

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

RAFAEL MANSANO DE CASTRO LARA

**Efeitos do tratamento químico na descontaminação de superfícies
de implantes metálicos. Estudo microscópico em subcutâneos de
ratos**

BAURU
2012

RAFAEL MANSANO DE CASTRO LARA

Efeitos do tratamento químico na descontaminação de superfícies de implantes metálicos. Estudo microscópico em subcutâneos de ratos

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Gregghi

BAURU
2012

L32e Lara, Rafael Mansano de Castro
Efeitos do tratamento químico na descontaminação
de superfícies de implantes metálicos. Estudo
microscópico em subcutâneos de ratos / Rafael Mansano
de Castro Lara. – Bauru, 2011.
112 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia
de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Greghi

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos
fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 011/2009 e 061/2009
Data: 17/07/2009 e 15/05/2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação:

Aos meus pais Valter e Maria do Carmo, os quais sempre me apoiaram e incentivaram em todos os momentos, principalmente nos de dificuldades.

À Franciele por te dado força para que eu conseguisse terminar mais esta etapa, por ter ajudado nas correções, pelas cobranças e prazos, pois só assim consegui finalizar mais esta etapa e principalmente, por estar sempre ao meu lado.

Ao meu irmão Leandro pelo exemplo de profissional e por suas visitas frequentes que sempre me deixaram muito mais feliz por estar sempre por perto.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Sebastião Luiz Aguiar Gregghí, primeiramente pelo convívio durante todos os anos de graduação e pós-graduação e pelos ensinamentos que adquiri durante este período, agradeço a paciência durante a execução da pesquisa e decorrer do mestrado, por sempre tentar solucionar os problemas enfrentados durante este período.

À Professora Maria Lúcia Rubo de Rezende por todos os ensinamentos, pelo convívio e principalmente pela ajuda neste projeto que finalizo hoje. Aos professores Euloir Passanezi, Adriana Campos Passanezi Sant'Ana e Carla Andreotti Damante pelo convívio diário que tivemos, pela amizade, apoio e pela grande bagagem de ensinamentos que me foi passada durante a graduação e pós-graduação, que me fez crescer muito profissionalmente.

Ao Professor Gérson Francisco de Assis pela ajuda fundamental na parte histológica e por ter permitido utilizar os equipamentos necessários para finalizar minha pesquisa.

Ao Professor Carlos Ferreira dos Santos pela confiança e apoio nos momentos em que precisei, não medindo esforços para me ajudar.

Ao Professor Heitor Marques Honório agradeço pela ajuda na análise estatística.

Aos meus pais Valter da Silva Lara e Maria do Carmo Mansano Garcia Lara por terem depositado em mim total confiança durante os meus anos de estudo, pois sei que não foi fácil para eles.

À Franciele Salazar Somensi, pelo apoio, pelo carinho e por ter pegado no meu pé durante a fase final deste trabalho, pelas correções principalmente em relação ao português. Gostaria de agradecer ainda por tudo que você faz por mim, fazendo-me uma pessoa mais feliz por estar ao teu lado.

Ao meu irmão Leandro Lara, que esteve sempre presente, em constantes finais de semanas, e pelo apoio e confiança depositados em mim.

À minha amiga de faculdade, estágio e mestrado Mônica Garcia Ribeiro pela amizade que só aumentou nestes anos de mestrado, da qual sinto falta agora que estou distante.

À Roberta Santos Domingues por todo apoio e amizade que recebi e espero tê-los sempre. Obrigado por tudo.

À Dani Somensi pelo ótimo convívio e amizade que criamos durante esses 3 anos, obrigado por se preocupar comigo e por se estressar com as minhas dificuldades encontradas.

Gostaria de agradecer também ao Álvaro Galassi pela amizade e pelos ótimos finais de semanas que passamos juntos.

Aos meus amigos Bruna Centurion e Otávio Pagin pelo convívio, pelos momentos de descontração nas aulas do ciclo básico e principalmente pela amizade.

Aos meus colegas de pós-graduação Carlos Federico, Bruna Ferraz, Pedro Coesta e Renata Blagitz pelo convívio e conselhos.

Ao meu amigo Eduardo Noel, por tudo que fez para me ajudar durante o mestrado, pelos ensinamentos e pela amizade.

Aos meus amigos Leandro Lima e Felipe Ferreira que estiveram sempre por perto, sei que o motivo da visitas não era eu, mas mesmo assim eu as agradeço.

Ao Marcus Vinícius Leon Laurenti (O Marcola) pela amizade e pelo convívio durante esses 8 anos que moramos juntos, o que só fez crescer uma amizade que é de longa data.

Ao meu amigo Thiago Ceara, que esteve sempre presente durante toda a minha graduação e pós-graduação. À Mônica Lobo pela amizade que somente cresceu durante estes anos, e por todo sofrimento que passamos juntos, minha “irmã de armas”.

Aos ex-estagiários Bruno Nicolielo, Guilherme Moreira, Camila Moraes, Fabíola Azevedo, Maria Alejandra, Paula Karam e Paula Jacintho pelo ótimo convívio que tivemos e por deixarem a clínica de periodontia sempre mais animada.

Aos meus amigos Beto e Alex pela amizade durante todos esses anos.

À Ivânia Komatsu da Costa Arruda pela amizade, acredito que será para sempre; por toda ajuda na clínica, no departamento e na minha dissertação, você é indispensável neste departamento.

À Edilaine Torrecilha pelo apoio, ajuda e amizade. Ao Marcos Godoy pelo convívio diário.

Ao Carlos Eduardo Repeke pela ajuda fundamental em momentos de dificuldades que encontrei na finalização do meu trabalho e principalmente pela amizade.

À Denise Maria Regiani pela grande amizade que somente cresceu e me fez muito bem.

Aos funcionários da histologia pelo convívio e pela imensa ajuda, obrigado por tudo Dani, Paty e Tânia.

Aos funcionários do biotério por toda ajuda e atenção.

A todos os alunos de graduação que tive o prazer de conviver durante estes anos, principalmente à turma XLVI.

A todos os pacientes que atendi, pois somente através deles pude crescer profissional e humanamente.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo, na pessoa do seu diretor Prof. Dr. José Carlos Pereira, pelo apoio institucional.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo pelo apoio financeiro através da bolsa de mestrado.

É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.

Theodore Roosevelt

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento químico com ácido cítrico, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico em discos de titânio de superfícies lisas e rugosas, após serem contaminados por biofilme bacteriano humano, e inseridos no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Utilizou-se 180 discos de titânio, sendo 90 lisos e 90 rugosos, que foram colocados em 19 placas de acrílico utilizadas por voluntários durante 7 dias. Estes discos foram divididos em 12 grupos contendo 15 discos cada um: Grupo 1_L: 15 discos lisos tratados com ácido cítrico; Grupo 1_R: 15 discos rugosos tratados com ácido cítrico; Grupo 2_L: 15 discos lisos tratados com tetraciclina ácida; Grupo 2_R: 15 discos rugosos tratados com tetraciclina ácida; Grupo 3_L: 15 discos lisos tratados com EDTA; Grupo 3_R: 15 discos rugosos tratados com EDTA; Grupo 4_L: 15 discos lisos tratados com ácido fosfórico; Grupo 4_R: 15 discos rugosos tratados com ácido fosfórico; Grupo C_L: 15 discos lisos que não receberam descontaminação (controle positivo liso); Grupo C_R: 15 discos rugosos que não receberam descontaminação (controle positivo rugoso); Grupo E_L: 15 discos lisos que não foram contaminados (controle negativo liso) e Grupo E_R: 15 discos rugosos que não foram contaminados (controle negativo rugoso). Estes discos foram implantados no subcutâneo de ratos, os quais foram sacrificados após 7, 28 ou 84 dias. Foi realizada a avaliação microscópica descritiva e quantitativa do tecido conjuntivo formado nestes ratos. Foram avaliadas as médias das espessuras das cápsulas, a densidade de fibroblastos e de neutrófilos nos 3 períodos de tempo. Os resultados mostraram diferença na densidade de neutrófilos principalmente aos 7 dias e o ácido fosfórico mostrou os melhores resultados neste período, e ao final de 84 dias todos os tratamentos apresentaram resultados similares inclusive com relação ao grupo controle contaminado. Com relação à rugosidade os discos de superfícies lisas, apresentaram menor média na espessura da cápsula comparando-se com os discos de superfícies rugosas, talvez demonstrando um aspecto de maior biocompatibilidade da superfície lisa após receber o tratamento de descontaminação, o que sugeriria maior efetividade na descontaminação dos protótipos lisos.

Palavras-chave: Descontaminação. Implante dentário. Tetraciclina. Ácido cítrico. EDTA.

ABSTRACT

Effects of chemical treatment of surfaces in decontamination of metallic implants. Microscopic study in subcutaneous rats

The purpose of this investigation was to evaluate the effects of treatment with citric acid, tetracycline, EDTA and phosphoric acid in titanium disks in smooth and roughened surfaces contaminated by bacterial biofilms in the connective tissue of rats. One hundred eighty titanium disks were used; 90 smooth surfaces and 90 roughened titanium surfaces, which were placed in 19 acrylic plates that were used by volunteers for 7 days. These disks were divided into 12 groups containing 15 disks each; Group 1_L: 15 smooth disks were treated with citric acid; Group 1_R: 15 roughened disks were treated with citric acid; Group 2_L: 15 smooth disks were treated with tetracycline acid; Group 2_R: 15 roughened disks were treated with tetracycline rough acid; Group 3_L: 15 smooth disks were treated with EDTA; Group 3_R: 15 roughened disks were treated with EDTA; Group 4_L: 15 smooth disks were treated with phosphoric acid; Group 4_R: 15 roughened disks were treated with phosphoric acid; Group C_L: 15 smooth disks received no decontamination (smooth positive control); C_R: 15 roughened disks did not receive decontamination (roughened positive control); E_L: 15 smooth disks were not infected (smooth negative control) and E_R: 15 roughened disks were not infected (roughened negative control). These disks were implanted subcutaneously in rats that were sacrificed after 7, 28 or 84 days. A descriptive and quantitative microscopic evaluation was performed. The average thickness of the capsules and the density of fibroblasts and neutrophils in three time periods were evaluated. The results showed differences in the density of neutrophils mainly at 7 days and phosphoric acid showed the best results in this period, and at the end of 84 days, all treatments showed similar results even with the control group infected. In relation to the roughness, the smooth disks had a lower average capsule thickness compared with roughened disks, perhaps demonstrating an aspect of greater biocompatibility smooth surface, which would suggest greater effectiveness in decontamination of smooth disks.

Key words: Descontamination. Dental Implantation. Tetracycline. Citric Acid. Edetic Acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Foto da disposição dos discos de titânio no dispositivo acrílico palatino removível.....	44
Figura 2 -	1 Tratamento com ácido cítrico com tetraciclina; 2 Tratamento com tetraciclina; 3 Tratamento com EDTA; 4 Tratamento com ácido fosfórico.....	46
Figura 3 -	Cirurgia dos ratos. A- Após a tricotomia; B – Incisão; C – Divulsão; D – Disco de titânio após ter recebido tratamento; E – Disco colocado no animal; F – Sutura.....	49
Figura 4 -	Aspectos microscópicos do tecido conjuntivo. Grupo 1	57
Figura 5 -	Aspectos microscópicos do tecido conjuntivo. Grupo 2	59
Figura 6 -	Aspectos microscópicos do tecido conjuntivo. Grupo 3	61
Figura 7 -	Aspectos microscópicos do tecido conjuntivo. Grupo 4	63
Figura 8 -	Aspectos microscópicos do tecido conjuntivo. Grupo controle contaminado	65
Figura 9 -	Aspectos microscópicos do tecido conjuntivo. Grupo controle estéril.....	67
Figura 10 -	Médias das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos, obtidas em μm nos períodos de 7, 28 e 84 dias.....	71
Figura 11 -	Médias da densidade de fibroblastos/área (μm^2), nos períodos de 7, 28 e 84 dias.....	76
Figura 12 -	Médias da densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias e seus respectivos desvios-padrão das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos obtidas em μm , nos períodos de 7, 28 e 84 dias.....	69
Tabela 2 - Diferenças médias das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos, obtidas em μm nos períodos comparativos de 7° para 28°, 7° para 84° e de 28° para 84° dias	72
Tabela 3 - Médias e seus respectivos desvios-padrão das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos, obtidas em μm nos períodos de 7, 28 e 84 dias, considerando a rugosidade; lisos (L) e rugosos (R)	73
Tabela 4 - Médias e seus respectivos desvios-padrão da densidade de fibroblasto/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias.....	74
Tabela 5 - Diferenças nas médias das densidades de fibroblastos/área (μm^2), nos períodos comparativos de 7° para 28°, 7° para 84° e de 28° para 84° dias.....	77
Tabela 6 - Médias e seus respectivos desvios-padrão da densidade de fibroblasto/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias, considerando a rugosidade; lisos (L) e rugosos (R).....	78
Tabela 7 - Médias e seus respectivos desvios-padrão da densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias.....	79
Tabela 8 - Diferenças nas médias das densidades de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos comparativos de 7° para 28°, 7° para 84° e de 28° para 84° dias.....	81
Tabela 9 - Médias e seus respectivos desvios-padrão densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias, considerando a rugosidade; lisos (L) e rugosos (R)	82

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1	Tecidos moles peri-implantares.....	25
2.2	Peri-implantite	27
2.3	Tratamento da peri-implantite.....	29
3	PROPOSIÇÃO	39
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVAS (AMOSTRAS)	43
4.2	CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS	43
4.3	DESCONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS	44
4.3.1	Tratamento 1: Ácido Cítrico com Tetraciclina.....	44
4.3.2	Tratamento 2: Tetraciclina.....	45
4.3.3	Tratamento 3: EDTA	45
4.3.4	Tratamento 4: Ácido Fosfórico	45
4.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS	46
4.5	CIRURGIA DE IMPLANTAÇÃO EM TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO DE RATOS	48
4.6	ANÁLISE MICROSCÓPICA	50
4.6.1	Análise microscópica descritiva.....	50
4.6.2	Análise microscópica quantitativa	50
4.6.3	Casualização dos Campos.....	51
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
4.7.1	Análise estatística para a análise quantitativa.....	51
5	RESULTADOS	55
5.1	ANÁLISE HISTOLÓGICA	55
5.1.1	Infiltrado inflamatório	55
5.1.2	Fibroblastos e fibras colágenas.....	56
5.2	ANÁLISE MORFOMÉTRICA	69
6	DISCUSSÃO	85
7	CONCLUSÃO	99
	REFERÊNCIAS	103

Introdução

I INTRODUÇÃO

O número reduzido de falhas e a longevidade das reabilitações implanto-suportadas tem aumentado a sua utilização nos últimos tempos. Conseqüentemente, o sucesso atribuído aos implantes tem oferecido confiabilidade na sua indicação como tratamento de eleição na reabilitação protética de um ou mais elementos dentários. Vale ressaltar que a utilização dos implantes como ferramenta clínica apenas se tornou possível através da descoberta inicial da osseointegração entre implantes de titânio e o tecido ósseo (Branemark, 1987).

