

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO IMPLANTODONTIA

ERNESTO BARQUERO CORDERO

**Avaliação do torque de remoção na interface osso /
implante promovida por estimulação elétrica em implantes
dentários: estudo em cães.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**FLORIANOPOLIS
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ernesto Barquero Cordero

**Avaliação do torque de remoção na interface osso /
implante promovida por estimulação elétrica em implantes
dentários: estudo em cães.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito para a obtenção do título de Mestre em
Odontologia, área de concentração: Implantodontia.
Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini

FLORIANOPOLIS
2009

Ernesto Barquero Cordero

**Avaliação do torque de remoção na interface osso /
implante promovida por estimulação elétrica em implantes
dentários: estudo em cães.**

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de “Mestre em Odontologia”, área de concentração Implantodontia e aprovada na forma final pelo programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Aprovado pela banca examinadora em 18 de Dezembro de 2009.

Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini
Orientador

Prof. Dr. Cesar Augusto Magalhães Benfatti

Prof.Dr. Carlos Alberto Martin

Dedicatória

*Principalmente a Deus,
que me deu forças em todo este tempo,
que me ensinou a acreditar naquilo que não consigo ver,
coragem para não desistir e,
sabedoria para trabalhar na pesquisa e em minha vida pessoal.*

*A minha família,
que foi a parte mais sacrificada ao longo destes anos,
pela educação e valores ensinados.*

*Ao Brasil,
que me acolheu como um filho a mais nesta maravilhosa terra.*

*A minha noiva Samantha,
que está sendo um dos presentes mais lindos que Deus me ofereceu.*

Agradecimentos

A **Universidade Federal de Santa Catarina**, por me receber como aluno nesta respeitada instituição. Em especial ao **CEPID**. Sempre vestirei a camisa!

Agradeço ao professor **Ricardo de Souza Magini**. Com ele aprendi que os sonhos podem se tornar realidade. Agradeço seu voto de confiança em permitir-me entrar na pós – graduação. Mais que um professor foi meu amigo.

Ao professor **Marco Aurélio Bianchini**, tenho mais que duas palavras para falar para você, obrigado por ensinar- me pesquisar e lutar pelos objetivos.

Ao professor **Antonio Carlos Cardoso**, por ensinar-me o senso crítico.

Aos professores **Diego Klee de Vasconcelos, Wilson Andriani Júnior, Rubens Rodrigues Filho**, pela ajuda e conhecimento durante este tempo, vocês são de grande admiração para mim.

As funcionárias do CEPID, **Gisela e Miriam**: sem vocês o CEPID não funcionaria igual. Obrigado pela dedicação e paciência.

A **Nicéia e Sergio**, pela grande ajuda oferecida na atual pesquisa. Vocês foram fundamentais para realização do trabalho.

Aos demais funcionários da faculdade, pela dedicação e colaboração em todos os momentos.

Aos meus parceiros e amigos do mestrado: **Armando, Gustavo, João, Newton, Pâmela e Daniel** e do doutorado: **André, Rodrigo, Luis, Moira, Elisa e Dingo**. Ao longo deste tempo tivemos companheirismo, compreensão e, com certeza, amizade, que será para a vida inteira.

Aos estagiários, **Rosana, Monique e José Moises** pela colaboração imprescindível.

A professora **Mabel Cordeiro** pela ajuda e colaboração nesta pesquisa. Sem dúvida alguma uma das melhores professoras que passou pela minha vida.

Ao professor da engenharia mecânica da UFSC **Carlos Alberto Martin** e meu amigo **Ricardo de Araujo Elias** por terem trabalhado e abraçado o sonho de um “implante elétrico”.

Uma atenção especial para **Maria, João, José Moises** e **Armando**, pela parceria durante toda a parte experimental deste trabalho.

Aos **funcionários do laboratório de Endodontia e o Biotério Central** da UFSC, por disponibilizar a estrutura e cooperação na a realização desta pesquisa.

A **Marcilani** e **Glaucia** que foram como uma mãe e irmã para mim. Sem vocês não conseguiria morar e estudar no Brasil. Obrigado por acreditarem em mim.

Meus irmãos brasileiros **César, China** e **Steferson**: parceria, amizade, trabalho e coragem são para vida inteira.

Aos meus sogros **Rui** e **Jane**, aos cunhados **Demian** e **Gustavo**, por torcerem por minha felicidade e serem uma família para mim.

Aquelas pessoas que ajudaram, apoiaram e me ofereceram conselhos quando mais eu precisava, desculpem se minha mente esqueceu algum de vocês, mas devem saber que moram em meu coração.

Deus os abençoe.

*Não tenhas medo, que eu estou contigo,
Não te assustes que sou o teu Deus.
Eu te dou coragem, sim, eu te ajudo.
Sim, eu te seguro com minha mão vitoriosa.*

Isaías 41:10

Resumo

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a influência de estímulos elétricos no torque de remoção de implantes dentários. Para tal foram inseridos 18 implantes nas tíbias de 6 cães da raça Beagle, esses implantes foram divididos em 3 grupos: A (Implante dentário com dispositivo elétrico de 10 μ A), B (Implante dentário com dispositivo elétrico de 20 μ A) e C (Implante dentário sem dispositivo elétrico - controle). Os torques de inserção foram mensurados no final da instalação do implante e os torques de remoção foram mensurados com 7 e 15 dias pós-cirúrgicos.

Os valores obtidos foram analisados estatisticamente por meio do teste Anova One-Way e teste de correlação de Spearman. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tempos e os grupos avaliados. Pode-se concluir que, ao teste biomecânico, o estímulo elétrico não influencia no torque de remoção do implante.

Palavras Chaves: Torque de remoção, osteogênese, estimulação elétrica.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the influence of electrical stimulation on the removal torque of implants. To that 18 implants were inserted in the tibia of 6 Beagle dogs, these implants were divided into 3 groups: A (Dental implant fixture with 10 μ A), B (Dental implant fixture with 20 μ A) and C (Implant without dental fixture - control). The insertion torques were measured at the end of the installation of the implant and removal torques were measured at 7 and 15 days after surgery. The data were analyzed statistically by means of the One-Way ANOVA test and Spearman correlation. There were no significant differences between times and groups. Can be concluded that the biomechanical test, the electrical stimulation does not influence the torque of the implant.

Key words: Torque removal, osteogenesis, electrical stimulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Incisão longitudinal realizada na tíbia do cão.....	21
FIGURA 2: Seqüência de perfurações prontas para colocação dos implantes, a perfuração inicial esta localizada no extremo esquerdo da figura.....	21
FIGURA 3: Colocação de implante.....	22
FIGURA 4: Torquímetro digital.....	22
FIGURA 5: Dispositivo elétrico instalado.....	23
FIGURA 6: Implantes instalados com os parafusos de cobertura.....	23
FIGURA 7: Fechamento do acesso cirúrgico do periósteo (a) e pele (b).....	24
TABELA 1: Medidas das medias dos torques de inserção e remoção dos grupos nos diferentes períodos.....	27
TABELA 2: Comparação entre os grupos do torque de remoção.....	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	JUSTIFICATIVA.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	13
3	MATERIAS E METODOS.....	14
3.1	ANESTESIA E PROCEDIMENTO CIRURGICO.....	15
4.2	ANÁLISES DO TORQUE DE INSERÇÃO E REMOÇÃO.....	16
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
5	CAPÍTULO I ARTIGO EM PORTUGUÊS.....	17
6	CAPÍTULO II ARTIGO EM INGLÊS.....	37
7	APÊNDICES E ANEXOS.....	51
7.1	REVISÃO DE LITERATURA.....	52
7.2	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
7.3	APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM ANIMAIS.....	61

Introdução

A osseointegração é definida como o contato direto, estrutural e funcional entre o osso organizado e saudável com a superfície do implante (Albrektsson, 1988). O tempo necessário para que um implante se torne funcional vai depender da qualidade de contato osso/implante e de sua capacidade em resistir às forças incidentes sobre ele (Jufin & Berman, 1991). A literatura relata que o período de cicatrização é de aproximadamente seis meses na maxila e de três meses na mandíbula (Puleo & Nanci, 1999).

O desenvolvimento de novas técnicas para acelerar a formação óssea e, conseqüentemente, encurtar o período de osseointegração, faz com que os implantes de titânio venham sofrendo diferentes modificações na sua estrutura macro e microscópica.

Diferentes tratamentos de superfície têm sido realizados com objetivo de alterar a microtopografia do titânio, como por exemplo: ataque ácido (Orsini e cols., 2000), plasma spray (Ellingsen, 1998), oxidação anódica (Yamagami e cols., 2005), fosfato-cálcio ou combinações desses tratamentos (Yamagami e cols., 2005). Essa texturização induz as plaquetas a liberar fatores de crescimento (PDGF) (Buser e cols., 1991) e melhora a osteogênese (Gottlander e cols., 1997; Davies, 2007). A interface entre osso e implante sob a ótica de topografia microscópica oferece uma melhor adesão para a rede de fibrina, assim como propriedades específicas de proteínas do meio intercelular, contribuem para a organização da camada de proteínas adsorvidas, e a natureza desta determinar a resposta celular aos implantes (Lampin e cols., 1997). As moléculas envolvidas na adesão e proliferação celulares incluem moléculas da matriz extracelular, receptores transmembrana e componentes do citoesqueleto. Dentre das proteínas do plasma a fibronectina e a vitronectina têm sido relacionadas à promoção da adesão celular e reorganização dos microfilamentos de actina (Puleo & Bizios, 1992; Degasne e cols., 1999). A albumina humana apresenta uma alta afinidade pelo titânio (Klinger e cols., 1997) e é uma proteína não adesiva para os osteoblastos (Puleo & Bizios, 1992) que age como um carreador para proteínas menores, lipídios e mantenedor tampão do pH do

sangue. A concentração desta proteína no plasma humano é cerca de 100 vezes maior do que a de fibronectina.

A albumina seria a primeira proteína a chegar sobre a superfície, devido à sua alta concentração e ao seu baixo peso molecular (Deligianni e cols., 2001).

A associação de fatores do plasma com o titânio prévio à migração local de células, é influenciada pela energia de superfície que por sua vez é sensível à rugosidade e topografia do implante (Boyan e cols., 1996; Davies, 1998; Davies, 2003).

A modificação da superfície do implante é importante na velocidade de aposição óssea, uma vez que essa mudança influencia na energia de superfície e sua “molhabilidade” (hidrofilia) (Nayab e cols., 2005). A hidrofilia, uma característica diretamente dependente da energia de superfície, influencia o nível de contato de um biomaterial com as células presentes no tecido onde ele é inserido. Assim, o aumento da hidrofilia promove uma maior interação entre os implantes e o ambiente biológico ao seu redor (Kipaldi e cols., 1998).

Vários estudos têm sido realizados para se tentar explicar a influência da energia de superfície do titânio sobre o comportamento celular (Baier & Meyer, 1988). A teoria mais amplamente aceita é a de que estas propriedades têm um efeito seletivo sobre a configuração e conformação das proteínas que são adsorvidas sobre o substrato, sendo elas importantes durante a adesão celular (Uitto e cols., 1992).

Além a essas terapias bioquímicas osteoindutivas existem as alternativas biofísicas, tais como as mecânicas, sônicas e elétricas (Aaron e cols., 2006). Esta última é aplicada na ortopedia como tratamento da fratura refratária ou deficiência na consolidação, e teve seu início em 1841, com Hartshorne (Fred e cols., 2003), que descreveu um tratamento para as fraturas por meio de choques elétricos.

