globulinas _____ U/L	<input type="checkbox"/> LDH _____ U/L <input type="checkbox"/> Lipase _____ U/L <input type="checkbox"/> Potássio _____ mmol/L <input type="checkbox"/> Proteína Total _____ g/dL <input type="checkbox"/> Sódio _____ mmol/L <input type="checkbox"/> Uréia _____ mg/dL

Observações: Amostra hemolisada. Análise de FA realizada no Refletom.

Requisitante - nome e assinatura _____ CRMV _____	Examinado por _____ CRMV <u>Auren Beck Sosa</u> <small>Associação Veterinária</small> <small>8585</small>
---	---