O sucesso do tratamento reabilitador sobre implante é medido por um conjunto de parâmetros clínicos e radiográficos. Entre eles os mais considerados são:

- Ausência de mobilidade; os implantes quando testados individualmente devem apresentar-se imóveis clinicamente;
- Ausência de radiolucidez peri-implantar quando avaliado radiograficamente;
- A perda óssea vertical peri-implantar deve ser inferior a 0,2mm por ano, após o primeiro ano de ativação;
- Ausência de sinais e sintomas como dor, desconforto, infecção, neuropatias e parestesias;
- E ausência de comprometimento de estruturas anatômicas nobres, como canal mandibular.

A partir destes critérios, Albrektsson et al. (1986) relataram uma taxa de sucesso de 85% ao fim de 5 anos e de 80% ao final de 10 anos.

Muitos fatores devem ser levados em consideração no sucesso da implantodontia, um aspecto importante é o fato do paciente apresentar-se totalmente ou parcialmente desdentado. A periodontite e a peri-implantite apresentam os mesmos patógenos, estes patógenos periodontais, presentes em áreas doentes,

podem migrar para os sulcos peri-implantares em pacientes parcialmente desdentados, portanto, é necessário tratamento periodontal prévio à instalação de implantes osseointegrados (Ong et al., 2008).

As falhas podem ser motivadas por fatores como o excesso de carga colocada sobre um implante e a peri-implantite. Um grande número de estudos mostram que os microorganismos anaeróbios presentes na placa bacteriana encontrada nos tecidos peri-implantares desempenham um importante fator causal da peri-implantite. A deposição de placa bacteriana aumenta os sinais de inflamação ao redor dos implantes, assim como causa maior perda óssea em pacientes que apresentam pobre higiene oral; sendo assim, o nível de higiene oral tem um impacto direto no sucesso da terapia com implantes. A utilização de antimicrobianos em pacientes que possuíam algum grau de inflamação tecidual peri-implantar melhorou os parâmetros clínicos (Mombelli; Lang, 1998).

Implantes osseointegrados mantêm íntimo contato com dois ambientes: interno, em contato com o osso e os tecidos moles; e externo, em contato com a cavidade oral (Donley; Gillette, 1991). Esta situação enfatiza a necessidade de estabelecer quais são os mecanismos de formação da placa ao redor dos implantes, pois a presença da placa pode causar a peri-implantite (Gould et al., 1981; van Steenberghe, 1988).

No ano de 1994, no primeiro Workshop Europeu em Periodontia, foram definidos os termos: doença peri-implantar, como sendo um termo coletivo para processos inflamatórios que acometem os tecidos que circundam os implantes; mucosite peri-implantar, definida como um processo inflamatório reversível nos tecidos moles que circundam o implante em função e, a peri-implantite, definida como um processo inflamatório caracterizado por perda óssea adicional no osso de suporte peri-implantar (Albrektsson; Isidor, 1994).

A peri-implantite e a mucosite são termos que se referem às complicações ligadas aos implantes, sendo a mucosite uma inflamação que ocorre no tecido mole peri-implantar, porém não se estendendo ao tecido ósseo (Jovanovic et al., 1993). A mucosite tem um prevalência de 8-44% (Adell et al. 1986) nos pacientes reabilitados

com implantes, podendo apresentar-se como forma hiperplásica em 7% (Adell et al., 1986).

A ocorrência da peri-implantite depende de diversos fatores individuais que variam de paciente para paciente, por isso é relevante verificar se os pacientes com aumento na susceptibilidade à periodontite teriam também aumento na susceptibilidade à peri-implantite, podendo levar à perda do implante, o que diminuiria assim a sobrevivência ou a taxa de sucesso dos implantes. Isso se torna relevante uma vez que a periodontite é uma das principais causas de perda de dentes e, com a crescente utilização dos implantes dentários na substituição de dentes perdidos, a história passada de periodontite pode ser levada em consideração como um fator prognóstico para a sobrevivência futura e estaria diretamente ligada ao sucesso dos implantes (Ong et al., 2008).

As superfícies dos implantes foram classificadas em lisa, minimamente rugosa, moderadamente rugosa e rugosa (Albrektsson; Wennerberg, 2004). Berglundh et al. (2007), avaliaram a progressão da peri-implantite em implantes de diferentes superfícies. Os autores utilizaram implantes com a superfície polida e implantes tratados com ataque ácido (rugosa), observando que os implantes rugosos apresentaram acúmulo de placa e maior perda óssea. O exame histológico mostrou maior inflamação nos tecidos peri-implantares e maior acúmulo de placa quando comparados com os implantes lisos, sugerindo que a progressão da peri-implantite é mais pronunciada em implantes de superfície rugosa. Porém, o tipo de superfície não influenciou na re-osseointegração de implantes submetidos à indução de peri-implantite em cães (Shibli et al., 2007).

Foram propostos vários métodos para tratamento da peri-implantite, geralmente associados a procedimentos a retalho com o uso de antimicrobianos sistêmicos e tópicos para a descontaminação da superfície do implante (Mombelli; Lang, 1998). Foi demonstrado que a administração de antibióticos (amoxicilina e metronidazol) combinada com o debridamento e remoção de tecido de granulação é um eficiente tratamento para peri-implantite, resultando em substancial re-osseointegração das superfícies expostas (Persson et al., 2001).

Muitas técnicas mecânicas e químicas têm sido utilizadas para condicionar as superfícies dos implantes. Dentre as técnicas de condicionamento mecânico estão incluídas a utilização de curetas de metal ou plástico (Brookshire et al., 1997), instrumentos ultra-sônicos, taça de polimento e escovas convencionais ou rotatórias (Speelman et al., 1992).

Nos últimos anos foram propostas várias estratégias de tratamento, incluindo condicionamento químico e mecânico e regimes de manutenção para os casos de infecções peri-implantares (Mombelli; Lang, 1998; Lang et al., 2000; Heitz-Mayfield; Lang, 2004; Schou et al., 2004). Vale ressaltar que em muitos casos é necessário associar a este tratamento procedimentos cirúrgicos regenerativos através da utilização de barreiras físicas (membranas) e/ou substitutos ósseos (Jovanovic et al., 1993; Persson et al., 1996; Hanisch et al., 1996; Hurzeler et al., 1997) para regenerar o tecido ósseo e promover a re-osseointegração.

Suh et al. (2003) utilizaram a alta rotação para diminuir a rugosidade do implante, e em seguida aplicou-se solução de tetraciclina com algodão por 5 minutos; retirou-se osso autógeno da região distal ao dente 17 e, em seguida, acomodou-se o enxerto autógeno, colocando membrana (Gore-Tex® ePTFE). O retalho foi reposicionado cobrindo totalmente a membrana. Após 6 meses a membrana foi retirada e observou-se uma regeneração considerável do osso perdido.

Alhag et al. (2008) pesquisaram em cães a re-osseointegração em superfícies de implantes contaminadas utilizando 3 tratamentos diferentes: o primeiro com ácido cítrico por 30 segundos e enxaguando com solução fisiológica; em seguida, limpeza com escova e enxágue com soro por 1 minuto e, por último, peróxido de hidrogênio por 1 minuto enxaguado com solução fisiológica. Após os tratamentos, fechou-se o retalho e aguardou-se 11 semanas. O estudo demonstrou ser biologicamente possível a obtenção da osseointegração na superfície rugosa do implante previamente contaminada com biofilme bacteriano, contrastando com a opinião de que era extremamente difícil ou impossível conseguir tal resultado (Gruder et al., 1993; Ericsson et al., 1996; Persson et al., 2001).

Em um trabalho recente, Rocuzzo et al., (2011), foi realizado o tratamento cirúrgico da peri-implantite com debridamento do defeito e o tratamento químico da superfície do implante com gel de EDTA 24% e gel de Clorexidina a 1%; em seguida o defeito foi preenchido com osso bovino liofilizado e o retalho suturado. Após o acompanhamento de um ano verificou-se melhora clínica e radiográfica. Em relação à profundidade de sondagem, ocorreu uma diminuição de 3,4mm em média, e em 3 implantes, houve o preenchimento completo do defeito. O sangramento à sondagem diminuiu nos sítios de 30,2% para 16,7%.

Assim, agentes antimicrobianos como tetraciclina (Meffert et al., 1992; Schenk et al., 1997), digluconato de clorexidina (Lang et al., 2000), ácido cítrico Meffert et al., 1992; Zablotsky et al., 1992; Zablotsky, 1993) e o peróxido de hidrogênio (Roos-Jansaker et al., 2011) têm sido utilizados como meio de condicionamento químico no tratamento de peri-implantites, apresentando resultados clinicamente satisfatórios.

Atualmente muitos trabalhos foram realizados na tentativa de descobrir qual é o melhor tratamento a ser aplicado em pacientes que apresentam a peri-implantite. Muitas técnicas são descritas na literatura, desde técnicas que envolvem o tratamento não cirúrgico da peri-implantite (Nibali; Donos, 2011; Renvert et al., 2011) às outras onde são realizados procedimentos cirúrgicos com o debridamento do defeito e o tratamento químico da superfície do implante (Albouy et al., 2011; Schwartz et al., 2011). Em outros trabalhos, além da descontaminação, ainda são realizados procedimentos regenerativos através da utilização de enxertos ósseos e membranas (Rocuzzo et al., 2011; Roos-Jansaker et al., 2011; Schwartz et al., 2011). Em sua maioria, os resultados são satisfatórios e ocorre uma diminuição da profundidade de sondagem e o preenchimento do defeito por novo osso.

Devido à importância do tema “descontaminação química” da superfície de implantes, explicitado na literatura, este trabalho avaliou o comportamento biológico de diferentes agentes antimicrobianos sobre superfície de implantes metálicos contaminados, haja visto que não há ainda um consenso sobre o que utilizar como padrão nessa modalidade terapêutica.

Revisão de Literatura

II REVISÃO DE LITERATURA

Com o objetivo de facilitar o entendimento ao leitor, a revisão foi dividida com o intuito de expor primeiramente os aspectos de normalidade do tecido mole circundante aos implantes, depois os aspectos vinculados à peri-implantite e após os métodos utilizados para tratar a doença peri-implantar.

II.1-Tecidos moles peri-implantares

Os tecidos moles peri-implantares apresentam características muito similares aos tecidos moles periodontais; apresentam um sulco gengival ou peri-implantar, possuem epitélio juncional e inserções conjuntivas, porém uma diferença muito importante está relacionada à presença das fibras de Sharpey, que se inserem perpendicularmente ao cimento radicular. Estas fibras estão presentes no periodonto e não existem ao redor de implantes, possuem função essencial no sistema de defesa do organismo. Porém, a presença de fibras que se estendem na direção das lâminas ósseas vestibulares e linguais auxilia na proteção, uma vez que, o tecido mole se mantém firme e justaposto ao implante (James, 1980).

A superfície externa da mucosa peri-implantar é revestida por um epitélio oral estratificado queratinizado, contínuo com o epitélio juncional que está em contato direto com a superfície do implante através de hemidesmossomos. Este epitélio apresenta aproximadamente 2mm e, apicalmente a ele, separando-o do osso alveolar, está presente a inserção conjuntiva que normalmente apresenta altura de 1-2mm. A soma destes 2mm do epitélio com 1-2mm do tecido conjuntivo, que normalmente varia de 3 a 4mm, formada independente da espessura de tecido mole ao redor do implante, protege a zona de osseointegração da penetração de substâncias nocivas aos tecidos peri-implantares que estão presentes na cavidade bucal (Berglundh; Lindhe, 1996).

No trabalho realizado por Berglundh et al., (1991), foram analisadas as barreiras de tecido mole formadas ao redor de dentes e implantes em 5 cães beagle.

Os dentes pré-molares inferiores do lado direito foram extraídos e, posteriormente, foram instalados implantes. No lado contralateral, foram mantidos os pré-molares. Em um período de 8 semanas os animais foram mantidos em um programa de controle de placa, após esse período os animais foram sacrificados e foram retiradas amostras de tecidos mole e duro ao redor dos implantes e dos pré-molares. Os resultados mostraram que a mucosa peri-implantar formada apresenta muitas similaridades com o tecido gengival, formando uma barreira contra a penetração de microorganismos. Foi encontrado nas análises um epitélio oral queratinizado, contínuo com o epitélio juncional, formado em contato com a superfície do dente e do implante. Na mucosa peri-implantar, as fibras colágenas parecem começar nas corticais vestibulares e linguais, passando paralelamente às superfícies dos implantes. Não foi encontrada, em nenhum dos tecidos, infiltração de células inflamatórias, sugerindo que ambos os tecidos possuem um potencial adequado para prevenir a formação de placa bacteriana subgengival.