Mais de 100 anos depois, a estimulação elétrica foi retomada pela descrição dos potenciais “piezos elétricos”, gerados pelo estresse mecânico sobre a estrutura cristalina do osso. Autores sugerem que o *stress* nos componentes cristalinos do osso produz uma corrente que desencadeia um processo de cicatrização (Fukada & Yasuda, 1957).

Mais recentemente, diversos autores (Yasuda, 1953) têm demonstrado que sinais elétricos similares aos gerados pelos mecanismos de *stress* podem melhorar a cicatrização da fratura.

A hipótese central na aplicação de forças físicas como as geradas por potenciais elétricos é a da regulação da sinalização celular na formação óssea, sendo a idéia de que esses campos elétricos seriam importantes no processo de reparo (Bassett 1962).

O presente trabalho teve por objetivo analisar, por meio da mensuração do torque de remoção, a osseointegração promovida por estimulação elétrica em implantes dentários.

JUSTIFICATIVA

Um dos fatores imprescindíveis para se obter sucesso em implantes dentários é que estes exerçam adequadamente as funções mastigatórias. E para que um implante dentário seja funcional é necessário haver osseointegração.

Após a instalação do implante dentário, o tempo médio de espera para que se possa instalar a prótese sobre implante é de 180 dias na maxila e de 90 dias na mandíbula. Com a redução do tempo necessário para a osseointegração, a prótese sobre implante poderia ser instalada em menos tempo.

A proposta deste estudo é buscar uma alternativa que possibilite a redução do tempo de osseointegração por meio de um dispositivo elétrico instalado dentro do implante

OBJETIVOS

GERAL:

- Desenvolver um dispositivo gerador de corrente elétrica que seja capaz de estimular o reparo de tecido ósseo e, conseqüentemente, acelerar a osseointegração em implantes dentários.

ESPECÍFICOS:

- Projetar e usinar um implante dentário de titânio, comercialmente puro, com dimensões de 6,0 x 11,,5mm;
- Desenvolver e acoplar um dispositivo gerador de corrente elétrica, ao implante de titânio acima citado, de modo a estimular o metabolismo do osso ao redor do implante;

- Avaliar por meio da mensuração do torque de remoção a interface osso/implante promovida pela estimulação elétrica em implantes dentários, após 7 e 15 dias de instalação na tíbia dos cães.

Materiais e Métodos

Considerações éticas

O presente estudo foi submetido para ANÁLISE pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Santa Catarina, recebendo aprovação sob o parecer nº 114/CEUA/PRPe/2008

Amostras

Foram confeccionados 18 implantes de titânio com 6 mm de diâmetro por 11,5 mm de comprimento com superfície usinada e esterilizados por raios gama.

Seis cães machos da raça Beagle, com aproximadamente 12 meses de idade, com um peso aproximado de 15 kg, foram utilizados neste estudo.

Para realização da intervenção cirúrgica, os animais foram divididos aleatoriamente em dois tempos de avaliação de 7 e 15 dias (3 animais por tempo), e em cada uma das suas patas foi instalado um grupo de implantes.

Assim, a distribuição dos grupos em relação ao tipo de variável por animal foi a seguinte:

Grupo 1: (7 dias)

- A. Três implante com dispositivo elétrico com 10 μ A.
- B. Três implantes com dispositivo elétrico com 20 μ A.
- C. Três implantes sem dispositivo elétrico.

Grupo 2: (15 dias)

- A. Três implantes com dispositivo elétrico com 10 μ A.
- B. Três implantes com dispositivo elétrico com 20 μ A.
- C. Três implantes sem dispositivo elétrico.

Os implantes obedeceram uma ordem de colocação previa e estabelecida, havendo rodízio dos grupos em relação às extremidades do cão.

Anestesia e Procedimento Cirúrgico

Previamente ao procedimento cirúrgico, cada cão recebeu uma injeção, por via intramuscular, de sulfato de atropina 0,50 mg (Atropinon[®], Hipolabor Farmacêutica Ltda., Sabará, MG, Brasil), na dosagem de 0,44 mg/kg. Após 10 min, foi aplicada xilazina (Rompun[®], Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil), na dosagem de 3 mg/kg, e cloridrato de quetamina 1,0 mg (Francotar[®], Virbac, Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil), na dosagem de 16 mg/kg, ambos por via intramuscular, em uma única injeção. Em casos de necessidade, fez-se reforço anestésico com a metade da dose-mãe.

Foi realizada uma incisão longitudinal sobre a tíbia para expor o tecido ósseo subjacente. Os implantes foram instalados utilizando-se fresas de diâmetros seriados, sob refrigeração por irrigação constante com soro fisiológico a temperatura ambiente, até atingir o diâmetro dos implantes. Passou-se então para a instalação propriamente dita dos implantes e os dispositivos elétricos conforme os grupos.

Os acessos foram suturados em dois planos, internamente com fio Vicryl reabsorvível 5.0 (Ethicon-Vicryl[®]/Johnson&Johnson–São Paulo-Brasil) e externamente com fio de nylon 4.0 (Somerville[®] - Pernambuco –Brasil).

Os animais foram induzidos a uma morte indolor assistida (MIA) segundo seu tempo de avaliação por administração de dose letal de anestésico tiopental sódico (Thionembutal[®]). Imediatamente após foi realizada a mensuração do torque de remoção, por meio de um torquímetro.

ANÁLISE do torque de inserção e remoção

Foi mensurado o torque de inserção dos implantes dos diferentes grupos por meio de um torquímetro digital (Mecmesin AFTI, Universal Indicator and Torque Sensors-UK) e os dados foram registrados em fichas apropriadas para posterior comparação. Atingido o tempo de avaliação de 7 e 15 dias pós implantes para cada um dos grupos, foi mensurado o torque de remoção dos implantes, o qual consiste em um contra-torque aplicado ao implante até que ele gira-se. Os dados desta mensuração foram registrados nas mesmas fichas anteriormente citadas, de modo a permitir tabulação e ANÁLISE estatística.

ANÁLISE Estatística

A ANÁLISE dos dados foi realizada no software Stata 9. Para as variáveis quantitativas foram descritos os valores das medidas de tendência central e de dispersão. Para avaliar se houve diferenças entre as médias dos grupos utilizou-se o teste de ANOVA ou teste t de *Student*. Seus correspondentes não paramétricos (Kruskall-Wallis e Mann-Whitney, respectivamente) foram aplicados quando exigidos em razão da reduzido amostra. O nível de significância para rejeitar a hipótese nula foi $p < 0,05$.

CAPÍTULO I

Avaliação do torque de remoção na interface osso / implante promovida por estimulação elétrica em implantes dentários: estudo em cães.

Introdução

A osseointegração é definida como o contato direto, estrutural e funcional entre o osso organizado e saudável com a superfície do implante¹. O tempo necessário para que um implante se torne funcional vai depender da qualidade de contato osso/implante e de sua capacidade em resistir às forças incidentes sobre ele². A literatura relata que o período de cicatrização é de aproximadamente seis meses na maxila e de três meses na mandíbula³.

O desenvolvimento de novas técnicas para acelerar a formação óssea e, conseqüentemente, encurtar o período de osseointegração, faz com que os implantes de titânio venham sofrendo diferentes modificações na sua estrutura macro e microscópica.

Diferentes tratamentos de superfície têm sido realizados com objetivo de alterar a microtopografia do titânio, como por exemplo: ataque ácido⁴, plasma spray⁵, oxidação anódica⁶, fosfato-cálcio ou combinações desses tratamentos⁶. Essa texturização induz as plaquetas a liberar fatores de crescimento (PDGF)⁷ e melhora a osteogênese^{8,9}. A interface entre osso e implante sob a ótica de topografia microscópica oferece uma melhor adesão para a rede de fibrina, assim como propriedades específicas de proteínas do meio intercelular, contribuem para a organização da camada de proteínas adsorvidas, e a natureza desta determinar a resposta celular aos implantes¹⁰. As moléculas envolvidas na adesão e proliferação celulares incluem moléculas da matriz extracelular, receptores transmembrana e componentes do citoesqueleto. Dentre das proteínas do plasma a fibronectina e a vitronectina têm sido relacionadas à promoção da adesão celular e reorganização dos microfilamentos de actina^{11,12}. A albumina humana apresenta uma alta afinidade pelo titânio¹³ e é uma proteína não adesiva para os osteoblastos¹¹ que age como um carreador para proteínas menores, lipídios e mantenedor tampão do pH do sangue. A concentração desta proteína no plasma humano é cerca de 100 vezes maior do que a de fibronectina. A albumina seria a primeira proteína a chegar sobre a superfície, devido à sua alta concentração e ao seu baixo peso molecular¹⁴.

A associação de fatores do plasma com o titânio prévio à migração local de células, é influenciada pela energia de superfície que por sua vez é sensível à rugosidade e topografia do implante ^{15,16,17}.

A modificação da superfície do implante é importante na velocidade de aposição óssea, uma vez que essa mudança influencia na energia de superfície e sua “molhabilidade” (hidrofilia) ¹⁷. A hidrofilia, uma característica diretamente dependente da energia de superfície, influencia o nível de contato de um biomaterial com as células presentes no tecido onde ele é inserido. Assim, o aumento da hidrofilia promove uma maior interação entre os implantes e o ambiente biológico ao seu redor ¹⁸.

Vários estudos têm sido realizados para se tentar explicar a influência da energia de superfície do titânio sobre o comportamento celular ¹⁹. A teoria mais amplamente aceita é a de que estas propriedades têm um efeito seletivo sobre a configuração e conformação das proteínas que são adsorvidas sobre o substrato, sendo elas importantes durante a adesão celular ²⁰⁻²³.

Uma alternativa a essas terapias bioquímicas osteoindutivas são as biofísicas, tais como as mecânicas, sônicas e elétricas¹⁶. Esta última é aplicada na ortopedia como tratamento da fratura refratária ou deficiência na consolidação, e teve seu início em 1841, com Hartshorne ²⁴, que descreveu um tratamento para as fraturas por meio de choques elétricos.

Mais de 100 anos depois, a estimulação elétrica foi retomada pela descrição dos potenciais “piezos elétricos”, gerados pelo estresse mecânico sobre a estrutura cristalina do osso ^{25,26}. Autores sugerem que o *stress* nos componentes cristalinos do osso produz uma corrente que desencadeia um processo de cicatrização ²⁶.

Mais recentemente, diversos autores ²⁷ têm demonstrado que sinais elétricos similares aos gerados pelos mecanismos de *stress* podem melhorar a cicatrização da fratura.

A hipótese central na aplicação de forças físicas como as geradas por potenciais elétricos é a da regulação da sinalização celular na formação óssea, sendo a idéia de que esses campos elétricos seriam importantes no processo de reparo ²⁸.

O presente trabalho teve por objetivo analisar, por meio da mensuração do torque de remoção, a osseointegração promovida por estimulação elétrica em implantes dentários.

Materiais e Métodos

Considerações éticas

O presente estudo foi submetido para ANÁLISE pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Santa Catarina, recebendo aprovação sob o parecer nº 114/CEUA/PRPe/2008

Amostras

Foram confeccionados 18 implantes de titânio com 6 mm de diâmetro por 11,5 mm de comprimento com superfície usinada e esterilizados por raios gama.

Seis cães machos da raça Beagle, com aproximadamente 12 meses de idade, com um peso aproximado de 15 kg, foram utilizados neste estudo.