Com o objetivo de analisar a dimensão da mucosa peri-implantar ao redor de implantes em regiões onde existe uma largura insuficiente de tecido mole acima da crista óssea há altura suficiente de tecido mole, comparadas com áreas onde essa altura é insuficiente, Berglundh; Lindhe, 1996, utilizaram 5 cães da raça beagle. Foram extraídos os pré-molares inferiores de ambos os lados e, após 3 meses de cicatrização, foram instalados 3 implantes de cada lado. Passado o período de 3 meses de osseointegração, foram instaladas as próteses, porém no lado teste foi realizada uma cirurgia para tornar a mucosa mais fina em relação ao lado controle. Após um período de 6 meses em que os animais passaram por um controle de placa, os mesmos foram sacrificados. Como resultado, observou-se que o comprimento do epitélio juncional foi de 2,1mm para o lado controle e 2,0mm para o lado teste; em relação ao comprimento do tecido conjuntivo, foi de 1,3mm (+/-0,3) para o controle e 1,8mm (+/-0,4) para o lado teste. Com isso, chegou-se à conclusão de que no lado teste não existia altura suficiente de tecido mole, além de ocorrer uma reabsorção óssea formando um defeito triangular, com o provável objetivo de permitir o restabelecimento das distâncias biológicas e formar uma altura suficiente para o epitélio juncional e a área conjuntiva, formando assim uma inserção de tecido mole estável e saudável.

II.2- Peri-implantite

A peri-implantite foi definida como uma reação inflamatória com perda do osso de suporte nos tecidos circundantes em implantes que estejam sofrendo função mastigatória (Albrektsson; Isidor, 1994). Caso esta inflamação atinja apenas os tecidos moles peri-implantares, sem envolvimento do tecido ósseo (sem perda óssea), sendo essa inflamação reversível, é classificada como mucosite peri-implantar. A peri-implantite tem sido descrita também como uma infecção sítio-específico, a qual possui muitas características em comum com a periodontite crônica ou como uma destruição bacteriana do aparelho de suporte dos implantes (Mombelli et al., 1987; Tonetti, 1996).

Todas as definições de sucesso nos implantes (incluindo as alterações do nível ósseo) foram consideradas, sobretudo porque há falta de consenso sobre o conjunto de critérios de sucesso universalmente aceito. A fim de compreender se foi alcançado o tão almejado sucesso com implantes, alguns autores criaram critérios clínicos com ênfase em sinais e sintomas que são seguidos principalmente em trabalhos científicos para diagnosticar se o implante apresenta-se saudável (Albrektsson et al., 1986; Buser et al., 1997): ausência de mobilidade, ausências de dor e sensação de corpo estranho, ausência de infecção com supuração, ausência de radiolucidez ao redor do implante, ausência de profundidade de sondagem maior que 5mm, ausência de sangramento à sondagem e, após o primeiro ano de função, o implante não pode apresentar uma perda óssea anual maior que 0,2mm.

A peri-implantite é uma condição que, tanto em animais como em humanos, é caracterizada pela inflamação dos tecidos moles e sangramento à sondagem, podendo ocorrer supuração e ainda uma rápida perda óssea ao redor dos implantes ósseo-integrados. Essa lesão está associada principalmente à presença de placa subgingival que possui em sua composição um grande número de microorganismos, principalmente bacilos Gram- anaeróbios, bactérias fusiformes e espiroquetas (Mombelli et al., 1987) , além de um tecido muito vascularizado com uma grande densidade de células inflamatórias. Apresenta também, normalmente, um defeito ósseo em forma de cratera (Lindh et al., 1992).

A visão de que os microorganismos desempenham um papel muito importante no desenvolvimento da peri-implantite é apoiada por muitos achados na literatura. Achados que relacionam diretamente o acúmulo de placa e a mucosite peri-implantar foram demonstrados em animais e seres humanos (Berglundh et al., 1992; Pontoriero et al., 1994). A colonização microbiana ao redor de implantes segue um padrão muito parecido com o que ocorre ao redor dos dentes, ou seja, ocorre uma alteração da microflora na região com o desenvolvimento da doença (Leonhardt et al. 1992; Klinge et al., 2005) .

As falhas em implantes podem ser divididas em 2 grupos, segundo Rosenberg: falhas por infecção ou por trauma. No grupo com trauma, o paciente não apresenta dor, supuração e os implantes que falharam apresentam um perfil microbiológico muito similar aos sítios de implantes saudáveis. Já no grupo infectado, os implantes foram colonizados por uma microbiota similar àquela encontrada em pacientes que apresentam periodontite (Rosenberg et al., 1991).

O diagnóstico das doenças peri-implantares deve ser feito o mais cedo possível. A mucosite apresenta como principais características: vermelhidão, inchaço dos tecidos moles, porém o sangramento à sondagem é considerado atualmente o fator mais importante. Na peri-implantite, além das características descritas acima, pode ocorrer bolsas profundas e supuração, sempre acompanhadas de perda marginal do tecido ósseo de suporte. Para o diagnóstico da peri-implantite, a sondagem é essencial e deve ser realizada com pouca pressão para não causar danos aos tecidos peri-implantares. O sangramento à sondagem indica a presença de inflamação dos tecidos e deve ser considerado como um fator importante na perda de suporte. A supuração é encontrada em sítios com peri-implantite, porém ocorre em situações em que esta encontra-se avançada, dessa forma, não é um método de diagnóstico precoce. As características determinantes para o diagnóstico da peri-implantite são profundidade de sondagem aumentada em conjunto com análises radiográficas as quais mostrem presença de perda óssea ao redor dos implantes (Lindhe; Meyle, 2008).

Em relação à prevalência das doenças peri-implantares, a literatura é um pouco controversa, não havendo dados similares. Em uma revisão com 2.413 implantes, 80% dos sujeitos da pesquisa apresentaram mucosite (50% dos

implantes), já em relação à peri-implantite variou entre 28% e 56% dos sujeitos da pesquisa a apresentaram (12% a 40% dos sítios), a qual foi identificada através do sangramento à sondagem e perda óssea (Lindhe; Meyle, 2008).

II.3- Tratamento da peri-implantite

Para obter sucesso no tratamento da peri-implantite deve ser realizado primeiramente o preparo da superfície do implante para que a superfície se torne biocompatível e assim seja estabelecida uma superfície propícia para a neoformação óssea e ocorra regeneração óssea bem sucedida (Schwartz et al., 1997). Os contaminantes encontrados na superfície dos implantes, como bactérias e seus produtos, cálculos e as células dos tecidos moles devem ser removidos sem que ocorra a modificação da superfície do implante. Porém, ainda não se sabe exatamente até qual ponto estes contaminantes devem ser removidos a fim de se alcançar o sucesso (Mombelli, 2002). Vários protocolos tem sido sugeridos no tratamento da peri-implantite, que podem ser divididos em tratamentos não-cirúrgicos e cirúrgicos. Os tratamentos não-cirúrgicos parecem não resolver as lesões peri-implantares (Renvert et al., 2008), enquanto os procedimentos cirúrgicos com descontaminação da superfície dos implantes parecem facilitar o tratamento da área. Em seu artigo, Schou et al. (2004), concluiu que a descontaminação da superfície dos implantes afetados por peri-implantite pode ser alcançada por um método efetivo e simples: primeiramente a limpeza foi realizada com uma gaze embebida com clorexidina e após, foi realizada a limpeza com solução salina. Esse método mostrou-se efetivo, principalmente em implantes com superfícies TPS (spray de plasma de titânio) ou SLA (jateamento seguido de ataque ácido) quando submetidos ao tratamento cirúrgico.

Em sua revisão Renvert et al. (2008) avaliou os tratamentos não-cirúrgicos das doenças peri-implantares. Após análise do levantamento bibliográfico, concluiu que a terapia mecânica não-cirúrgica pode ser eficaz no tratamento da mucosite peri-implantar e que o uso concomitante de enxaguatórios antimicrobianos auxiliam no tratamento da mucosite. Entretanto, o tratamento não-cirúrgico parece ineficaz para o tratamento da peri-implantite; a revisão constatou que a aplicação não-

cirúrgica de clorexidina tem efeitos limitados na melhora dos parâmetros clínicos e microbiológicos, já a utilização de antibióticos locais ou sistêmicos mostraram melhora significativa nos parâmetros clínicos de profundidade de sondagem e sangramento à sondagem. A utilização de laser também mostrou poucos efeitos benéficos, porém existe a necessidade da realização de estudos controlados randomizados para avaliar os modelos de tratamentos não-cirúrgicos das doenças peri-implantares.

O tratamento das doenças peri-implantares, incluindo assim a peri-implantite, deve resultar na desinflamação dos tecidos moles e preservar e/ou regenerar o tecido ósseo de suporte que foi perdido. Pelo fato da peri-implantite se tratar de uma doença infecciosa com um grande número de microorganismos aderidos à superfície dos implantes, a terapia envolve tratamento da superfície dos implantes para favorecer a regeneração das estruturas perdidas. Estes tratamentos podem ser os mais variáveis possíveis, desde que o resultado final seja uma superfície biocompatível que possa permitir a formação e inserção do aparato de sustentação e proteção do implante.

Muitos trabalhos mostraram técnicas com o intuito de eliminar a lesão inflamatória, promover a descontaminação do implante e preencher o defeito ósseo causado pela peri-implantite, porém alguns artigos tem mostrado que apesar de ocorrer a formação de tecido ósseo no antigo defeito, é difícil restabelecer a ósseo-integração (Ericsson et al., 1996; Persson et al., 1996; Schenk et al., 1997; Persson et al., 1999; Persson et al., 2001).

Em um estudo realizado com o intuito de avaliar o tratamento não-cirúrgico da peri-implantite, foram avaliados 25 indivíduos parcialmente edêntulos em um total de 31 implantes que apresentavam peri-implantite, foram realizadas instruções de higiene e, após 3 semanas, foi realizada limpeza com anti-séptico com clorexidina 0,2% e aplicação de minociclina (Arestin®). Durante o controle de 12 meses, a profundidade de sondagem e o sangramento à sondagem se mantiveram estáveis e reduzidos quando comparados com os iniciais. Com isso, os autores concluíram que o tratamento não-cirúrgico da peri-implantite levou a efeitos positivos em relação aos parâmetros clínicos, durante o período de 12 meses (Salvi et al., 2007).

O efeito do tratamento cirúrgico da peri-implantite sem a utilização de antibióticos sistêmicos e realizando limpeza da superfície dos implantes com solução salina em implantes com diferentes superfícies foi analisado em um estudo por Albouy et al. (2011), no qual concluiu-se que é possível alcançar o tratamento da peri-implantite sem a utilização de terapia antimicrobiana local ou sistêmica, porém o resultado do tratamento está diretamente relacionado à superfície do implante.

Com o objetivo de avaliar o tratamento da peri-implantite com a utilização da tetraciclina para descontaminação das superfícies dos implantes, Mombelli et al. (2001) avaliou 25 pacientes parcialmente desdentados em um total de 30 implantes que apresentavam sinais radiográficos de perda óssea circunferencial com profundidade de sondagem maior ou igual a 5mm. Os implantes foram tratados com curetas plásticas e foram inseridas fibras que continham tetraciclina (Actisite®) fixada com cianoacrilato, permanecendo na bolsa durante o período de 10 dias. Os pacientes foram analisados em períodos de 1, 3, 6 e 12 meses após o tratamento. No período controle ocorreu diminuição significativa da profundidade de sondagem de 6,0mm inicial para 4,1mm no período de 1 mês, sendo essa medida mantida nos 12 meses seguintes. Não houve redução significativa do tamanho do defeito ósseo, porém o número de microorganismos anaeróbios presentes no final do estudo foi significativamente menor que no início do trabalho. Os resultados mostraram um efeito positivo nos parâmetros clínicos e microbiológicos.

Em um estudo realizado por Schenk et al. (1997) com 8 pacientes que possuíam um mínimo de 2 implantes, em um total de 24 implantes, que apresentavam no mínimo 4mm de profundidade de sondagem e sangramento à sondagem em pelo menos um sítio, todos os pacientes foram tratados utilizando curetas de aço e o grupo controle recebeu fibras de tetraciclina (Actisite®) que permaneceram durante 7 dias no interior da bolsa. O grupo teste apresentou uma melhora quanto aos níveis de inserção e profundidade de sondagem.

Para avaliar o efeito da terapia antimicrobiana e as características da formação óssea em implantes que foram previamente contaminados, Persson et al. (1999) realizou um estudo em cães no qual foram instalados 6 implantes em cada animal em áreas de pré-molares inferiores que haviam sido extraídos previamente. Foram colocadas ligaduras para contaminação dos implantes por placa e, após

remoção das ligaduras, iniciou-se o tratamento com antibioticoterapia (amoxicilina e metronidazol) durante 3 semanas. Durante esse período os sítios foram operados e foi realizado o debridamento do defeito com curetas plásticas e tratamento da superfície dos implantes com pedra-pomes e soro fisiológico. Após 12 semanas da cirurgia, os animais foram sacrificados e foram realizadas análises. Os resultados mostraram que não existiam lesões inflamatórias e que ocorreu formação óssea, porém não foi possível quantificar a re-osseointegração, uma vez que, na sua maioria o osso neoformado apresentava uma cápsula fibrosa entre ele e o implante.

Kolonidis et al. (2003), em um estudo realizado em cães, verificou a possibilidade de ocorrer osseointegração em uma superfície que foi previamente contaminada com placa. Os 8 pré-molares inferiores foram extraídos e após um período de cicatrização de 3 meses foram instalados 3 implantes de cada lado, porém no lado controle, os implantes foram parcialmente inseridos a fim de que ocorresse a contaminação por placa das roscas dos implantes. Passadas 5 semanas, foram realizados 3 tratamentos: com ácido cítrico; com escova de dentes com soro fisiológico e, por último, tratamento com peróxido de hidrogênio 10%. Os implantes foram instalados no lado contralateral juntamente com um implante não contaminado, utilizado para controle. Após o período de cicatrização de 11 semanas foram feitas biópsias dos implantes. Observou-se que ocorreu osseointegração nas áreas anteriormente contaminadas, demonstrando que pode ocorrer osseointegração nestas regiões, independente do tratamento.

Hanisch et al. (1997) avaliaram a formação de novo tecido ósseo e re-osseointegração em implantes instalados na região de pré-molares superiores e inferiores de macacos. Após um ano da instalação dos implantes, que permaneceram sobre controle, foram colocadas ligaduras de algodão ao redor dos cicatrizadores para permitir o acúmulo de placa durante o período de 11 meses. Passado o período de acúmulo microbiano obteve-se grandes defeitos horizontais infra-ósseos. Para o tratamento dos defeitos foram realizados procedimentos cirúrgicos onde após o rebatimento dos retalhos os defeitos foram debridados com curetas de aço e as superfícies dos implantes foram tratadas com jato de ar abrasivo e descontaminadas com solução supersaturada de ácido cítrico. Na tentativa de regeneração utilizou-se no lado teste proteína óssea morfogenética humana recombinante-2 (rhBMP-2) e após o período de controle verificaram que ocorreu

formação óssea e a re-osseointegração em ambos os lados, porém na área onde houve a utilização do enxerto de rhBMP-2 essa formação foi maior.

Jovanovic et al. (1993) avaliaram a possibilidade de ocorrer formação de novo tecido ósseo ao redor de implantes que tiveram a sua superfície previamente contaminada, para isso foram instalados 30 implantes em cães e após o período de osseointegração provocou-se o acúmulo de placa durante um período de 3 meses, resultando em defeitos ósseos circunferenciais. Do total de 30 implantes, 9 serviram como grupo controle e não receberam tratamento. Os defeitos ósseos foram debridados e a superfície de cada implante foi tratada com jato de ar abrasivo e descontaminada com solução supersaturada de ácido cítrico por 30 segundos, foram realizadas em seguida perfurações na cortical do tecido ósseo e instaladas membranas não reabsorvíveis de PTFE-e. Os resultados dos cortes histológicos mostraram que ocorreu a formação de tecido ósseo ao redor dos implantes no período de 2 meses, e em algumas áreas observou-se a formação de um tecido ósseo mais organizado, semelhante ao da área de osseointegração, mostrando que existe possibilidade de ocorrer a re-osseointegração na superfície de implantes previamente contaminados.

Mouhyi et al. (1998) avaliaram a descontaminação de implantes contaminados utilizando 6 métodos diferentes: lavagem com álcool absoluto por 10 minutos; limpeza em banho ultra-sônico com tricloroetileno e álcool absoluto por 10 minutos em cada solução; jato de ar abrasivo; limpeza com solução supersaturada de ácido cítrico por 30 segundos; laser de CO₂ em condições secas por 10 segundos e laser CO₂ por 10 segundos com solução salina. Após análise por microscopia eletrônica de varredura e raio-x espectroscopia induzida por fotoelétrons, observaram que o tratamento com ácido cítrico e o tratamento com banho ultra-sônico com tricloroetileno e álcool absoluto por 10 minutos em cada solução mostraram melhores resultados em relação à aparência macroscópica e a composição superficial. Entretanto, comparando-se os implantes tratados aos implantes sem contaminação, os resultados não foram satisfatórios.

Em um artigo de relato de três casos clínicos publicado por Mellonig et al. (1995) utilizaram 3 implantes que não apresentavam mobilidade, mas possuíam perda óssea circunferencial ao redor dos implantes; a causa segundo relatam os

autores era o trauma oclusal associado à contaminação bacteriana. Os defeitos foram debridados e a superfície dos implantes foi descontaminada com tetraciclina (50mg/ml), após este tratamento, os defeitos foram preenchidos com enxerto ósseo liofilizado e utilizaram membranas de politetrafluoretileno expandido. As membranas foram removidas após um período de 6 a 8 meses. No controle de 1 ano de pós-operatório observaram a diminuição significativa na profundidade de sondagem, ganho de inserção e preenchimento dos defeitos por novo tecido ósseo, mostrando assim que o tratamento foi eficaz.

Tinti; Parma-Benfenati (2001), em um relato de caso clínico, realizaram tratamento da peri-implantite em um paciente que possuía implantes na região posterior da mandíbula. Os defeitos foram debridados, aplicando em seguida jato de ar abrasivo por 3 minutos e tratamento para descontaminação da superfície dos implantes com tetraciclina por 5 minutos. Em seguida, foram realizados enxertos ósseos autógenos associados a osso humano congelado desmineralizado e colocação de membranas. Após o período de cicatrização, o leito foi aberto novamente e as membranas foram removidas. Observaram que os defeitos foram totalmente preenchidos por novo tecido ósseo, mostrando, segundo os autores, que esta técnica é viável e apresenta bons resultados.

Com o objetivo de comparar as propriedades de limpeza mecânica com utilização de curetas de carbono e polimento com taça de borracha com a descontaminação com gel de ácido fosfórico para o tratamento de doenças peri-implantares, Strooker et al. (1998) avaliaram em 16 pacientes totalmente edêntulos, sendo que na mandíbula possuíam overdentures. No lado teste foi aplicado gel de ácido fosfórico 35% durante o período de 1 minuto diretamente no sulco peri-implantar, em seguida foi completamente lavado com spray de água por um período de 15 segundos. No lado controle, foi realizado debridamento supra e subgingival com curetas de carbono e polimento com taça de borracha. Após o período de 5 meses foram observados parâmetros clínicos, nos quais foi possível notar que ocorreu diminuição na média do índice gengival e profundidade de sondagem média no período. A redução do índice gengival foi maior no lado teste, o que levou os autores a concluírem que a aplicação local de gel de ácido fosfórico a 35% pode ser tão eficaz quanto a terapia de suporte mecânico convencional.

Em um trabalho recente, Rocuzzo et al. (2011) realizaram o tratamento cirúrgico da peri-implantite com debridamento do defeito e o tratamento químico da superfície do implante com gel de EDTA 24% e gel de Clorexidina a 1%. Em seguida, o defeito foi preenchido com osso bovino liofilizado e o retalho suturado. Após o acompanhamento de 1 ano, ocorreu melhora clínica e radiográfica em relação à profundidade de sondagem, ocorreu também uma diminuição de 3,4mm em média e, em 3 implantes, ocorreu o completo preenchimento do defeito. O sangramento à sondagem diminuiu de 75,0% dos sítios para 14,6%. A utilização do procedimento de 2 passos (EDTA e Clorexidina) o qual foi empregado neste artigo foi descrita pela primeira vez e mostrou bons resultados, porém para avaliar a real eficácia desta técnica são necessários mais estudos, apesar da mesma ter se mostrado eficaz no tratamento da peri-implantite.

Um estudo em humanos para o tratamento da peri-implantite comparou a utilização de apenas um substituto ósseo com a utilização do mesmo substituto com membrana. Os pacientes receberam tratamento cirúrgico e os implantes foram descontaminados com água oxigenada, após a descontaminação o defeito foi lavado com solução salina e preenchido, porém o grupo controle não recebeu membrana. Foi realizado controle de 3 anos o qual mostrou que no período de 1 a 3 anos não ocorreu alteração no nível ósseo, mostrando que nas duas técnicas o procedimento se mostrou estável após 3 anos (Roos-Jansaker et al., 2011).

Com o objetivo de investigar se o tipo de superfície do implante interfere na re-osseointegração após o tratamento da peri-implantite, Persson et al. (2001), utilizou 4 cães da raça beagle nos quais foram extraídos os pré-molares e, após 12 meses de cicatrização, 3 implantes foram colocados de cada lado, sendo que no lado esquerdo utilizou-se implantes com a superfície usinada e no lado direito a superfície dos implantes eram tratadas. Foi induzida peri-implantite após o período de osseointegração e, iniciou-se o tratamento com antibioticoterapia com amoxicilina e metronidazol. Após 3 dias foram expostos um implante de cada quadrante, o defeito foi debridado e a superfície do implante foi limpa com bolinha de algodão e soro fisiológico. Após 6 meses, os animais foram sacrificados, então observou-se o preenchimento ósseo ao redor dos tipos de superfície, porém a re-osseointegração ocorreu em 84% dos locais em implantes que possuíam superfície rugosa contra apenas 22% com superfícies usinadas. Concluiu-se que o tipo de superfície do

implante está diretamente relacionado à re-osseointegração. Em uma pesquisa, Parlar et al. (2009) observaram a formação de novo osso e re-osseointegração ao redor dos implantes com rugosidades diferentes, não ocorrendo diferença significativa. Já Persson et al. (2001) demonstraram que as duas superfícies são capazes de se re-osseointegrarem após a limpeza com spray de solução salina .

O fato dos implantes com superfície rugosa apresentarem freqüentemente maior taxa de re-osseointegração quando comparados aos de superfícies usinadas pode surpreender, uma vez que as superfícies rugosas apresentam maior facilidade na formação do biofilme, o que as tornaria tecnicamente áreas de difícil descontaminação, (Teughels et al., 2006) comparando-a com a superfície lisa ou usinada (Dennison et al., 1994). Entretanto, Persson et al. (2001) especulou que a superfície rugosa pode atrair e facilitar o desenvolvimento do coágulo após a cirurgia e, assim, facilitar a cicatrização óssea com um maior contato da superfície do implante.

Os resultados quanto à re-osseointegração ainda não são conclusivos, existe uma grande divergência em relação à quantidade conseguida, porém os melhores efeitos foram alcançados em experimentos onde foi utilizada a descontaminação da superfície dos implantes em conjunto com a utilização de técnicas regenerativas, tanto com o emprego de enxertos ósseos e membranas, como em técnicas com apenas membrana. A taxa de sucesso mostrada na revisão feita por Renvert et al. (2009) mostrou que pode variar de 1% a 84% em modelos de estudo animais. Porém, um fato extremamente importante é a descontaminação da superfície do implante, sem a qual não torna possível o sucesso das técnicas regenerativas.

Proposição

III PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve por objetivo principal avaliar microscopicamente a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos em períodos de 7, 28 e 84 dias, através da análise histomorfométrica após receberem discos de titânio com superfícies lisa e rugosa que receberam tratamentos para a descontaminação com ácido cítrico + tetraciclina, tetraciclina, EDTA ou ácido fosfórico, com os objetivos de:

1. Avaliar o tipo de resposta do tecido conjuntivo aos protótipos implantados;
 2. Verificar a espessura do tecido conjuntivo formado;
 3. Verificar a densidade de fibroblastos e neutrófilos;
 4. Comparar os dados para se tentar estabelecer o melhor tratamento de descontaminação superficial;
 5. Analisar no período final os resultados obtidos.
-
-

Material e Métodos

IV MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa em Experimentação Animal, processo número 011/2009, e em Humanos, processo número 061/2009, da Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo e segue os critérios para avaliação da reação tecidual preconizado pela ISO 10993-6 (1994).

IV.1- OBTENÇÃO DOS CORPOS DE PROVAS (AMOSTRAS)

Foram empregados no estudo 180 discos de titânio de 1,5mm de espessura e 4,0mm de diâmetro, especialmente fabricados para o experimento (Titanium Fix – AS Technology, Ltda São José dos Campos, SP), sendo 90 de superfícies usinadas (lisos) e 90 de superfícies rugosas (tratamento por jato de óxido de alumínio seguido de ataque ácido) e esterilizados na fábrica.

IV.2- CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS

Trinta dos 180 discos foram mantidos estéreis e, em todas as superfícies dos demais 150 discos, foram permitidos o crescimento de um biofilme bacteriano segundo a metodologia empregada por Furlani (2007).

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (anexo), 19 voluntários usaram por 7 dias consecutivos dispositivos acrílicos intra-bucais palatinos removíveis contendo em 18 voluntários, 8 discos, sendo 4 de superfície lisa (do lado direito) e 4 de superfície rugosa (do lado esquerdo) e, 1 voluntário utilizou uma placa com 6 discos, sendo 3 de superfície lisa (do lado direito) e 3 de superfície rugosa (do lado esquerdo) (Figura 1, página 44). Os discos foram inseridos em nichos confeccionados no acrílico e mantidos ali através de uma tela de nylon que foi fixada com cianoacrilato (Super Bonder – Henkel, Itapevi/Brasil). Os indivíduos foram instruídos a remover os dispositivos acrílicos apenas para realizar

as refeições e higiene bucal, sendo permitido apenas realizar a escovação da área que se encontrava em contato com o palato.



Figura 1- Foto da disposição dos discos de titânio no dispositivo acrílico palatino removível (lado direito, discos de superfície rugosa e lado esquerdo, discos de superfície lisa).

IV.3- DESCONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os dispositivos acrílicos foram coletados dos voluntários; os discos contaminados foram removidos e os 30 discos contaminados do grupo controle, que não receberam nenhum tipo de tratamento, foram colocados diretamente em ampolas de vidro individuais estéreis. Os 120 discos contaminados restantes foram removidos, escovados (5 movimentos de escovação em cada superfície) e lavados com soro fisiológico estéril. Após este passo, os mesmos foram guardados individualmente em ampolas de vidro estéreis.

Em seguida, os discos foram colocados em placas acrílicas de 24 poços, sendo divididos em 30 discos para cada grupo (15 lisos e 15 rugosos) e receberam o tratamento de superfície conforme descrito a seguir.

Tratamento 1: Ácido Cítrico com tetraciclina (grupo 1)

Os discos de titânio receberam tratamento com gel de ácido cítrico 50% com tetraciclina 10%, pH 1,0 (gel produzido em farmácia de manipulação, Calêndula Farma, Bauru-SP) por 3 minutos. O gel foi aplicado diretamente sobre toda a

superfície dos discos de titânio (sem fricção) durante 3 minutos. Após os 3 minutos, as superfícies foram lavadas profusamente com soro fisiológico (Figura 2, Página 46).

Tratamento 2: Tetraciclina (grupo 2)

Os discos de titânio receberam tratamento com tetraciclina ácida 500mg/mL de solução fisiológica (produzida pela farmácia de manipulação Calêndula Farma, Bauru-SP) durante 3 minutos, que foi aplicada com bolinhas de algodão diretamente sobre toda a superfície dos discos (sem fricção), sendo as bolinhas de algodão trocadas a cada 30 segundos. Em seguida, os discos foram lavados profusamente com soro fisiológico (Figura 2, Página 46).

Tratamento 3: EDTA (grupo 3)

Os discos de titânio receberam tratamento com EDTA gel a 24%, pH 8,5-9 (Biodinâmica Química e Farmacêutica LTDA, Ibioporã, Paraná - Brasil), aplicado diretamente sobre toda a superfície dos discos, durante 3 minutos. Em seguida, os discos foram lavados profusamente com soro fisiológico (Figura 2, Página 46).

Tratamento 4: Ácido Fosfórico (grupo 4)

Os discos de titânio receberam tratamento com ácido fosfórico gel 37%, pH 0,6 (Dentsply, Petrópolis, Rio de Janeiro – Brasil), aplicado diretamente sobre toda a superfície dos discos, durante 3 minutos. Em seguida, os discos foram lavados profusamente com soro fisiológico (Figura 2, Página 46).