Para realização da intervenção cirúrgica, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de avaliação de 7 e 15 dias (3 animais por tempo), e em cada uma das suas extremidades foi instalado um tipo de implantes.

Assim, a distribuição dos grupos em relação ao tipo de variável foi a seguinte:

Grupo 1: (7 dias)

- A. Três implantes com dispositivo elétrico com 10 μ A.
- B. Três implantes com dispositivo elétrico com 20 μ A.
- C. Três implantes sem dispositivo elétrico.

Grupo 2: (15 dias)

- A. Três implantes com dispositivo elétrico com 10 μ A.
- B. Três implantes com dispositivo elétrico com 20 μ A.
- C. Três implantes sem dispositivo elétrico.

Os implantes obedeceram uma ordem de colocação previa e estabelecida, havendo rodízio dos grupos em relação às extremidades do cão.

Anestesia e Procedimento Cirúrgico

Previamente ao procedimento cirúrgico, cada cão recebeu uma injeção, por via intramuscular, de sulfato de atropina 0,50 mg (Atropinon[®], Hipolabor Farmacêutica Ltda., Sabará, MG, Brasil), na dosagem de 0,44 mg/kg. Após 10 min, foi aplicada Xilazina (Rompun[®], Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil), na dosagem de 3 mg/kg, e cloridrato de Quetamina 1,0 mg (Francotar[®], Virbac, Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil), na dosagem de 16 mg/kg, ambos por via intramuscular, em uma única injeção. Em casos de necessidade, fez-se reforço anestésico com a metade da dose-mãe.

Foi realizada uma incisão longitudinal sobre a tíbia para expor o tecido ósseo subjacente (Fig.1). Os implantes foram instalados utilizando-se fresas de diâmetros seriados, sob refrigeração por irrigação constante com soro fisiológico a temperatura ambiente, até atingir o diâmetro dos implantes (Fig.2). Passou-se então para a instalação propriamente dita dos implantes (Fig.3) e os dispositivos elétricos conforme os grupos (Figs. 4,5,6).

Os acessos foram suturados em dois planos, internamente com fio Vicryl reabsorvível 5.0 (Ethicon-Vicryl®Johnson&Johnson–São Paulo-Brasil) e externamente com fio de nylon 4.0 (Somerville® - Pernambuco –Brasil) (Fig.7).

Os animais foram induzidos a uma morte indolor induzida (MII) segundo seu tempo de avaliação por administração de dose letal de anestésico tiopental sódico (Thionembutal®). Imediatamente após foi realizada a mensuração do torque de remoção, por meio de um torquímetro.



Figura 1. Incisão longitudinal realizada na tíbia do cão.

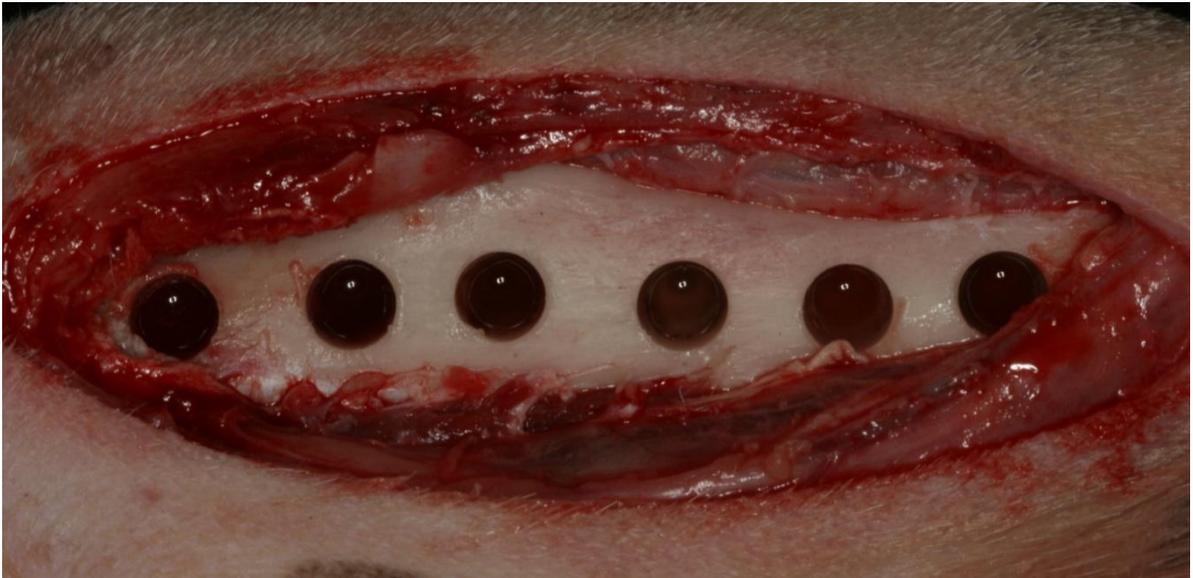


Figura 2. Seqüência de perfurações prontas para colocação dos implantes, a perfuração inicial esta localizada no extremo esquerdo da figura.

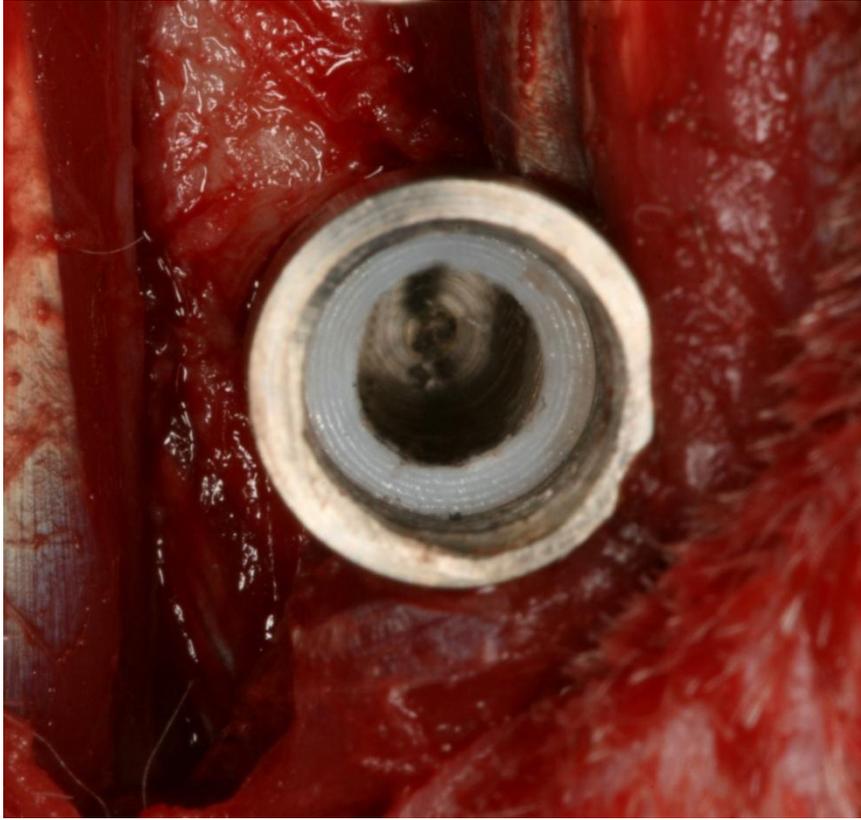


Figura 3. Colocação de implante.



Figura 4. Torquímetro digital (Mecmesin, Horsham).

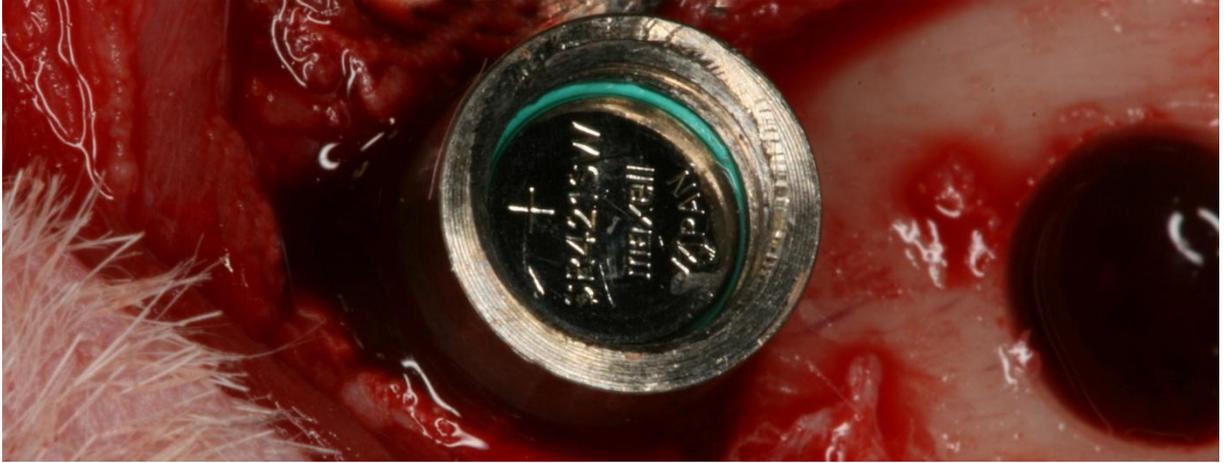


Figura 5. Dispositivo elétrico instalado.



Figura 6. Implantes instalados com os parafusos de cobertura.

A.



B.



Figura 7. Fechamento do acesso cirúrgico do periósteo (a) e pele (b)

ANÁLISE do torque de inserção e remoção

Foi mensurado o torque de inserção dos implantes dos diferentes grupos por meio de um torquímetro digital (Mecmesin AFTI, Universal Indicator and Torque Sensors-UK) e os dados foram registrados e tabulados para posterior comparação. Atingido o tempo de avaliação de 7 e 15 dias pós implantes para cada um dos grupos, foi mensurado o torque de remoção dos implantes, o qual consiste em um contra-torque aplicado ao implante até ruptura da interface osso-implante. Os dados desta mensuração foram registrados e tabulados, de modo a permitir tabulação e ANÁLISE estatística.

ANÁLISE Estatística

A ANÁLISE dos dados foi realizada no software Stata 9. Para as variáveis quantitativas foram descritos os valores das medidas de tendência central e de dispersão. Para avaliar se houve diferenças entre as médias dos grupos utilizou-se o teste de ANOVA ou teste t de *Student*. Seus correspondentes não paramétricos (Kruskall-Wallis e Mann-Whitney, respectivamente) foram aplicados quando exigidos em razão da reduzido amostra. O nível de significância para rejeitar a hipótese nula foi $p < 0,05$.

Resultados

1. Procedimento cirúrgico e mensuração do torque de inserção

Não foram observadas complicações sinais de infecção ou outras intercorrências relevantes durante e após os procedimentos cirúrgicos e/ou os períodos experimentais.

A mensuração do torque de inserção realizou se previamente à colocação dos dispositivos elétricos, tendo como resultado que:

A média de inserção no tempo de 7 dias foi de 90,02 (desvio padrão = 46,58), sendo que o menor valor de inserção encontrado entre os grupos foi de 0 e o valor máximo de 182,00. (Tabela 1)

A média de inserção no tempo de 15 dias foi de 95,25 (desvio padrão = 52,80), sendo que o menor valor de inserção encontrado entre os grupos foi de 3 e o valor máximo de 189,40. (tabela 1)

2. ANÁLISE da mensuração do torque de remoção

Após a morte indolor induzida, os implantes foram inspecionados visual e manualmente e, uma vez determinada a estabilidade de todos os implantes, estes foram destinados para o teste de torque de remoção.

A média de remoção no tempo de 7 dias foi de 67,79 (desvio padrão = 44,36), sendo que o menor valor de remoção encontrado entre os grupos foi de 4,10 e o valor máximo de 131,60.(tabela 1)

A média de remoção no tempo de 15 dias foi de 83,93 (desvio padrão = 41,87), sendo que o menor valor de remoção encontrado entre os grupos foi de 23,00 e o valor máximo de 163,40.(tabela 1)

		TORQUE DE INSERÇÃO		TORQUE DE REMOÇÃO	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Grupo 7 dias	A	82,51	46,58	75,53	46,82
	B	80,80	43,71	69,77	33,06
	C	106,75	50,57	58,07	65,96
Grupo 15 dias	A	115,18	49,74	123,10	36,00
	B	85,32	59,90	66,37	18,48
	C	81,26	47,81	62,33	43,72

Tabela 1. Medidas das medias dos torques de inserção e remoção dos grupos nos diferentes períodos. A: dispositivo elétrico de 10 μ A. B: dispositivo elétrico 20 μ A. C: sem dispositivo elétrico – controle.

Para testar a relação entre duas variáveis quantitativas entre os grupos, foi utilizado o teste de correlação de Spearman.(tabela 2)

Grupo	Media	Media	Valor- P
C7 vrs A7	75,5	58,1	0,727
C15 vrs A15	123,1	62,3	0,137
C7 vrs B7	69,8	58,1	0,797
C15 vrs A15	66,4	62,3	0,890
A7 vrs B7	75,5	69,8	0,870
A15 vrs B15	123,1	66,4	0,072

Tabela 2. Comparação entre os grupos do torque de remoção, no período de 7 e 15 dias. A: dispositivo elétrico de 10 μ A. B: dispositivo elétrico 20 μ A. C: sem dispositivo elétrico – controle.

Discussão

A estabilidade inicial pode ser traduzida como o valor do torque aferido no momento do assentamento final do implante no leito receptor, ou seja, o torque de inserção é o resultado da resistência friccional entre as roscas do parafuso e o tecido ósseo e serve para avaliar a estabilidade primária ^{29,30}. As mensurações dos torques de inserção na presente pesquisa foram realizadas antes da introdução dos dispositivos elétricos no interior dos implantes. Isto significa que cada valor foi determinado apenas pelas características do leito receptor (tabela 1) já que o desenho do implante foi o mesmo para todos os grupos.

O “n” reduzido deste trabalho implica que se observarão diferenças estatísticas apenas se essas forem de maior magnitude, sendo assim como houve diferenças entre grupos sugeririam uma diferença real. Por tanto foi comparada a relação entre os valores de torque de inserção e de remoção, nos diferentes períodos, não foram observadas diferenças significativas. Geralmente, os torques de remoção, em estudos de curto prazo, são inferiores aos torques de inserção ³¹. Os torques de remoção mostram valores mais elevados após um acompanhamento de pelo menos 4 semanas, período em que acontece a osseointegração do implante ^{32,33}. A escolha dos períodos foi baseada nas fases específicas da cicatrização óssea em cães, correlacionadas com as taxas de reparo ósseo em humanos ³⁴. A remodelação óssea pode ser dividida em ativação, reabsorção ativa, latência e formação. A remodelação inicia com uma fase de ativação que dura horas ou dias, seguida da reabsorção óssea realizada pelos osteoclastos. Este período de reabsorção perdura por dez dias nos cães e quatorze dias no homem. A fase de latência tem duração de uma semana nos cães e uma a duas semanas no homem, aproximadamente. Nesta fase, os osteoclastos são substituídos por osteoblastos dando início à fase de neoformação óssea. A matriz osteóide alcança a superfície do implante na quarta semana em cães e na sexta em humanos. Após aproximadamente dois meses e meio nos cães e três meses no homem, a cavidade resultante da reabsorção é preenchida por tecido ósseo. Tendo por base esses parâmetros, os períodos experimentais escolhidos nesta pesquisa foram 0, 7,15 dias.

Deste modo, o momento de inserção do implante correspondeu ao período 0. Os 7 dias correspondem aos períodos de reabsorção, onde em humanos corresponderia uma intensa atividade celular, existindo uma migração de novos capilares para o interior do coágulo (angiogênese), e 15 dias que correspondem aos períodos de reabsorção e fase latência do ciclo de remodelação óssea, que em humanos corresponde a uma fase de coalescência das ilhas osteóides individuais à superfície, gerando o processo de consolidação clínica do implante.

A aceleração do tempo de cicatrização por meio de estímulos elétricos em estudos com animais ainda é controversa; essa estimulação depende da fonte de energia e da magnitude da corrente elétrica. Diferentes fontes de energias são utilizadas para produzir diferentes amperagens, podendo ser externas ou internas. Chama-se fonte de energia interna aquela que se encontra dentro do dispositivo condutor, neste caso o implante de titânio, diferente de outros estudos, este trabalho, testou previamente o tempo e a magnitude da corrente elétrica gerada, possibilitando assim ser afirmada a constância da corrente durante todo o período experimental.

A escolha das amperagens foi baseada na literatura ^{35,36}, que mostraram, por meio de ANÁLISE histológica, que as magnitudes de 10 μ A a 20 μ A promoveram uma rápida neoformação óssea em tíbias e fêmures de coelhos e cães, em diferentes tempos de avaliação ^{37,38}. O estudo atual avaliou por meio dos torques de remoção entre grupos de 10 μ A e 20 μ A, nos períodos de 7 e 15 dias, observando a existência de diferenças entre as médias e desvios padrão, porém não estatisticamente significativas. Outro estudo, realizado por Song e colaboradores ³⁹ (2009), avaliou o efeito de um dispositivo elétrico ligado ao implante dentário, com uma amperagem de 20 μ A, sobre a aceleração na formação óssea, por meio durante duas e cinco semanas. Os resultados histológicos mostraram uma aceleração na formação óssea ao redor dos implantes, sugerindo que o tempo de latência de osseointegração pode ser reduzido quando são utilizados os estímulos elétricos.

A literatura apresenta poucos trabalhos de avaliação da influência dos estímulos elétricos sobre a osseointegração, por meio de teste de remoção de implante, que geralmente é combinado a parâmetros histomorfométricos, tais como o grau de contato osso-implante, densidade e volume ósseos.

É o caso do estudo realizado por Shafer e colaboradores ⁴⁰ (1995), onde avaliaram o efeito da estimulação elétrica por meio de uma fonte externa com uma magnitude de corrente elétrica de 7,5 μ A, ligada a dois implantes de titânio (um teste e um controle) na mandíbula de cinco coelhos. Ao analisar o torque de remoção e o percentual médio de osso adjacente aos implantes, não foram encontradas diferenças estatísticas. Os autores concluíram que a utilização de eletricidade não possui um efeito positivo na cicatrização óssea. Outros estudos avaliando, por meio de ANÁLISE histológica, os efeitos da corrente constante emitida por uma fonte de energia externa, tiveram como resultados um incremento na formação óssea e um maior contato osso-implante ^{41,42,43}.

Dando continuidade a este trabalho, ANÁLISES histológicas serão realizadas no intuito de sanar as divergências encontradas na literatura

Conclusão

A partir dos achados pode concluir que, o estímulo elétrico não influencia no torque de remoção.

Referências

1. Albrektsson, T. A. Multicenter report on osseointegrated oral implants. *J Prosthet Dent.* 1988, v. 60 (1), p. 75 – 84.
2. Jufin RA, Berman CL: The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: A 5-year analysis. *J Periodontol.* 1991, 62:2.
3. Puleo, D.A. & Nanci, A. Understanding and controlling the bone–implant interface. *Biomaterials.* 1999, 20: 2311–2321.
4. Orsini G, Assenza B, Scarana A, Piatelli M, Piatelli A. Surface analysis of machined versus sandblasted and acid-etched titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000, 15:779-784.
5. Ellingsen, J.E. Surface configurations of dental implants. *Periodontol* 2000.1998., v.17: 36-46.
6. Yamagami A, Yoshihara Y, Suwa F. Mechanical and histologic examination of titanium alloy material treated by sandblasting and anodic oxidization. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005, 20:48:53.
7. Gottlander M, Johansson CB, Wennerberg A, Albrektsson T, Radin S, Ducheyne P. Bone tissue reactions to an electrophorÉTICALLY applied calcium phosphate coating. *Biomaterials* 1997;18(7):551-7.
8. Davies, J.E. Bone bonding at natural and biomaterial surface. *Biomaterials* 2007. 28: 5058– 5067.
9. Buser D, Schenk Rk, Steinemann S, Fiorellini Jp, Fox Ch, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants a histomorphometric study in miniature pig. *J Biomed Mater Res.* 1991, 25 (7): 889 – 902.
10. Lampin, M.; Warocquier-Clerout, R.; Legri S, C.; Degrange, M.; Sigot-Luizard, M.F. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion and cell migration. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.36, n.1, p.99-108, 1997.

11. Puleo, D.A.; Bizios, R. Mechanisms of fibronectin-mediated attachment of osteoblasts to substrats in vitro. *Bone Miner.*, v.18, n.3, p.215-226, 1992.
12. Degasne, I.; Basle, M.F.; Demais, V.; Hure, G.; Lesourd, M.; Grolleau, B.; Mercier, L.; Chappard, D. Effects ou roughness, fibronectin and vitronectin on attachment, spreading and proliferation of human osteoblast-like cells (Saos-2) on titanium surfaces. *Calcif. Tissue Int.*, v.64, n.6, p.499-507, 1999.
13. Klinger, A.; Steinberg, D.; Kohavi, D.; Sela, M.N. Mechanism of adsorption of human albumin to titanium in vitro. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.36, n.3, p.387-392, 1997.
14. Deligianni, D.D.; Katsala, N.; Ladas, S.; Sotiropoulou, D.; Amedee, J.; Missirlis, Y.F. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and protein adsorption. *Biomaterials*, v.22, n.11, p.1241-1251, 2001.
15. Boyan, B.D.; Hummert, T.W.; Dean, D.D.; Schwartz, Z. Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. *Biomaterials*, v.17, n.2, p.137-146, 1996.
16. Davies, J.E. Mechanisms of endosseous integration. *Int. J. Prosthodont.* 1998; v.11, n.5.
17. Davies, J.E. Understanding Peri-Implant Endosseus Healing 2005. Re-issued from: *J Dent Educ.* 2003. V 67, n 8: 932-949.
18. Nayab, s. N. Jones, f. H. Olsen, I. Effects of calcium ion implantation on human bone cell interaction with titanium. *Biomaterials* 2005. V. 26. P.4717-4727.
19. Kilpadi, D.V.; Weimer, J.J.; Lemons, J.E. Effect of passivation and dry heatsterilization on surface energy and topography of unalloyed titanium implants. *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects* 1998. v.135, p.89-101. On surface energy and topography of unalloyed titanium implants. *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects* 1998. V.135, p.89-101.