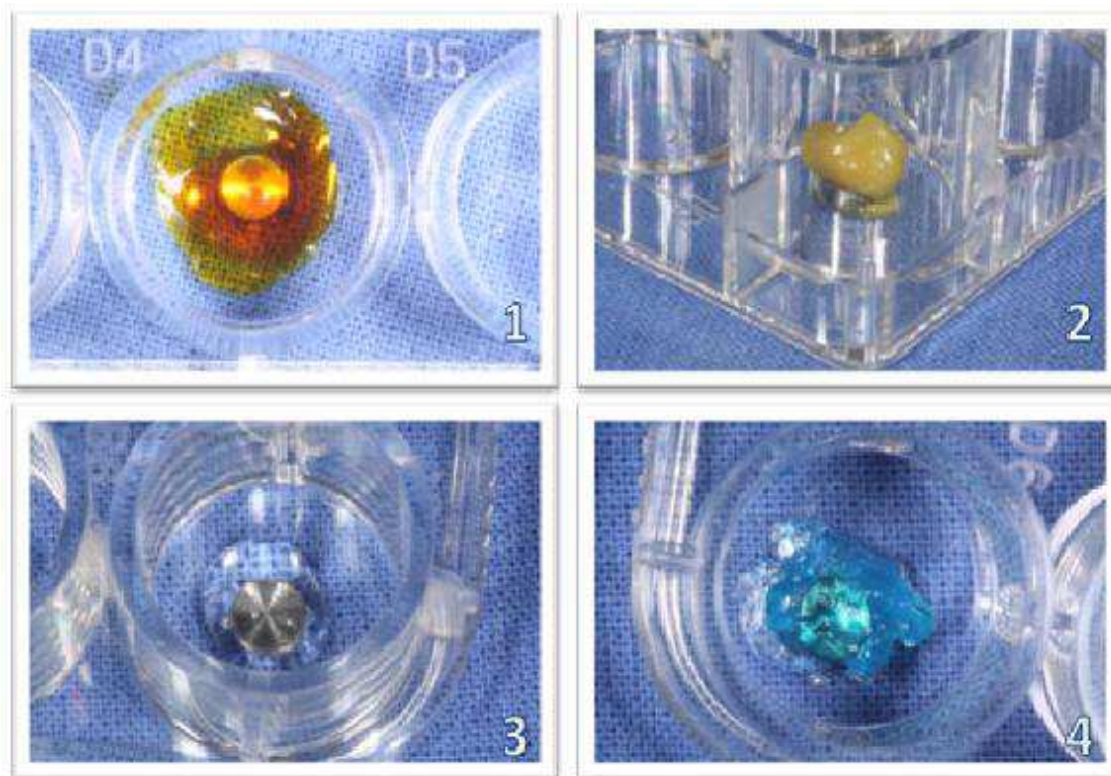


Figura 2 – 1: Tratamento com ácido cítrico com tetraciclina; 2: Tratamento com tetraciclina; 3: Tratamento com EDTA; 4: Tratamento com ácido fosfórico.

IV.4 - GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 180 discos de titânio foram divididos nos seguintes grupos:

Grupo 1_L: 15 discos de superfície lisa, contaminados, que receberam o tratamento com ácido cítrico e tetraciclina;

Grupo 1_R: 15 discos de superfície rugosa, contaminados, que receberam o tratamento com ácido cítrico e tetraciclina;

Grupo 2_L: 15 discos de superfície lisa, contaminados, que receberam o tratamento com tetraciclina ácida;

Grupo 2_R: 15 discos de superfície rugosa, contaminados, que receberam o tratamento com tetraciclina ácida;

Grupo 3_L: 15 discos de superfície lisa, contaminados, que receberam o tratamento com EDTA;

Grupo 3_R: 15 discos de superfície rugosa, contaminados, que receberam o tratamento com EDTA;

Grupo 4_L: 15 discos de superfície lisa, contaminados, que receberam o tratamento com ácido fosfórico;

Grupo 4_R: 15 discos de superfície rugosa, contaminados, que receberam o tratamento com ácido fosfórico;

Grupo C_L: 15 discos de superfície lisa, contaminados, que não receberam nenhum tratamento de descontaminação (controle positivo liso);

Grupo C_R: 15 discos de superfície rugosa, contaminados, que não receberam nenhum tratamento de descontaminação (controle positivo rugoso);

Grupo E_L: 15 discos de superfície lisa, não contaminados (estéreis), (controle negativo liso);

Grupo E_R: 15 discos de superfície rugosa, não contaminados (estéreis), (controle negativo rugoso)

IV.5 - CIRURGIA DE IMPLANTAÇÃO EM TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO DE RATOS

Foram empregados 180 ratos isogênicos adultos machos albinos da raça Wistar (*Rathus norvegicus – Var. albinus rodentia mammalia*), pesando cerca de 400g, criados e mantidos pelo Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru (USP).

Os animais foram anestesiados por injeção intramuscular de uma associação de 1,5 mL/kg de Xilasina (Anasedan, Vetbrands, Jacareí/SP) com 1,0 mL/kg de Ketamina (Dopalen, Vetbrands, Jacareí/SP).

Após a tricotomia, realizada com lâmina de barbear (Gillette, Procter & Gamble do Brasil S.A., Manaus/AM) na região dorsal dos animais, a pele recebeu anti-sepsia com solução de digluconato de clorexidina a 2% (Riohex – Rioquímica Indústria Farmacêutica, São Paulo/ Brasil), a região foi coberta por campo cirúrgico estéril fenestrado. Uma incisão de aproximadamente 1,0cm foi realizada com lâmina de bisturi número 15 (Lamedid Comercial e Serviços Ltda. Barueri, SP) no dorso dos animais. Com o auxílio de uma tesoura cirúrgica de ponta romba foi produzido, por divulsão do tecido conjuntivo subcutâneo, uma cavidade na qual foi inserida um disco metálico. Assim, cada animal recebeu um único disco no intuito de evitar interferência de um grupo experimental sobre o outro. Foi realizada sutura com fio de seda 4.0 (Ethicon, Johnson&Johnson, São Paulo), removida após 7 dias. Os animais foram mantidos em gaiolas com 5 animais cada, e não receberam nenhum tipo de medicação no pós-operatório. Foram oferecidas água e alimentação *ad libitum* de dieta apropriada (Labina, Purina do Brasil, Paulínia/SP).

Após os períodos de 7, 28 e 84 dias, 5 animais de cada grupo foram sacrificados por overdose de anestésicos (associação de 1,5mL/kg de Xilasina com 1,0mL/kg de Ketamina) para remoção de blocos teciduais contendo os discos metálicos. Os espécimes, assim constituídos, foram removidos em blocos e fixados em formalina a 10% pelo período mínimo de 48 horas. Para a remoção dos discos foram realizadas incisões na lateral dos discos, os quais foram removidos cuidadosamente com uma pinça para evitar danos à cápsula. Após cuidadosa

remoção, os espécimes foram submetidos ao processamento histotécnico convencional para microscopia óptica e coloração por hematoxilina-eosina.

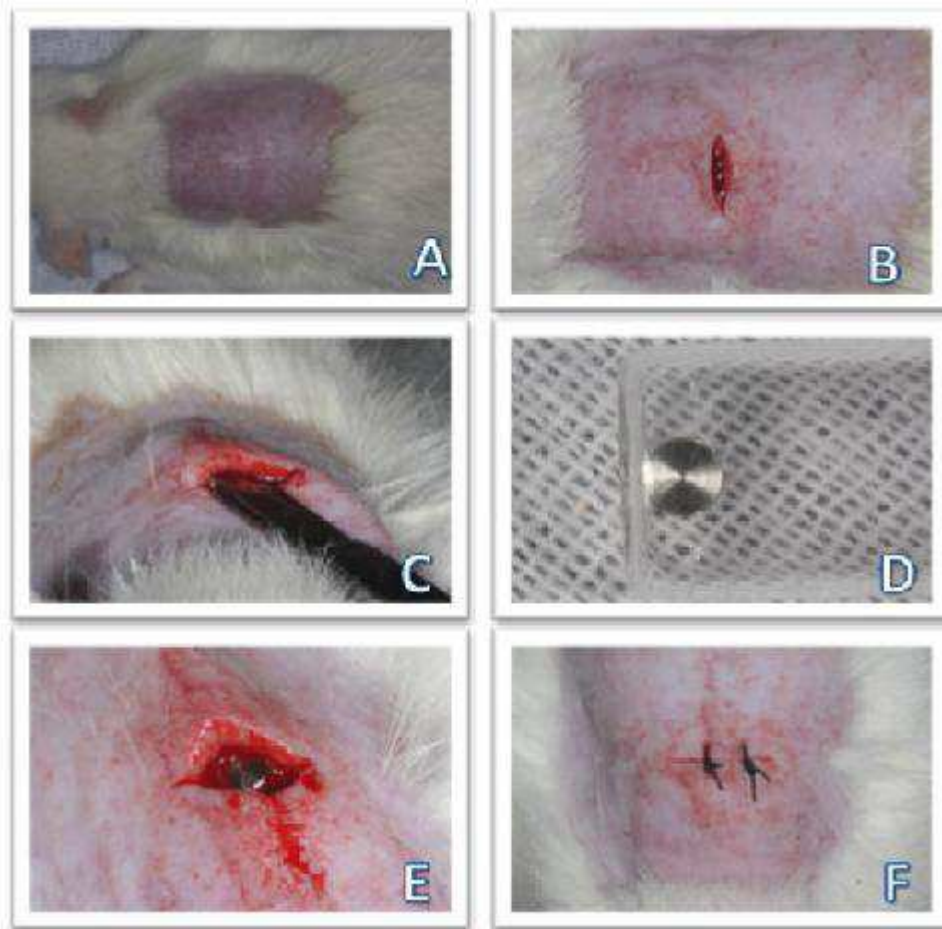


Figura 3- A- Após a tricotomia; B – Incisão; C – Divulsão; D – Disco de titânio após ter recebido tratamento; E – Disco colocado no animal; F – Sutura.

IV.6 - ANÁLISE MICROSCÓPICA

A análise microscópica descritiva foi realizada em cortes teciduais semi-seriados de aproximadamente 5µm de espessura, orientados paralelamente ao longo eixo dos discos, empregando microscópio Zeiss® binocular nos aumentos de 4, 10, 40 e 100X. Em seguida, foram efetuadas as análises semi-quantitativa e quantitativa (Queiroz, 2008).

IV.6.1- Análise microscópica descritiva

Para avaliação descritiva dos parâmetros histológicos deste estudo foi utilizado um microscópio óptico Olympus CH-2, com objetivas de 4, 10 e de 40X. Essa avaliação consistiu no exame do tecido formado ao redor dos discos de titânio em todos os períodos com o intuito de avaliar a resposta do hospedeiro com relação à presença de fibroblastos, fibras colágenas, células inflamatórias, vasos sanguíneos, células adiposas e células musculares.

IV.6.2 - Análise microscópica quantitativa

Os cortes teciduais foram capturados por um microscópio Zeiss Axioscop 2 com objetiva 100X, câmera CCD-IRIS RGB – Sony e software Kontron KS3000 (Kontron Eletronic GMBM) instalado em um computador onde foi realizada a medida da espessura (µm) relacionado à superfície de interesse (lisa ou rugosa, que recebeu ou não a contaminação e o tratamento), em cada espécime dos diferentes grupos.

Em seguida, foi realizada a contagem do número de fibroblastos e neutrófilos presentes em cada área, com o intuito de obter a densidade de células por área da cápsula. Essa contagem foi realizada pelo programa analisador de imagem Image J 1.38x (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA, <http://rbs.info.nih.gov/ij/>).

Foram capturados 5 campos em cada corte histológico semi-seriado de 5µm de espessura, onde foi medida em 5 pontos a espessura da cápsula e foi medida a área de cada campo e a quantidade de fibroblastos e neutrófilos presentes.

IV.6.3 - Casualização dos Campos

Foram escolhidos 5 campos em cada corte histológico, estes campos foram escolhidos sempre um em cada lado (no centro de cada lado) e um na união dentre dois lados.

IV.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

IV.7.1 - Análise estatística para a análise quantitativa

Os dados foram analisados utilizando-se o programa estatístico *Graph Pad Prism 4©* (Graph Pad Software In., San Diego, Califórnia, EUA). Os parâmetros espessura, densidade de fibroblastos e densidade de neutrófilos do tecido reacional granulomatoso foram comparados empregando-se a análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

V RESULTADOS

V. 1- Análise Histológica

O exame histológico do tecido conjuntivo formado adjacente à superfície dos protótipos de titânio pertencentes aos 4 diferentes grupos testes e aos grupos controles contaminados e não contaminados foi realizado levando-se em consideração a orientação e a disposição das fibras colágenas, a presença de fibroblastos e as características do infiltrado inflamatório, quando presentes. Esta análise histológica foi realizada através de documentação fotográfica das imagens obtidas em microscopia.

V. 1.1 – Infiltrado Inflamatório

- A análise do grupo controle contaminado (controle positivo), no período de 7 dias, mostrou a presença de um infiltrado inflamatório característico de abscesso, com grande quantidade de neutrófilos. No período de 28 dias, a presença de neutrófilos no infiltrado inflamatório foi reduzida e não foi mais possível observar características de abscesso, como no período inicial. Aos 84 dias, não foram encontradas quantidades de neutrófilos caracterizando inflamação.
 - No grupo controle estéril (controle negativo), no período de 7 dias, pode-se observar a presença de neutrófilos em quantidade inferior à encontrada no grupo controle contaminado e sem áreas de abscedação. No período de 28 dias, não foram encontradas quantidades de neutrófilos suficientes para caracterizar um processo inflamatório, assim como em 84 dias, onde a presença de neutrófilos foi raramente notada.
-

- Os grupos testes 1, 2, 3 e 4(ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico, respectivamente) apresentaram no período inicial de 7 dias um infiltrado inflamatório característico de abscesso, com menor quantidade de neutrófilos comparando-se ao grupo controle contaminado. Aos 28 dias, a quantidade de neutrófilos foi reduzida e não houve mais características de abscesso. Aos 84 dias, os neutrófilos, quando presentes, foram esparsos, sem característica de inflamação.