20. Baier R.E, Meyer, A.E. Implant surface preparation. *Int. J. Maxillofac. Impl* 1988.v.3, n.1, p.9-20.
21. Uitto, V.J, Larjava, H, Peltonen J, Brunette D.M. Expression of fibronectin and integrins in cultured periodontal ligament epithelial cells. *J. Dent. Res.* 1992. V.71, n.5, p.1203-1211.
22. Aaron R, Ciombor D, Wang S, Simon B. Clinical biophysics: the promotion of skeletal repair by physical forces. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006. 1068:513-531.
23. Fred R. T. Nelson, MD, Carl T. Brighton, MD, PhD, James Ryaby, PhD, Bruce J. Simon, PhD, Jason H. Nielson, MD, Dean G. Lorch, MD, Mark Bolander, MD, PhD, and John Seelig, MD. Use of physical forces in bone healing. *J Am Acad. Orthop. Surg.* 2003,11:344 – 354
24. Hartshorne E: On the causes and treatment of pseudarthrosis and especially the form of it sometimes called supernumerary joint. *Am J Med* 1841;1: 121-156.
25. Lente RW: Cases of un-united fracture treated by electricity. *New York State J Med* 1850;5:317-319.
26. Fukada E, Yasuda I: On the piezoelectric effect of bone. *J Phys Soc Japan* 1957. 12:1158-1162.
27. Yasuda I. [Fundamental aspects of fracture treatment]. *J Kyoto Med Soc.* 1953.4:395-406.
28. Bassett CAL, Becker RO. Generation of electric potentials by bone in response to mechanical stress. *Science* 1962.137: 1063-1064.
29. Beer A, Gahleitner A, Holm A, Tschabitscher M, Homolka P. Correlation of insertion torques with bone mineral density from dental quantitative CT in the mandible. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14(5): 616-20.
30. Inceoglu S, Ferrara L, McLain RF. Pedicle screw fixation strength: pullout versus insertional torque. *The Spine J* 2004;4:513-8.
31. Linkow LI. Implanto-Orthodontics. *J Clin Orthod* 1970;4:685-706.

32. Miyawaki S, Koyama I, Inoue M, Mishima K, Sugahara T, Takamo-Yamamoto T. Factors associated with the stability of titanium screws placed in the posterior region for orthodontic anchorage. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124:373-8.
33. Ohashi E, Pecho OE, Moron M, Lagravere MO. Implant vs. screw loading protocols in orthodontics. A systematic review. *Angle Orthod* 2006;76:721-7.
34. Roberts WE, Turley PK, Brezniak N, Fielder PJ. Bone physiology and metabolism. *J Calif Dent Assoc* 1987;15:54-61.
35. Friedenberg ZB, Andrews ET, Smolenski BI, Pearl BW, Brighton CT: Bone reaction to varying amounts of direct current *Surg Gynecol Obstet* 131: 894-899, 1970
36. Brighton CT, Friedenberg ZB, Zemsky LZ, Pollis RP: Direct- current stimulation of non-union and congenital pseudoarthrosis. *J Bone Joint Surg* 57A: 368-377, 1975
37. Brighton CT, Friedenberg ZB, Mitchell EI, Booth RE: Treatment of nonunion with constant direct current. *Clin Orthop* 1977;124:106-123.
38. Brighton CT, Black J, Friedenberg ZB, Esterhai JL, Day LJ, Connolly JF: A multicenter study of the treatment of nonunion with constant direct current. *J Bone Joint Surg Am* 1981;63:2-13.
39. Jong K. Song, Tae H. Cho, Hui Pan, Yoon M. Song, In S. Kim, Tae H. Lee, Soon J. Hwang, Sung J. Kim. An Electronic Device for Accelerating Bone Formation in Tissues Surrounding a Dental Implant. *Bioelectromagnetics* 2009,30:374-384.
40. David M. Shafer, Keith Rogerson, Louis Norton, Jeffrey Benneth. The Effect of Electrical Perturbation on Osseointegration of Titanium Dental Implants: A Preliminary Study. *J Oral Maxillofacial Surgery* 1995, 53:1063 – 1068.

41. Takahiro Shigino, Morio Ochio, Hiroyuki Sakaguchi, Kunihiro SaKaguchi, Osamuda Nakade. Application of Capacitively Coupled Electric Field Enhances Periimplant Osteogenesis in the Dog Mandible. *Int J Prosthodontic* 2000,13:365-372.
42. Graciela Ana Giannunzio, Rodolfo Carlos Speerli, María Beatriz Guglielmotti, Electrical Field Effect on Peri-Implant Osteogenesis: A Histologic and Histomorphometric Study. *Implant Dentistry* 2008, V 17(1).
43. Yadollah Soleymani Shayesteh, Behnam Eslami, Mohammad Mehdi Dehghan, Hamed Vaziri, Marzyeh Alikhassi, Amir Mangoli, Arash Khojasteh. The Effect of a Constant Electrical Field on Osseointegration after Immediate Implantation in Dog Mandibles: A Preliminary Study. *Journal of Prosthodontics* 2007, Jun 9.

CAPÍTULO II

Evaluation of the removal torque in the bone-implant interface promoted by electrical stimulation in dental implants: a study in dogs.

The osseointegration is defined as the direct contact, structural and functional relationship between the bone healthy and organized with the surface of implant ¹. The time required for an implant becomes functional will depend on the quality of contact implant-bone and its ability to resist forces applied on it ². The literature reports that the healing period is approximately six months in the maxilla and mandible in the three months ³.

The development of new techniques to accelerate bone formation and, consequently, shorten the period of osseointegration, makes titanium implants may suffer different changes in their macro and microscopic structure. Different surface treatments have been performed aiming to change the microtopography of titanium, for example: etching ⁴, plasma spray ^{5, 6} anodic oxidation, calcium phosphate or combinations of these treatments ⁶. This texturing induces platelets to release growth factors (PDGF) ⁷ and improves osteogênese^{8, 9}. The interface between bone and implant in the optical microscopic topography offers a better adhesion to the fibrin network, as well as specific properties of proteins through intercellular contribute to the organization of the adsorbed layer of proteins, and determine the nature of the cellular response to ¹⁰ implants. The molecules involved in cell adhesion and proliferation include extracellular matrix molecules, transmembrane receptors and components of the cytoskeleton. Among the plasma proteins fibronectin and vitronectin have been related to the promotion of cell adhesion and reorganization of actin microfilaments ^{11,12}. Human albumin has a high affinity for titanium¹³ protein and is a non-adhesive for osteoblasts ¹¹ which acts as a carrier for smaller proteins, lipids and maintainer buffer blood pH. The concentration of this protein in human plasma is about 100 times greater than that of fibronectin. Albumin was the first protein to arrive on the surface, due to its high concentration and its low molecular weight ¹⁴.

The combination of factors from plasma with titanium prior to local migration of cells is influenced by the surface energy which in turn is sensitive to roughness and topography of the implant ^{15,16,17}. The modification of the implant surface is important in the rate of bone apposition, since this change influences the surface energy and its "wettability (hydrophilicity)" ¹⁷. The hydrophilicity, a feature directly dependent on the energy surface, influences the level of contact of a biomaterial with cells present in the tissue where it is inserted. Thus, the increased hydrophilicity promotes greater interaction between the implants and biological environment around ¹⁸. Several studies have been conducted to try to explain the influence of surface energy of titanium on the behavior of cells ¹⁹. The most widely accepted theory is that these properties have a selective effect on the configuration and conformation of proteins that are adsorbed on the substrate, which are important for cell adhesion ²⁰⁻²³.

An alternative to these therapies are osteoinductive biochemical biophysical, such as mechanical, sonic and eléctricas¹⁶. The latter is applied in orthopedics and fracture treatment refractory or deficiency in the consolidation, and had its beginnings in 1841, with ²⁴ Hartshorne, who described a treatment for fractures by means of electric shock.

More than 100 years later, electrical stimulation was resumed by the description of potential "piezoelectric", generated by mechanical stress on the crystalline structure of bone ^{25,26}. Authors suggest that the stress in the crystalline components of bone produces a current that triggers a healing process ²⁶.

More recently, several authors ²⁷ have shown that electrical signals similar to those generated by the mechanisms of stress can improve the healing of the fracture. A central assumption in the application of physical forces such as those generated by electric potential is the regulation of cell signaling in bone formation, and the idea that these electric fields would be important in the repair process ²⁸. This study aimed to analyze, by measuring the removal torque, the osseointegration promoted by electrical stimulation in dental implants.

Materials and Methods

Ethical considerations

This study was submitted for review by the Ethics Committee on Animal Research of the Federal University of Santa Catarina, receiving approval from the opinion paragraph 114/CEUA/PRPe/2008

Samples

Were made of titanium implants with a diameter of 6 mm by 11.5 mm long with machined surface and sterilized by gamma rays.

Six male dogs Beagle, with approximately 12 months old, weighing about 15 kg, were used in this study. To perform the surgery, the animals were randomly divided into two groups rating of 7 and 15 days (3 animals per time), and each of its ends was installed a type of implants. Thus, the distribution of groups in relation to the type of variable is as follows:

Group 1: (7 days)

- A. Three implants fixture with 10 μ A.
- B. Three implants fixture with 20 μ A.
- C. Three implants without fixture.

Group 2: (15 days)

- A. Three implants fixture with 10 μ A.
- B. Three implants fixture with 20 μ A.
- C. Three implants without fixture.

Implants obeyed an order to place provided and established, with rotation of the groups in relation to the ends of the dog.

Anesthesia and Surgical Procedure

Prior to surgery, each dog was injected intramuscularly, atropine sulfate 0.50 mg (Atropinon ®, Hipolabor Pharmaceutical Ltda., Sabara, MG, Brazil) at a dose of 0.44 mg / kg. After 10 min, was applied Xylazine (Rompun ®, Bayer SA, São Paulo, SP, Brazil) at a dose of 3 mg / kg ketamine hydrochloride and 1.0 mg (Francotar ®, Virbac, Animal Health, São Paulo, SP, Brazil) at a dosage of 16 mg / kg, both intramuscularly in a single injection. Where necessary, there was enhanced anesthetic with half the dose parent. Was a longitudinal incision on the tibia to expose the underlying bone.

The implants were installed using cutters diameter series, under refrigeration for constant irrigation with saline at room temperature until it reaches the diameter of the implants. Attention then turned to the actual installation of the implants and fixtures for the different groups. The accessions were sutured in two plans, internally wired resorbable Vicryl 5.0 (Ethicon Vicryl ®, Johnson & Johnson-Sao Paulo-Brazil) and externally with nylon 4.0 (Somerville ® - Pernambuco-Brazil). The animals were induced to a painless death induced (MII) to your evaluation time by administering a lethal dose of sodium thiopental (Thionembutal ®). Followed immediately by measuring the removal torque through a torque meter.



Figure 1. Longitudinal incision made in the tibia of the dog.

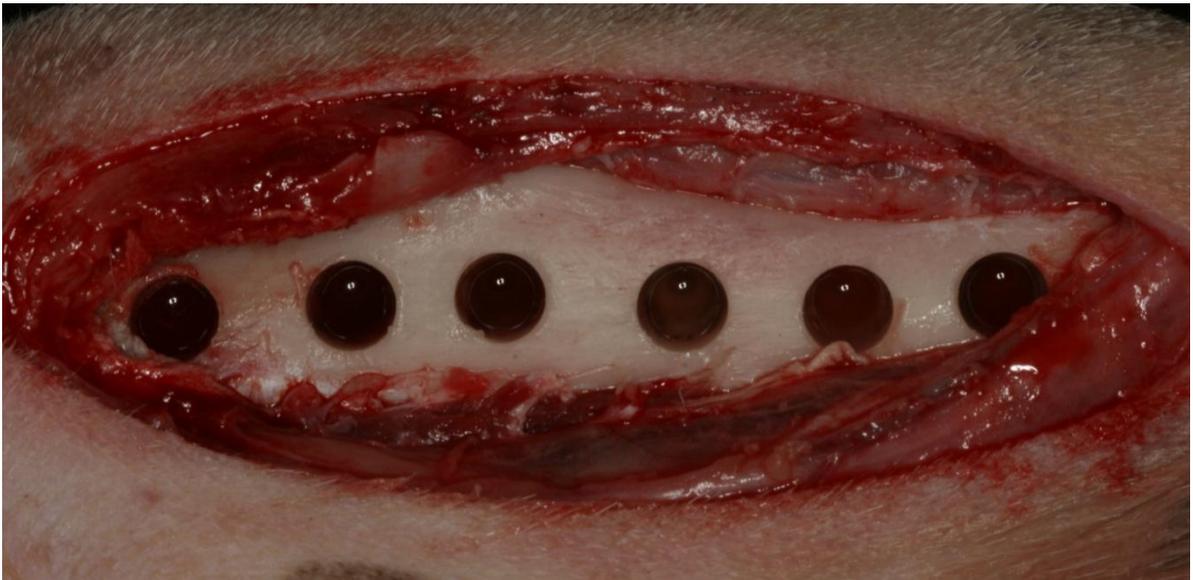


Figure 2. Sequence holes ready for placement of implants, the initial drilling is located on the far left of the figure.

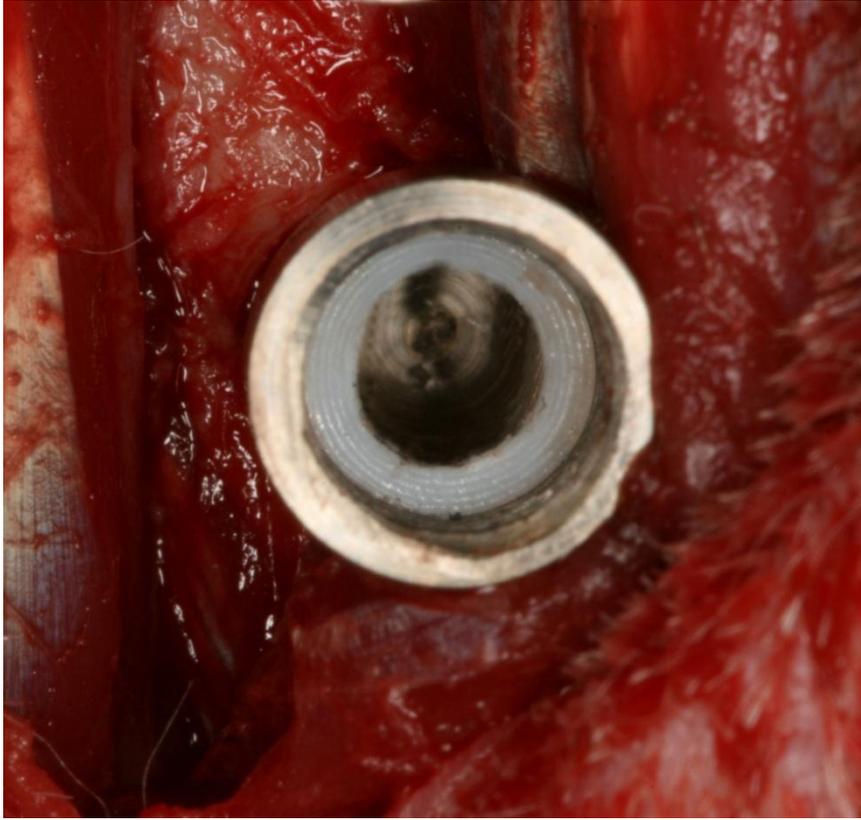


Figure 3. Implant placement.



Figure 4. Digital Torque Wrench (Mecmesin, Horsham).

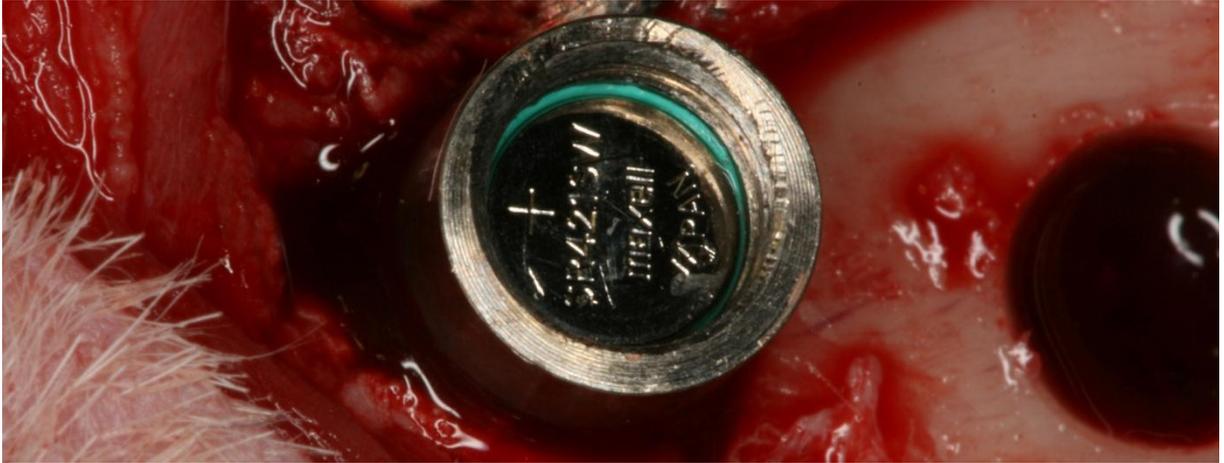


Figure 5. Fixture installed.



Figure 6. Implants installed with bolts coverage.

A.



B.



Figure 7. Closure of the surgical access of the periosteum (a) and skin (b)

Analysis of insertion torque and removal

Measured the insertion torque of implants of different groups by means of a digital torque wrench (Mecmesin Afti, Universal Indicator and Torque Sensors-UK) and data were recorded and tabulated for comparison. Timed assessment of 7 and 15 days post implant for each group, measured the removal torque of implants, which consists of a counter-torque applied to the implant to rupture of the implant-bone interface. The data from this measurement were recorded and tabulated in order to allow tabulation and statistical analysis.

Statistical Analysis

Data analysis was performed in Stata 9. For quantitative variables were described values of measures of central tendency and dispersion. To assess whether there were differences between the group means we used the ANOVA or t test. Their corresponding non-parametric (Kruskal-Wallis and Mann-Whitney, respectively) were applied when required because of the reduced sample. The level of significance to reject the null hypothesis was $p < 0.05$.

Results

1. Surgical procedure and measurement of insertion torque

No complications were observed signs of infection or other relevant complications during and after surgical procedures and / or experimental periods.

The measurement of insertion torque was held prior to the placement of fixtures, with the result that:

The average insertion time of 7 days was 90.02 (SD = 46.58), and the lowest insertion found between the groups was 0 and the maximum value of 182.00. (Table 1)

The average insertion time of 15 days was 95.25 (SD = 52.80), and the lowest insertion found between the groups was 3 and the maximum value of 189.40. (Table 1)

2. Analysis of measuring the removal torque

After a painless death induced, the implants were inspected visually and manually, and once determined the stability of all implants, they were intended to test the removal torque.

The average removal time of 7 days was 67.79 (SD = 44.36), while the lowest removal found between the groups was 4.10 and the maximum value of 131.60. (Table 1)

The average removal time of 15 days was 83.93 (SD = 41.87), while the lowest removal found between the groups was 23.00 and the maximum value of 163.40. (Table 1)

		TORQUE INSERT		REMOVAL TORQUE	
		Average	SD	Average	SD
Group 7 days	A	82,51	46,58	75,53	46,82
	B	80,80	43,71	69,77	33,06
	C	106,75	50,57	58,07	65,96
Group 15 days	A	115,18	49,74	123,10	36,00
	B	85,32	59,90	66,37	18,48
	C	81,26	47,81	62,33	43,72

Table 1. Measurements of the mean torque of insertion and removal of groups in different periods. A: fixture of 10 μ A. B: fixture 20 μ A. C: No fixture - control.

To test the relationship between two quantitative variables between groups was used to test correlation coefficient. (Table 2)

Group	Average	Average	P-Value
C7 vrs A7	75,5	58,1	0,727
C15 vrs A15	123,1	62,3	0,137
C7 vrs B7	69,8	58,1	0,797
C15 vrs A15	66,4	62,3	0,890
A7 vrs B7	75,5	69,8	0,870
A15 vrs B15	123,1	66,4	0,072

Table 2. Comparison between groups of removal torque, between 7 and 15 days. A: fixture of 10 μ A. B: fixture 20 μ A. C: No fixture - control.

Discussion

The initial stability can be translated as the torque value measured at the time of final settlement of the implant in the recipient bed, ie, the insertion torque is the result of frictional resistance between the threads of the screw and bone tissue and serves to evaluate the stability Primary^{29,30}. Measurements of insertion torque in this study were performed before the introduction of the fixtures inside the implants. This means that each value was determined only by the characteristics of the receptor (Table 1) since the design of the implant was the same for all groups.

The "n" reduced this work implies that it will observe statistical differences only if they are of greater magnitude, so as there were differences between groups would suggest a real difference. Therefore compared the relationship between the values of insertion torque and removal at different periods, there were no significant differences. Generally, the removal torques, in short-term studies are lower than the insertion torque of³¹. The removal torque values show higher after a follow-up of at least 4 weeks, during which happens to implant osseointegration^{32,33}.

The choice of periods was based on specific stages of bone healing in dogs correlated with rates of bone repair in humans³⁴. Bone remodeling can be divided into activation, resorption active, latency and training. Remodeling begins with an activation phase that lasts for hours or days, then performed bone resorption by osteoclasts. This period of resorption lasts for ten days in dogs and fourteen days in humans. The lag phase lasts one week in a dog and a man in two weeks or so. In this phase, the osteoclasts are replaced by osteoblasts began the phase of bone formation. The osteoid matrix reaches the surface of the implant in the fourth week in dogs and sixth in humans. After about two and a half months in dogs and three months in humans, the resulting resorption cavity is filled with bone tissue. Based on these parameters, the experimental periods chosen in this study were 0, 7, 15 days. Thus, the time of implant insertion corresponded to the 0. The 7 days correspond to periods of resorption, which in humans would require an intense cellular activity, there is a migration of new capillaries into the clot (angiogenesis), and 15 days that correspond to periods of resorption and latency phase of the cycle of bone remodeling, which in humans corresponds to a stage of coalescence of individual islands osteoid surface, causing the process to clinical implantation.

The acceleration of healing time by means of electrical stimulation in animal

studies is still controversial, this stimulation depends on the energy source and magnitude of electric current. Different sources of energy are used to produce different amps and can be external or internal. It is called internal energy source that which is within the device driver, in this case the titanium implant, unlike other studies, this study we tested the first time and magnitude of the electric current generated, enabling then be asserted constancy of the current throughout the experimental period.

The choice of amps was based on the literature, ^{35,36} have shown, through histological analysis, the magnitude of 10 μA to 20 μA promoted rapid bone formation in tibias and femurs of rabbits and dogs at different times of evaluation ^{37, 38}. The present study evaluated by means of removal torques between groups of 10 μA and 20 μA , at 7 and 15 days, noting the differences between the means and standard deviations, but not statistically significant. Another study by Song et al ³⁹ (2009) examined the effect of an electrical device connected to the dental implant with an amperage of 20 μA on the acceleration in bone formation through for two and five weeks. The findings showed an acceleration in bone formation around the implants, suggesting that the latency time of osseointegration may be reduced when using the electrical stimuli.