V. 1.2 – Fibroblastos e fibras colágenas

- No grupo controle contaminado (controle positivo), aos 7 dias, a presença de fibroblastos não organizados foi observada neste período. Aos 28 dias, os fibroblastos se encontram mais organizados e foram o tipo celular predominante. No período de 84 dias ocorreu uma diminuição na espessura da cápsula formada, apresentando características de um tecido fibroso composto quase que exclusivamente por fibroblastos e fibras colágenas, que se dispuseram de forma paralela à superfície dos protótipos de titânio, nos dois tipos de superfícies testadas. Conforme esperado, contudo, algumas células inflamatórias esparsas puderam ser observadas, sem características de infiltrado inflamatório.
 - No grupo controle estéril (controle negativo), no período de 7 dias, os fibroblastos e as fibras colágenas estavam mais organizados comparando-se ao grupo controle contaminado no mesmo período. Aos 28 dias, a presença de fibroblastos foi maior e mais organizada, assim como as fibras colágenas. No período de 84 dias houve um fibrosamento em maior grau, com cápsula mais delgada.
-
-

- Os grupos testes 1, 2, 3 e 4 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico, respectivamente) apresentaram no período inicial de 7 dias um discreto fibrosamento com a presença de fibroblastos e fibras colágenas com pouca organização. Aos 28 dias, as características das fibras colágenas e os fibroblastos eram de organização, e ocorreu um aumento no número de fibroblastos. Aos 84 dias, as fibras colágenas estavam bem definidas e organizadas.

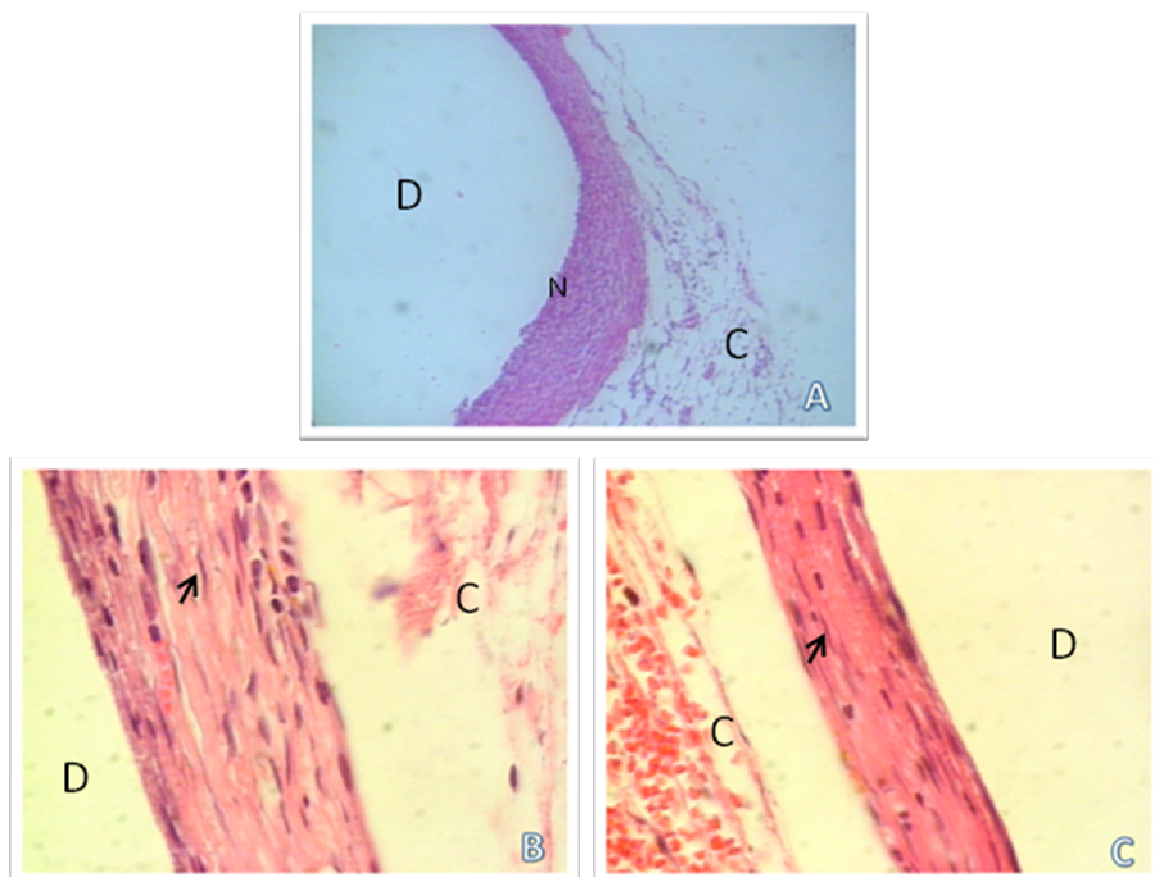


Figura 4 – Grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina) Foto A – corte histológico aos 7 dias (aumento 4X); observou-se um abscesso com grande quantidade de neutrófilos (N) ; Foto B corte histológico aos 28 dias (aumento 40X) onde observou-se um tecido conjuntivo formado principalmente por fibroblastos (seta preta) e a ausência de um infiltrado inflamatório; Foto C – corte histológico aos 84 dias (aumento 40X) observa-se a cápsula mais delgada formando um tecido com um maior grau de fibrosamento e com presença de grande número de fibroblastos(setas pretas). D = Área onde se encontrava o disco de titânio; C = Tecido conjuntivo.

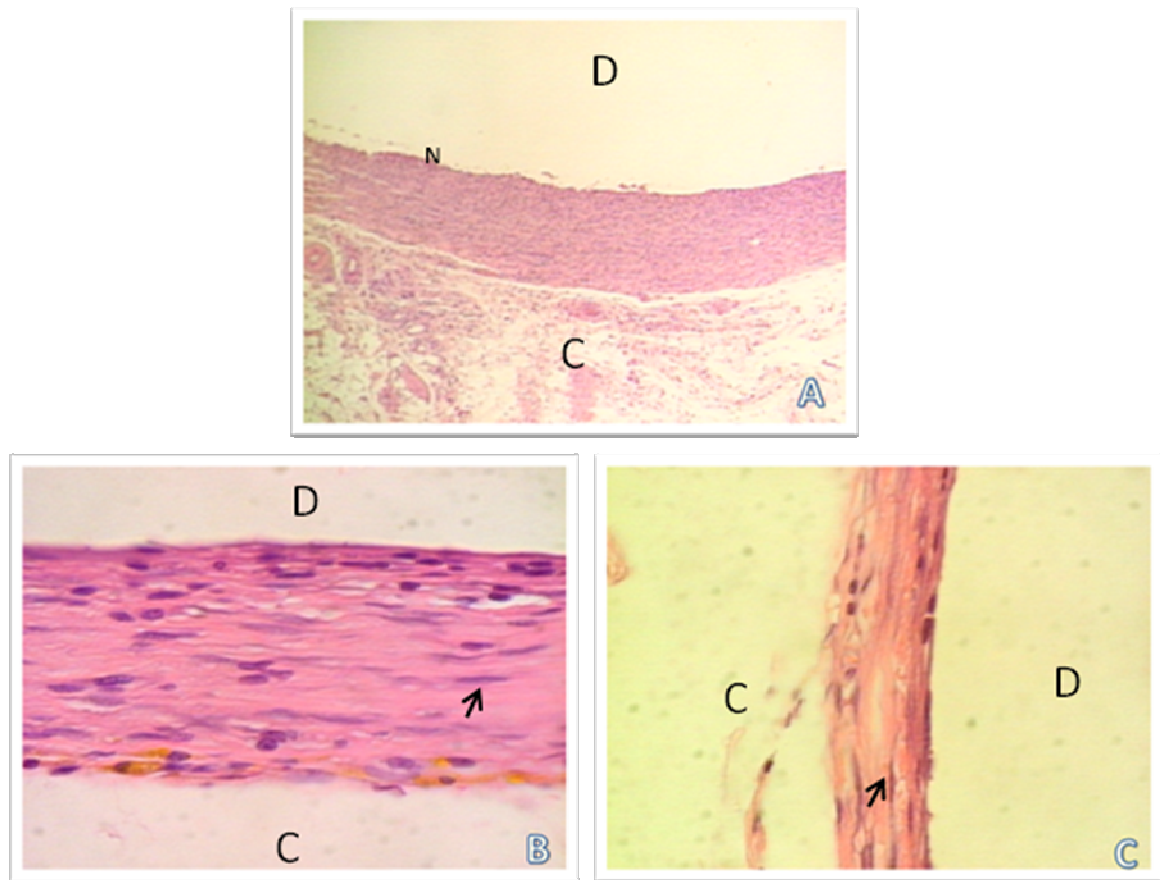


Figura 5 - Grupo 2 (tetraciclina). Foto A – corte histológico aos 7 dias (aumento 10X observou-se grande quantidade de neutrófilos(N); Foto B corte histológico aos 28 dias (aumento 40X) onde observou-se um tecido conjuntivo formado principalmente por fibroblastos(seta preta) e a ausência de um infiltrado inflamatório; Foto C – corte histológico aos 84 dias (aumento 40X) observa-se a cápsula mais delgada formando um tecido com um maior grau de fibrosamento e com presença de grande número de fibroblastos(setas pretas). D = Área onde se encontrava o disco de titânio; C = Tecido conjuntivo.

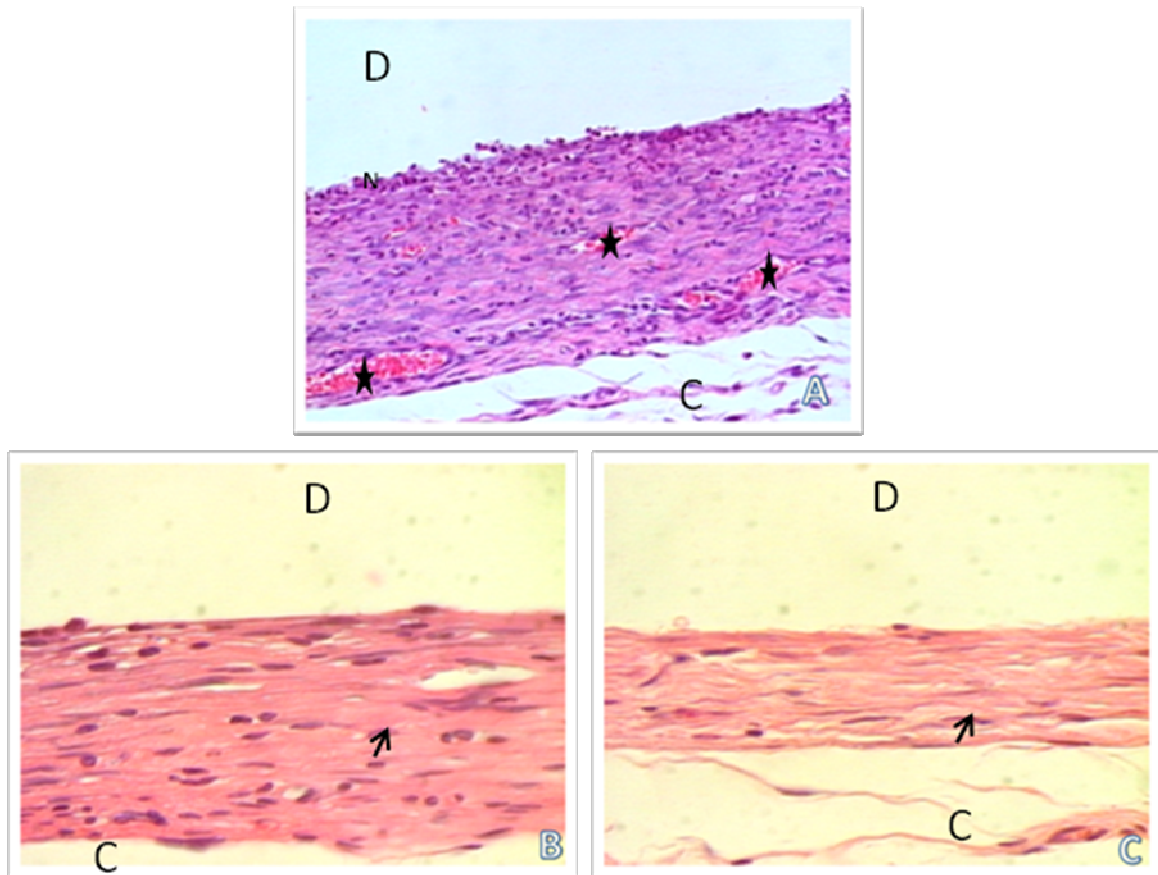


Figura 6 - Grupo 3 (EDTA). Foto A – corte histológico aos 7 dias (aumento 10X); observou-se grande quantidade de neutrófilos(N), com presença de vasos sanguíneos neoformados congestos (estrelas pretas); Foto B corte histológico aos 28 dias (aumento 40X) onde observou-se um tecido conjuntivo formado principalmente por fibroblastos(seta preta) e a ausência de um infiltrado inflamatório; Foto C – corte histológico aos 84 dias (aumento 40X) observa-se a cápsula mais delgada formando um tecido com um maior grau de fibrosamento e com presença de grande número de fibroblastos(setas pretas). D = Área onde se encontrava o disco de titânio; C = Tecido conjuntivo.