The literature contains few studies of the influence of electrical stimulation on the osseointegration by means of test implant removal, which is usually combined with histomorphometric parameters, such as the degree of bone-implant contact, bone density and volume.

This is the case study by Shafer et al ⁴⁰ (1995), which evaluated the effect of electrical stimulation by an external source with a magnitude of electric current of 7.5 μA , linked to two titanium implants (one test and a control) in the mandible of five rabbits. In considering the removal torque and the average percentage of bone adjacent to implants, there were no statistical differences. The authors concluded that the use of electricity does not have a positive effect on bone healing. Other studies evaluated by histological analysis, the effects of constant current delivered by an external power source, as the results were an increase in bone formation and increased bone-implant contact ^{41,42,43}.

Continuing this work, histological analysis will be carried out in order to reconcile the differences found in the literature

Conclusion

From the findings it can be concluded that electrical stimulation does not influence the removal torque.

APÊNDICES E ANEXOS

Revisão de Literatura

A eletricidade aplicada a medicina teve seu início em 1841, com Hartshorne, que descreveu um tratamento para as fraturas por meio de choques elétricos.

Lente, em 1850, descreve três casos de deficiência da cicatrização de fraturas sendo tratadas com corrente galvânica.

Mais de 100 anos depois, a estimulação elétrica foi recobrada pela descoberta dos potenciais “piezos elétricos”, gerados pelo estresse mecânico sobre a estrutura cristalina do osso. Fukada e Yasuda sugeriram que o stress nos componentes cristalinos do osso produz uma corrente que desencadeia um processo de cicatrização. Yasuda demonstrou que sinais elétricos similares aos gerados pelos mecanismos de stress podem melhorar a cicatrização da fratura.

A hipótese central na aplicação de forças físicas como as geradas por potenciais elétricos pode ser a regulação de sinais pelos processos celulares na formação do osso. A idéia que esses campos elétricos podem ser importantes no processo de reparo foi descrita em 1960 por Bassett e Becker.

Em 1981 Brighton e colaboradores, demonstraram que uma estimulação de corrente contínua direta (CD) no tratamento de fraturas por meio anodo e catodo, em diferentes amperagens, diminui o pO_2 e aumenta o pH e a vascularização *in situ* o qual favorece a formação óssea, por meio de um aumento de proteoglicanas e síntese de colágeno.

Buch , Albrektsson , Herb , em estudos realizados em animais, na década dos oitenta, avaliaram a influência da estimulação de corrente em implantes dentários com diferentes amperagens, encontrando maior quantificação de formação óssea nos implantes que foram estimulados eletricamente.

Aro H. e cols. e Koreinstein R. e cols. no ano 1984, assim com Frienderberg e cols. no ano 1989, em estudos *in vitro* demonstraram que a estimulação elétrica favoreceu a proliferação de células, incrementando a liberação de prostanglandina E e a síntese de matriz extracelular, como o colágeno.

Matsunaga, no ano 1986, em um estudo histológico e histoquímico da corrente contínua estimulando o calo intramedular, reportou que a estimulação elétrica induz a indiferenciação das células mesenquimais da medula óssea que se proliferam e se diferenciam em osteoblastos.

Rubinacci e colaboradores no ano 1988 avaliaram as alterações ocorridas pelos potenciais elétricos no osso durante e depois da estimulação elétrica e sugeriram a existência de uma relação entre os potenciais bioelétricos, a corrente contínua e a osteogênese.

No ano de 1995 Shafer e colaboradores estudaram o efeito da estimulação elétrica com uma amperagem baixa de corrente direta, na osseointegração dos implantes de titânio em um estudo em animais. Os autores relatam que essa estimulação não teve um efeito positivo na cicatrização óssea.

Shigino e cols., no ano 2000, realizaram uma avaliação do efeito da aplicação do estímulo da eletricidade na melhora da osteogênese utilizando implantes dentais . Com uma aplicação diária de estímulos elétricos por 14, 21 e 30 dias e um grupo controle por 90 dias, os grupos teste tiveram um incremento significativo no contato de osso em relação ao grupo controle .

Os mesmos pesquisadores ³³ no ano 2001 avaliaram os efeitos da estimulação elétrica na osteogênese seguida por uma carga funcional dos implantes dentários. Os autores relatam que a estimulação promove a osteogênese o qual sugere um período mais curto de osseointegração. Entre tanto, o estímulo incrementa a área de osso, mas não necessariamente a área de contato osso/implante.

Kaynak e cols. no ano 2005, examinaram histomorfologicamente a aplicação de estímulos elétricos como um método potencial de reconstruir defeitos ósseos, assim como também sugere um efeito favorável na regeneração dos tecidos periodontais.

Shayesteh e cols. no ano 2007, examinaram os efeitos de uma corrente constante emitidos por um gerador colocado mucoperiosteal sobre os implantes durante 90 dias em animais. O resultado histológico da pesquisa sugere que existe um maior contato de osso sobre os implantes com corrente elétrica ($p=0.001$) em comparação com o grupo controle. Concluindo que a utilização de eletricidade em implantes dentários pode incrementar a formação de osso e diminuir o tempo de osseointegração.

Giannunzio e cols. no ano 2008, avaliaram o efeito de um campo elétrico utilizando um gerador nas extremidades dos ratos, provocando estímulos com um gerador os autores relataram uma intensificação no volumem de osso lamelar, do implante e do osso entrelaçado ao redor do implante.

Song e cols. no ano 2009 avaliaram o efeito sobre a aceleração na formação óssea por meio de um dispositivo eletrônico ligado com o implante dentário com diferentes tempos e amperagens. Os resultados mostram uma aceleração de formação óssea ao redor dos implantes, sugerindo que o tempo de latência de osseointegração em implantes dentários pode ser reduzida quando são utilizados os estímulos elétricos. Desta maneira, a utilização de eletricidade em implantes dentários pode potencializar a formação óssea e diminuir o tempo necessário para que haja osseointegração.

Segundo a literatura apresentada e pelos resultados anteriormente mencionados pode se imaginar que a associação dos implantes dentários de titânio e a estimulação óssea por meio da eletricidade é uma alternativa para se obter uma cicatrização mais rápida nos implantes dentários e se obter um índice de sucesso maior nesses tratamentos.

Referencias:

1. Hartshorne E: On the causes and treatment of pseudarthrosis and especially the form of it sometimes called supernumerary joint. *Am J Med* 1841;1: 121-156.
2. Lente RW: Cases of un-united fracture treated by electricity. *New York State J Med* 1850;5:317-319.
3. Fukada E, Yasuda I: On the piezoelectric effect of bone. *J Phys Soc Japan* 1957. 12:1158-1162.
4. Yasuda I. [Fundamental aspects of fracture treatment]. *J Kyoto Med Soc.* 1953.4:395-406.
5. Bassett CAL, Becker RO. Generation of electric potentials by bone in response to mechanical stress. *Science* 1962.137: 1063-1064.
6. Brighton CT, Black J, Friedenberg ZB, Esterhai JL, Day LJ, Connolly JF: A multicenter. Study of the treatment of nonunion with constant direct current. *J Bone Joint Surg Am* 1981;63:2-13.
7. Buch F, Albrektsson T, Herbs T. Direct current influence on bone formation in titanium implants. Abstract. Biomaterials. 1984 Nov;5(6):341-6.
8. Buch F, Albrektsson T, Herbs T. The Bone Chamber for quantification of Electrically Induced Osteogenesis. *J Orthop Res.* 1986;4(2):194-203.
9. H. Aro, E. Eerola, A.J. Aho, R. Penttinen, Electrostimulation of rat callus cells and human lymphocytes in vitro, *J Orthop. Res.* 2 (1984) 23–31.
- 10.R. Korenstein, D. Somjen, H. Fischler, I. Binderman, Capacitative pulsedelectric stimulation of bone cells. Induction of cyclic-AMP changes and DNA synthesis, *Biochim. Biophys. Acta* 803 (1984) 302–307.
11. Z.B. Friedenberg, C.T. Brighton, J.D. Michelson, J. Bednar, R. Schmidt, T. Brockmeyer, The effects of demineralized bone matrix and direct current on an “in vivo” culture of bone marrow cells, *J. Orthop. Res.* 7 (1989) 22–27.
12. Matsunaga S: Histological and histochemical investigations of constant direct current stimulated intramedullary callus. *J Jpn Orthop Ass* 1986,60: 1293-1303.

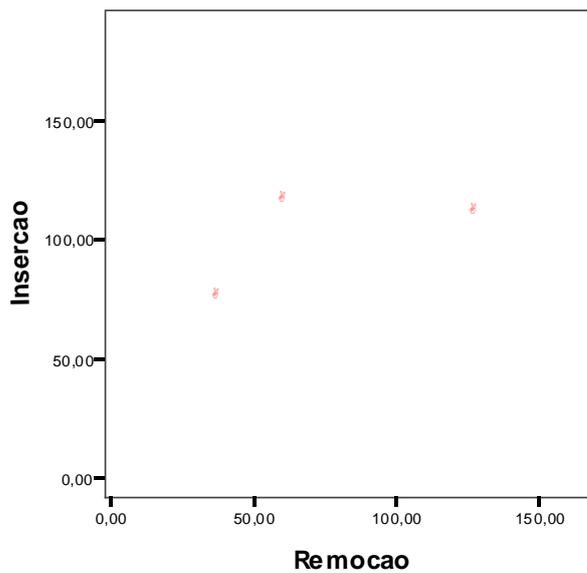
13. Alessandro Rubinacci, Jonathan Black, Carl T. Brighton, Zachary B. FriedenberG. Changes in Bioelectric Potentials on Bone Associated with Direct current Stimulation of Osteogenesis. *Journal Orthopaedic Research* 1988 6:335 – 345.
14. David M. Shafer, Keith Rogerson, Louis Norton, Jeffrey Benneth. The Effect of Electrical Perturbation on Osseointegration of Titanium Dental Implants: A Preliminary Study. *J Oral Maxillofacial Surgery* 1995, 53:1063 – 1068.
15. Takahiro Shigino, Morio Ochio, Hiroyuki Sakaguchi, Kunihiko SaKaguchi, Osamuda Nakade. Application of Capacitevely Coupled Electric Field Enhances Periimplant Osteogenesis in the Dog Mandibule. *Int J Prosthodontic* 2000,13:365-372.
16. Takahiro Shigino, Morio Ochi, Yukito Hirose, Hiroshi Hirayama, Kunihiko Sakaguchi, Enhancing Osseointegration by Capacitively Coupled Electric Field: A Pilot Study on Early Occlusal Loading in the Dog Mandiblev. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:841–850.
17. Deniz Kaynak, Roland Meffert, Meral Günhan, Ömer Günhan. A Histopatologic Investigation On the effects of Electrical Stimulation On Periodontal Tissues Regeneration in Experimental Bony Defects in Dogs. *J Periodontolgy* 2005;76:2194 – 2204.
18. Yadollah Soleymani Shayesteh, Behnam Eslami, Mohammad Mehdi Dehghan, Hamed Vaziri, Marzyeh Alikhassi, Amir Mangoli, Arash Khojasteh. The Effect of a Constant Electrical Field on Osseointegration after Immediate Implantation in Dog Mandibles: A Preliminary Study. *Journal of Prosthodontics* 2007, Jun 9.
19. Graciela Ana Giannunzio, Rodolfo Carlos Speerli, María Beatriz Guglielmotti, Electrical Field Effect on Peri-Implant Osteogenesis: A Histologic and Histomorphometric Study. *Implant Dentistry* 2008, V 17(1).
20. Jong K. Song, Tae H. Cho, Hui Pan, Yoon M. Song, In S. Kim, Tae H. Lee, Soon J. Hwang, Sung J. Kim. An Electronic Device for Accelerating BoneFormation inTissues Surrounding a Dental Implant. *Bioelectromagnetics* 2009,30:374-384.

ANÁLISE Estatístico

Para testar a relação entre duas variáveis quantitativas (intra-grupo) foi utilizado o teste de correlação de Spearman.

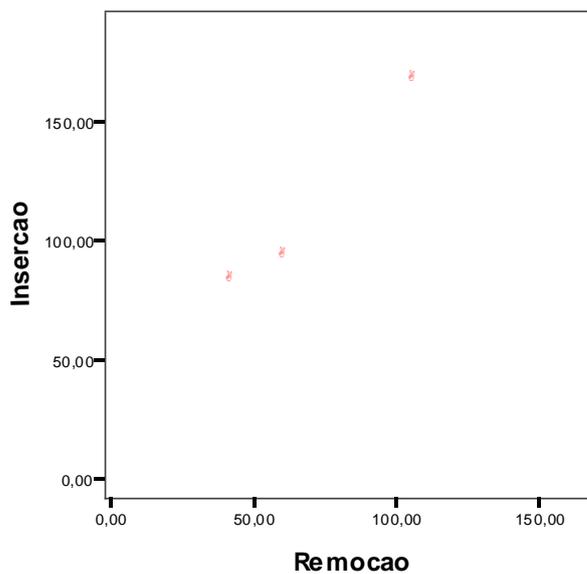
Há relação entre os valores de inserção e remoção no grupo A7 (10 μ A)?

Não (p -valor=0,667)



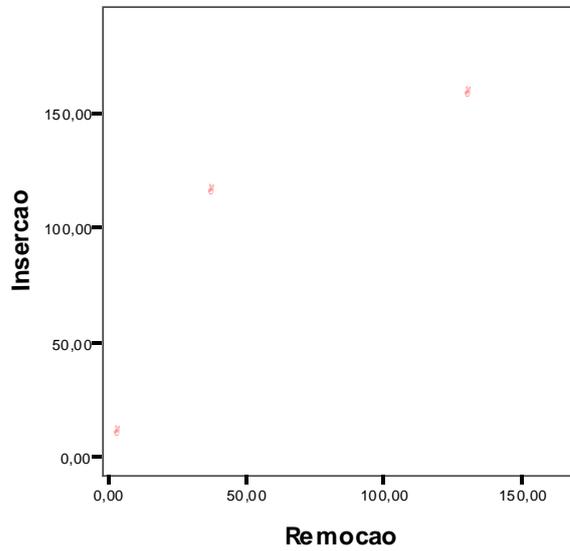
Há relação entre os valores de inserção e remoção no grupo B7 (20 μ A)?

Sim ($p < 0,01$)



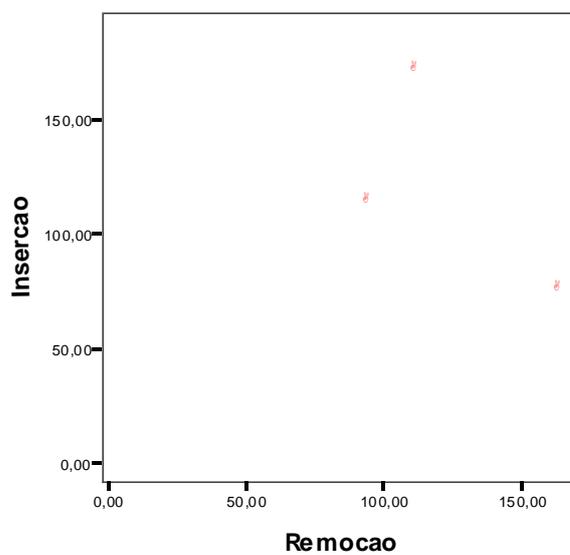
Há relação entre os valores de inserção e remoção no grupo controle (C7)?

Sim ($p < 0,01$)



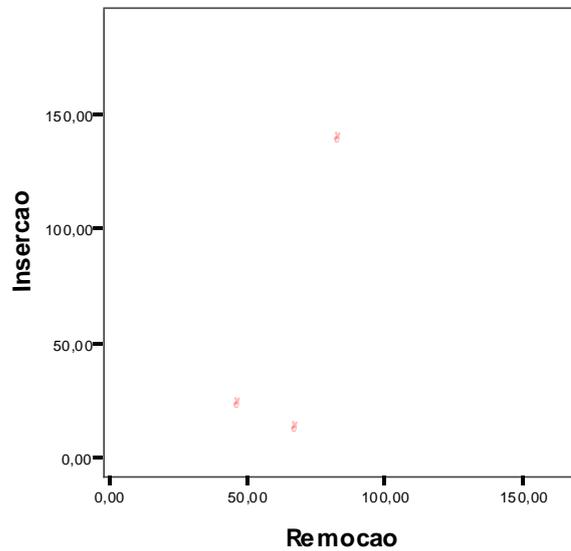
Há relação entre os valores de inserção e remoção no grupo A15 (10 μ A)?

Não ($p\text{-valor}=0,667$)



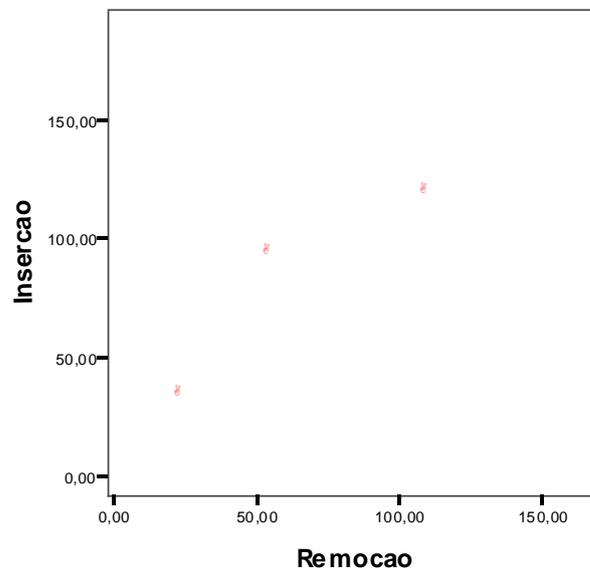
Há relação entre os valores de inserção e remoção no grupo B15 (20 μ A)?

Não (p-valor=0,667)



Há relação entre os valores de inserção e remoção no grupo controle (C15)?

Sim (p-valor<0,01)



Um aspecto muito importante que deve ser ressaltado é o baixo n, sobretudo nos dados de remoção. Do ponto de vista estatístico, deve ser assumido como uma limitação.

Para testar a relação entre duas variáveis quantitativas (entre-grupos) foi utilizado o teste de correlação de Spearman.

Grupo	Media	Media	Valor- P
C7 vrs A7	75,5	58,1	0,727
C15 vrs A15	123,1	62,3	0,137
C7 vrs B7	69,8	58,1	0,797
C15 vrs A15	66,4	62,3	0,890
A7 vrs B7	75,5	69,8	0,870
A15 vrs B15	123,1	66,4	0,072

Tabela 2. Comparação entre os grupos do torque de remoção, no período de 7 e 15 dias. A: dispositivo elétrico de 10 μ A. B: dispositivo elétrico 20 μ A. C: sem dispositivo elétrico – controle.

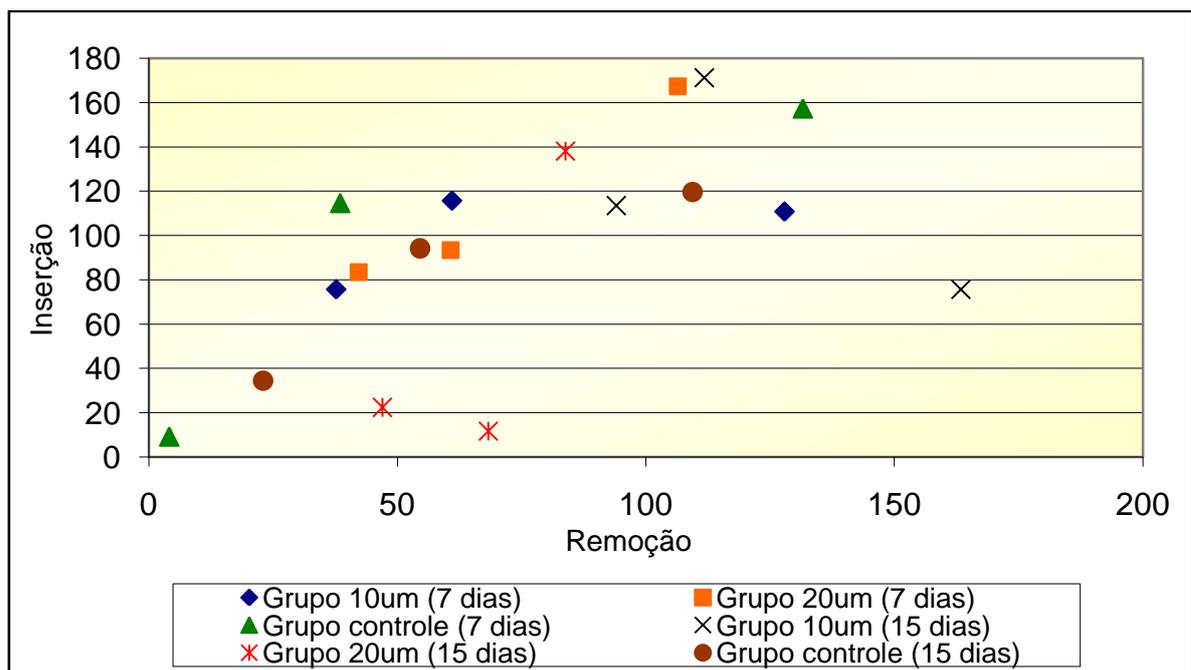


Gráfico. Comparação dos torques de remoção. A: dispositivo elétrico de 10 μ A. B: dispositivo elétrico 20 μ A. C: sem dispositivo elétrico – controle.

Aprovação do Comitê de Ética em Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Resultado de Solicitação de Protocolo

Protocolo

PP00205

Título

Aumento da osteogênese por estimulação elétrica gerada em implantes dentários de titânio, através da agregação de placas SMD.

Data de Entrada

20/04/2008

Resultado:

Aprovado

Data/Prazo

05/09/2008

Considerações

Ofício nº 114/CEUA/PRPe/2008

Do: Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA

Ao(à): Prof(a) Dr(a) Ricardo de Souza Magini, Departamento de Estomatologia - CCS

Prezado(a) Professor(a),

Em relação ao protocolo de pesquisa sob sua responsabilidade a CEUA deliberou o seguinte:

- APROVADO, por 2 (dois) anos, para a utilização de 6 cães (Canis familiaris).

Por ocasião do término desse protocolo, DEVERÁ SER APRESENTADO RELATÓRIO detalhado relacionando o uso de animais no Projeto desenvolvido aos resultados obtidos, conforme formulário ON LINE CEUA.

Atenciosamente,

Relatório Final previsto para (90 dias após término da vigência do protocolo ou no momento da apresentação de um novo protocolo)

Data 05/12/2010

Data 10/09/2008

Parecer(es):



Prof. Assoc. Carlos Rogério Tonussi, D.Sc.
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – PRPE – UFSC
PRESIDENTE

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)