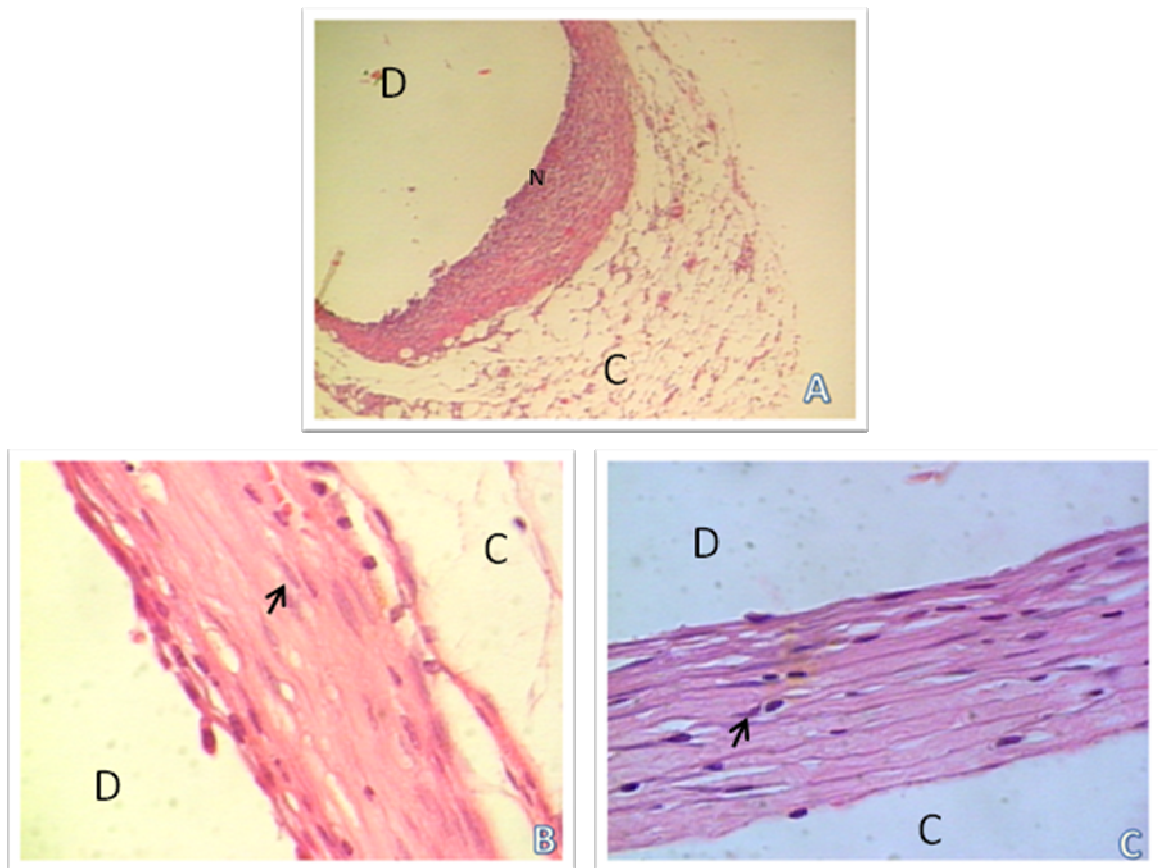


Figura 7 - Grupo 4 (ácido fosfórico). Foto A – corte histológico aos 7 dias (aumento 4X), observou-se um grande quantidade de neutrófilos(N) ; Foto B corte histológico aos 28 dias (aumento 40X) onde observou-se um tecido conjuntivo formado principalmente por fibroblastos(seta preta) e a ausência de um infiltrado inflamatório; Foto C – corte histológico aos 84 dias (aumento 40X) observa-se a cápsula mais delgada formando um tecido com um maior grau de fibrosamento e com presença de grande número de fibroblastos(setas pretas). D = Área onde se encontrava o disco de titânio; C = Tecido conjuntivo.

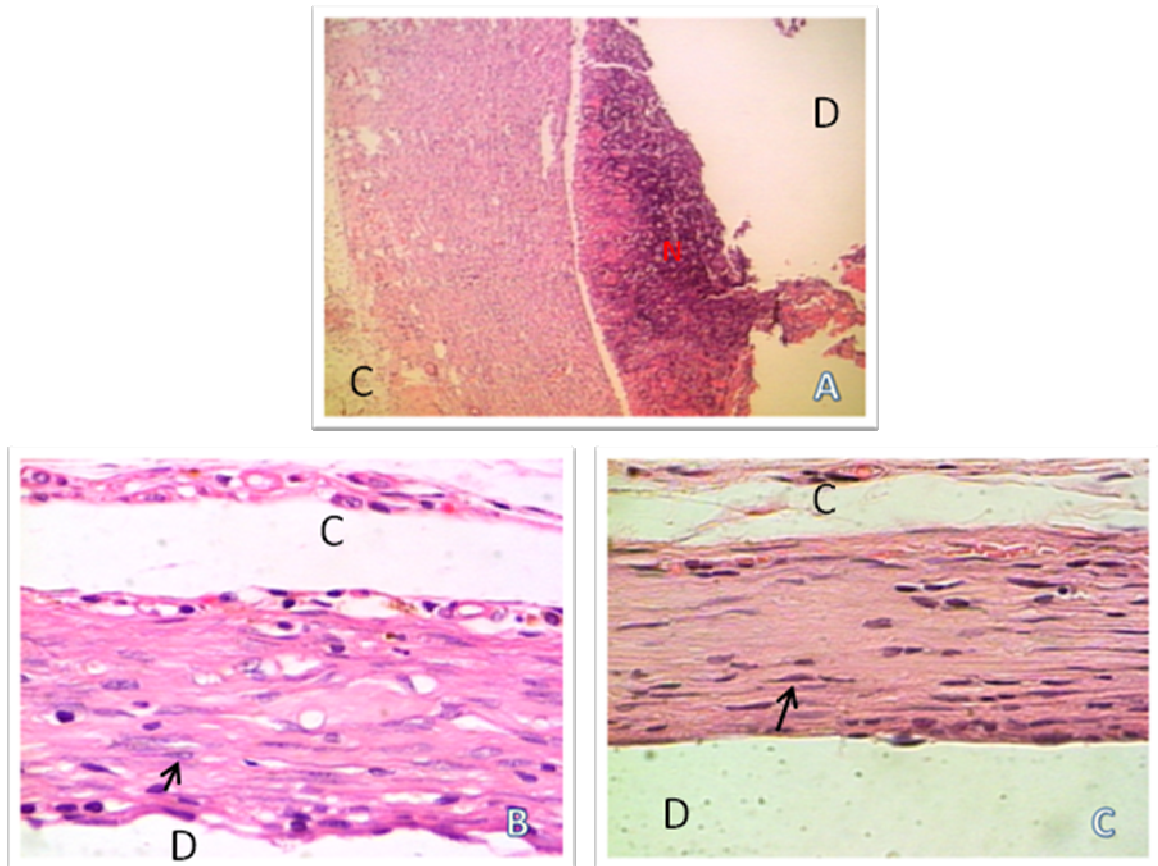


Figura 8 - Grupo Controle Contaminado. Foto A – corte histológico aos 7 dias (aumento 4X), neste período é possível observar um infiltrado inflamatório característico de abscedação com grande quantidade de neutrófilos (N em vermelho); Foto B – Corte histológico aos 28 dias (aumento 40X), neste período a resposta inflamatório intensa observado no período de 7 dias não se encontrava presente, era possível observar neutrófilos esparsos sem caracterizar uma resposta inflamatória, o tipo celular predominante são os fibroblastos (seta preta) e a espessura da cápsula era menor que aos 7 dias; Foto C – corte histológico aos 84 dias (aumento 40X), pode se observar um tecido com um alto grau de fibrosamento composto por grande número de fibroblastos (seta preta). D = Área onde se encontrava o disco de titânio; C = Tecido conjuntivo.

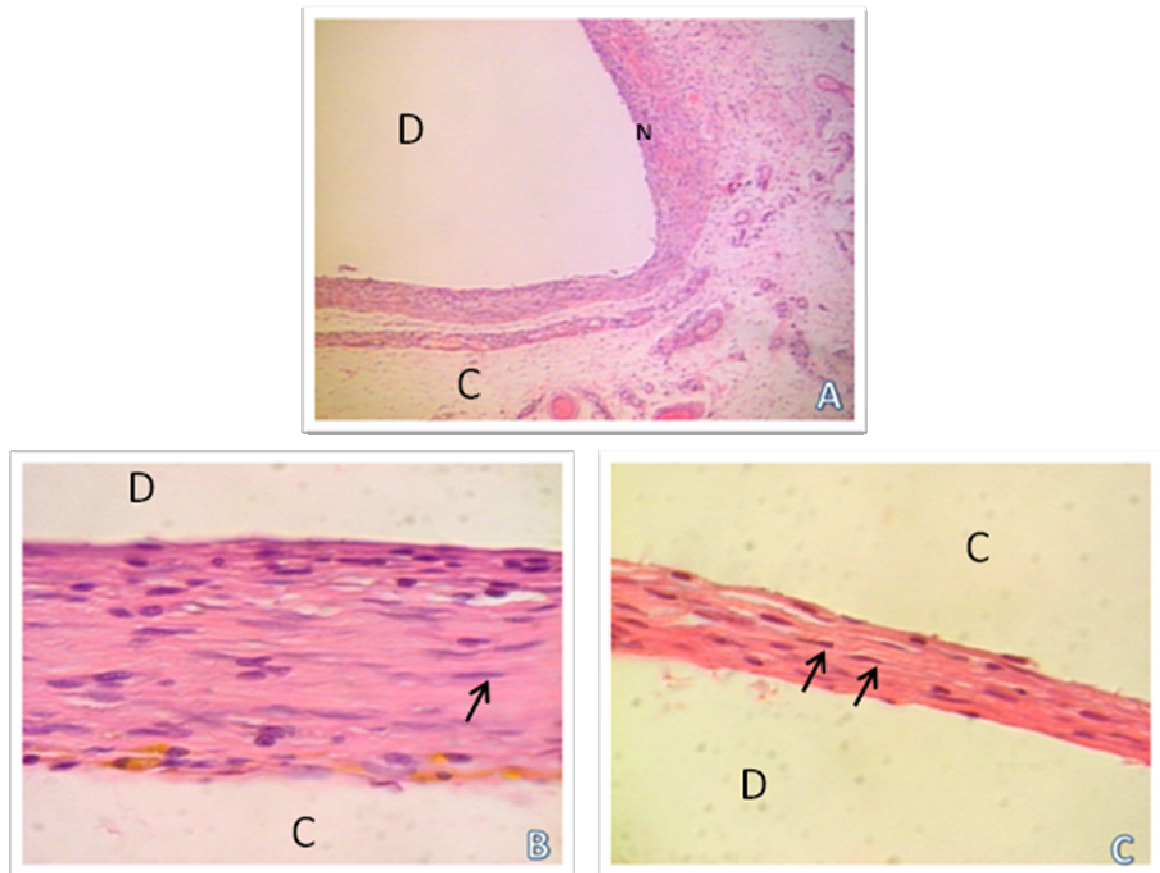


Figura 9 - Grupo Controle Estéril. Foto A – corte histológico aos 7 dias (aumento 4X), neste é possível observar um discreto infiltrado inflamatório com presença de neutrófilos(N), sem característica de abscedação; Foto B – Corte histológico aos 28 dias (aumento 40X), onde observou-se um tecido conjuntivo formado principalmente por fibroblastos(seta preta) e a ausência de um infiltrado inflamatório; Foto C – corte histológico aos 84 dias (aumento 40X) observa-se a cápsula mais delgada formando um tecido com um maior grau de fibrosamento e com presença de grande número de fibroblastos(setas pretas). D = Área onde se encontrava o disco de titânio; C = Tecido conjuntivo.

V.2- Análise Morfométrica

A análise morfométrica descreveu o tecido conjuntivo formado ao redor dos discos de titânio nos períodos de 7, 28 e 84 dias. Na tabela a seguir constam os resultados das médias da espessura para cada grupo e período, assim como a comparação entre estes períodos:

Tabela 1 – Médias e seus respectivos desvios-padrão das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos obtidas em μm , nos períodos de 7, 28 e 84 dias.

Períodos	7 dias		28 dias		84 dias	
	Média (em μm)	\pm DP	Média (em μm)	\pm DP	Média (em μm)	\pm DP
Grupos 1	400,738 ^a	$\pm 189,738$ ₁	63,325 ^a	$\pm 39,8720$	55,437 ^{ab}	$\pm 20,5779$
Grupos 2	472,503 ^b	$\pm 170,848$ ₄	82,99 ^{bc}	$\pm 42,3088$	47,19 ^a	$\pm 21,8349$
Grupos 3	451,732 ^{ab}	$\pm 217,390$ ₇	68,341 ^{ab}	$\pm 21,7496$	52,679 ^{ab}	$\pm 28,2304$
Grupos 4	294,575	$\pm 172,505$ ₃	55,909 ^a	$\pm 17,0991$	62,99 ^{ab}	$\pm 27,7383$
Grupos C	670,337	$\pm 302,937$ ₃	144,324	$\pm 149,366$ ₂	184,877	$\pm 220,713$ ₄
Grupos E	104,587 ^a	$\pm 48,7770$	90,958 ^c	$\pm 34,3513$	71,582 ^b	$\pm 34,0059$

Não foram consideradas as diferenças de rugosidade, apenas os tipos de tratamentos aplicados.

Ausência de letras indicam diferença estatisticamente significativa, por período.

Letras iguais significam ausência de diferença estatística, por período.

No período inicial de 7 dias (tabela1, página 69) observou-se uma menor espessura da cápsula no grupo controle estéril, com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$) em relação a todos os demais grupos. O grupo controle contaminado apresentou a maior espessura, estatisticamente significativa entre todos os grupos ($P < 0,001$). O grupo 4 (ácido fosfórico) foi o tratamento que resultou na formação da cápsula mais delgada entre todos os tratamentos, com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$). Em relação aos demais grupos experimentais 1, 2 e 3 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina e EDTA), os grupos 1 (ácido cítrico com tetraciclina) e 3 (EDTA) não apresentaram diferença

estatisticamente significativa entre si, assim como entre os grupos 2 (tetraciclina) e 3 (EDTA), diferença estatisticamente significativa também não ocorreu.

No período de 28 dias (tabela 1, página 69), o grupo controle estéril apresentou uma espessura de 90,958 μ m, não houve diferença estatisticamente significativa com o grupo 2 (tetraciclina). O grupo contaminado apresentou a maior espessura, com diferença estatisticamente significativa ($P < 0,001$) em relação a todos os outros grupos. Os grupos 1, 3 e 4 (ácido cítrico com tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, e as espessuras das cápsulas foram estatisticamente menores que no grupo controle estéril ($P < 0,001$ para os grupos 1 e 4; $P = 0,004$ para o grupo 3).

No período final de 84 dias (tabela 1, página 69), no grupo controle contaminado houve maior espessura, estatisticamente significativa em relação a todos os grupos (1, 2, 3, 4 e o estéril) com $P < 0,001$. O grupo 2 (tetraciclina) apresentou menor espessura que o grupo controle estéril ($P = 0,021$), porém com relação aos grupos 1, 3 e 4 (ácido cítrico com tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico), não ocorreu diferença estatisticamente significativa.

Avaliando a progressão da espessura em todos os grupos aos 7, 28 e 84 dias, podemos observar que (Tabelas 1 e 2 e Figura 10, Páginas 69, 72 e 71):

- Grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina): ocorreu redução estatisticamente significativa de 337,413 μ m do 7^o para o 28^o dia ($P < 0,001$). Do 28^o para 84^o dia, essa redução foi de 7,888 μ m e não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo 2 (tetraciclina): ocorreu redução estatisticamente significativa de 389,513 μ m do 7^o para o 28^o dia ($P < 0,001$). Do 24^o ao 84^o, essa redução foi de 35,800 μ m e foi também estatisticamente significativa ($P < 0,01$).
 - Grupo 3 (EDTA): ocorreu redução estatisticamente significativa de 183,392 μ m do 7^o para o 28^o dia ($P < 0,001$). Do 28^o para o 84^o dia, essa redução foi de 15,661 μ m e não foi estatisticamente significativa.
-
-

- Grupo 4 (ácido fosfórico): ocorreu redução estatisticamente significativa de 238,666 μm do 7º para o 28º dia ($P < 0,001$). Do 28º para 84º dia, essa redução foi de 7,080 μm e não foi estatisticamente significativa.
- Grupo Controle Contaminado (controle positivo): ocorreu redução estatisticamente significativa de 526,013 μm do 7º para o 28º dia ($P < 0,001$). Do 28º para o 84º dia, houve um aumento de 40,563 μm mas que não foi estatisticamente significativa.
- Grupo Controle Estéril (controle negativo): ocorreu uma redução estatisticamente significativa de 13,629 μm do 7º para o 28º dia ($P < 0,01$). Do 28º para o 84º dia, essa redução foi de 19,380 μm , também e foi estatisticamente significativa ($P < 0,001$).

Figura 10 - Médias das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos, obtidas em μm nos períodos de 7, 28 e 84 dias.

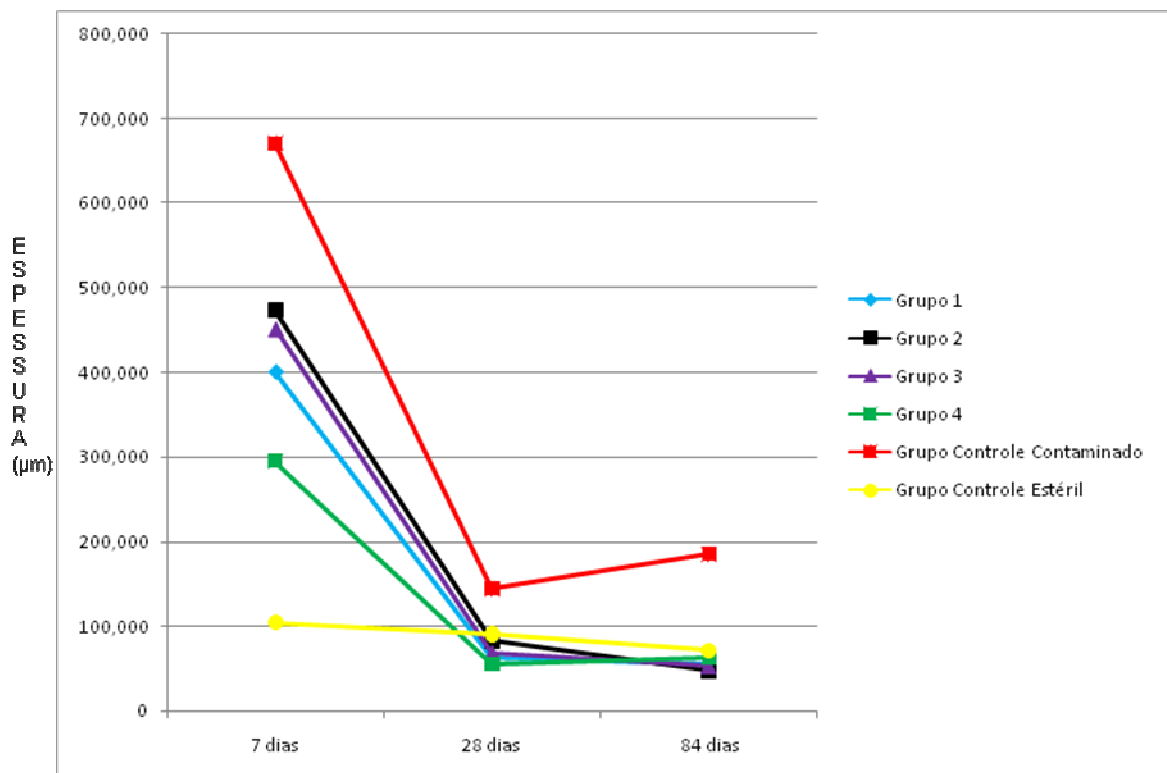


Tabela 2 - Diferenças médias das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos, obtidas em μm nos períodos comparativos de 7° para 28°, 7° para 84° e de 28° para 84° dias.

Grupos	Diferença de 7° para 28° dias	Diferença de 7° para 84° dias	Diferença de 28° para 84° dias
1	337,413 ^a	345,301 ^a	7,888 ^a
2	389,513 ^a	425,314 ^b	35,800 ^b
3	183,392 ^a	399,053 ^{ab}	15,661 ^b
4	238,666	231,585	7,080 ^a
C	526,013	485,46	-40,563
E	13,629	33,004	19,380 ^b

Letras iguais representam ausência de diferença estatística por período.

Ausência de letras indicam diferença estatisticamente significativa, por período.

Não foram consideradas as diferenças de rugosidade, apenas os tipos de tratamentos aplicados.

Os dados das variações na espessura das cápsulas formadas estão inseridos na Tabela 2. Nela é possível observar que não houve diferença estatisticamente significativa no período de 7 para 28 dias entre os grupos 1 (ácido cítrico com tetraciclina), 2(tetraciclina) e 3(EDTA). Entre todos os outros grupos houve diferença estatística ($P < 0,001$).

Comparando-se a variação da espessura ocorrida de 7 para 84 dias (Tabela 2, Página 72), observou-se que não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos 3 (EDTA), 1(ácido cítrico com tetraciclina) e 2 (tetraciclina); entre todos os outros grupos houve diferença estatística ($P < 0,001$). O grupo controle estéril teve a menor redução em sua espessura ($33,004\mu\text{m}$) e o grupo controle contaminado teve a maior redução ($503,108\mu\text{m}$). Ao avaliar apenas os grupos testes (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico), o grupo 4 (ácido fosfórico) exibiu a menor diminuição ($231,585\mu\text{m}$).

Em se tratando da variação na espessura nos períodos de 28 para 84 dias, observou-se que não ocorreu diferenças estatisticamente significativa entre os grupos 1(ácido cítrico com tetraciclina) e o 4(ácido fosfórico), e entre os grupos 2(tetraciclina), 3 EDTA e o grupo controle estéril. Em relação ao grupo controle

contaminado ocorreu um aumento espessura, porém esse aumento não foi estatisticamente significativo. Observou-se a redução estatisticamente significativa nos grupos 2 (tetraciclina) e estéril (controle negativo). O grupo 2 teve a menor espessura aos 84 dias (47,19 μ m) dentre todos os demais grupos, inclusive em relação ao grupo estéril (controle negativo).

Tabela 3- Médias e seus respectivos desvios-padrão das espessuras do tecido conjuntivo adjacente aos protótipos, obtidas em μ m nos períodos de 7, 28 e 84 dias, considerando a rugosidade; lisos (L) e rugosos (R).

Períodos	7 dias		28 dias		84 dias	
	Média (em μ m)	\pm DP	Média (em μ m)	\pm DP	Média (em μ m)	\pm DP
1L	342,256	\pm 183,7431	75,556	\pm 51,0566	46,15	\pm 14,0010
1R	459,221	\pm 178,0272	51,095	\pm 16,9306	64,725	\pm 21,9291
2L	423,686	\pm 174,3818	63,204	\pm 18,2088	37,679	\pm 14,4762
2R	521,321	\pm 153,1332	102,776	\pm 49,7568	56,7	\pm 23,4762
3L	357,806	\pm 178,0463	78,905	\pm 22,1831	36,358	\pm 10,5484
3R	545,658	\pm 213,2414	57,777	\pm 15,2750	69,001	\pm 30,8630
4L	231,798	\pm 170,6744	61,153	\pm 17,3343	61,586	\pm 30,7122
4R	357,352	\pm 150,7496	50,666	\pm 15,2213	64,395	\pm 24,4821
CL	670,337	\pm 303,7013	190,955	\pm 184,1372	87,8	\pm 35,7868
CR	675,376	\pm 299,5201	97,692	\pm 56,2785	281,954	\pm 324,3042
EL	88,143	\pm 42,1271	88,667	\pm 27,9828	71,419	\pm 30,1210
ER	121,03	\pm 49,6137	93,248	\pm 39,7280	71,746	\pm 37,6451

Na avaliação do tecido conjuntivo circunjacente, considerando a rugosidade por grupos, no período de 7 dias (Tabela 3, Página 73) houve diferença para todos os grupos. Os discos rugosos apresentaram maior espessura de tecido, comparados aos lisos, com diferença estatisticamente significativa nos grupos 1, 2, 3 e 4 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico com $P < 0,001$).

No período de 28 dias houve diferença estatisticamente significativa dentro de cada grupo em relação à rugosidade apenas nos grupos 1, 2 e 3 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA) com $P < 0,001$, sendo que apenas no grupo 2 (tetraciclina), nos discos rugosos, verificou-se a maior espessura entre os grupos testados.

Ao final dos 84 dias houve diferença estatisticamente significativa dentro dos grupos em relação à rugosidade apenas no grupo 3 (EDTA) com $P = 0,003$ e no grupo controle contaminado ($P < 0,001$). Dentro destes 2 grupos (3 e controle contaminado), nos discos rugosos observou-se maior espessura.

Tabela 4 - Médias e seus respectivos desvios-padrão da densidade de fibroblasto/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias.

Períodos	7 dias		28 dias		84 dias	
	Média	\pm DP	Média	\pm DP	Média	\pm DP
Grupos 1	0,00367 ^a	$\pm 0,000449$	0,00681 ^a	$\pm 0,00159$	0,00648 ^{ab}	$\pm 0,001584$
Grupos 2	0,00308 ^a	$\pm 0,000715$	0,00586 ^{ab}	$\pm 0,001463$	0,00734 ^a	$\pm 0,0001116$
Grupos 3	0,00311 ^a	$\pm 0,000788$	0,00585 ^{ac}	$\pm 0,001046$	0,00754 ^a	$\pm 0,002109$
Grupos 4	0,00335 ^a	$\pm 0,000779$	0,00702 ^a	$\pm 0,001484$	0,00603 ^{ac}	$\pm 0,002352$
Grupos C	0,00353 ^a	$\pm 0,000552$	0,00361 ^d	$\pm 0,000509$	0,00386 ^c	$\pm 0,000438$
Grupos E	0,00475	$\pm 0,000771$	0,0048 ^{bcd}	$\pm 0,000514$	0,00458 ^{bc}	$\pm 0,001303$

Não foram consideradas as diferença de rugosidade, apenas os tipos de tratamentos aplicados. Letras iguais significam ausência de diferença estatística por período.

Conforme na tabela 4 (Página 74), a densidade de fibroblastos aos 7 dias foi estatisticamente significativamente maior (0,00475) no grupo controle estéril em relação aos grupos 1, 2, 3, 4 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico) e controle contaminado ($P < 0,001$). Entre os outros grupos não houve diferença estatística.

No período de 28 dias houve diferença estatística entre o grupo controle contaminado (0,00361), que teve a menor densidade de fibroblastos entre todos os

grupos, e os grupos 1 (0,00681) e 4 (0,00702) com $P < 0,001$. Houve também diferença estatística entre o grupo controle contaminado e os grupos 2 e 3 e entre o grupo estéril e o grupo 4, porém com $P = 0,001$. Entre o grupo controle estéril e o grupo 1 houve diferença estatística com $P = 0,003$. Na análise entre o grupo controle contaminado e o grupo controle estéril não ocorreu diferença estatisticamente significativa e eles tiveram menores densidades em relação aos 4 grupos testes.

Em relação ao período de 84 dias, houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle contaminado e os grupos 1, 2 e 3 ($P < 0,01$) e entre o grupo controle estéril e os grupos 1 e 2 ($P < 0,01$).

Na análise da progressão da densidade de fibroblastos/área (μm^2), em todos os grupos aos 7, 28 e 84 dias pôde-se observar que (Tabelas 4 e 5, Figura 11, Páginas 74, 77 e 76):

- Grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina): ocorreu aumento estatisticamente significativo de 0,00314 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, houve pequena redução de 0,000334 que não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo 2 (tetraciclina): ocorreu aumento estatisticamente significativo de 0,00278 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, houve aumento de 0,001475 e foi estatisticamente significativo ($P < 0,05$).
 - Grupo 3 (EDTA): ocorreu aumento estatisticamente significativo de 0,00274 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, houve aumento de 0,001695 e foi estatisticamente significativo ($P < 0,05$).
 - Grupo 4 (ácido fosfórico): ocorreu aumento estatisticamente significativo de 0,00367 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,00099 e não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo Controle Contaminado (controle positivo): ocorreu aumento que não foi estatisticamente significativo de 0,0008 de 7 para 28 dias. De 28
-

para 84 dias, houve aumento foi de 0,00025 e não foi estatisticamente significativa.

- Grupo Estéril (controle negativo): ocorreu aumento que não foi estatisticamente significativa de 0,000523 de 7 para 28 dias. De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,00022 e não foi estatisticamente significativa.

Figura 11 - Médias da densidade de fibroblastos/área (μm^2), nos períodos de 7, 28 e 84 dias.

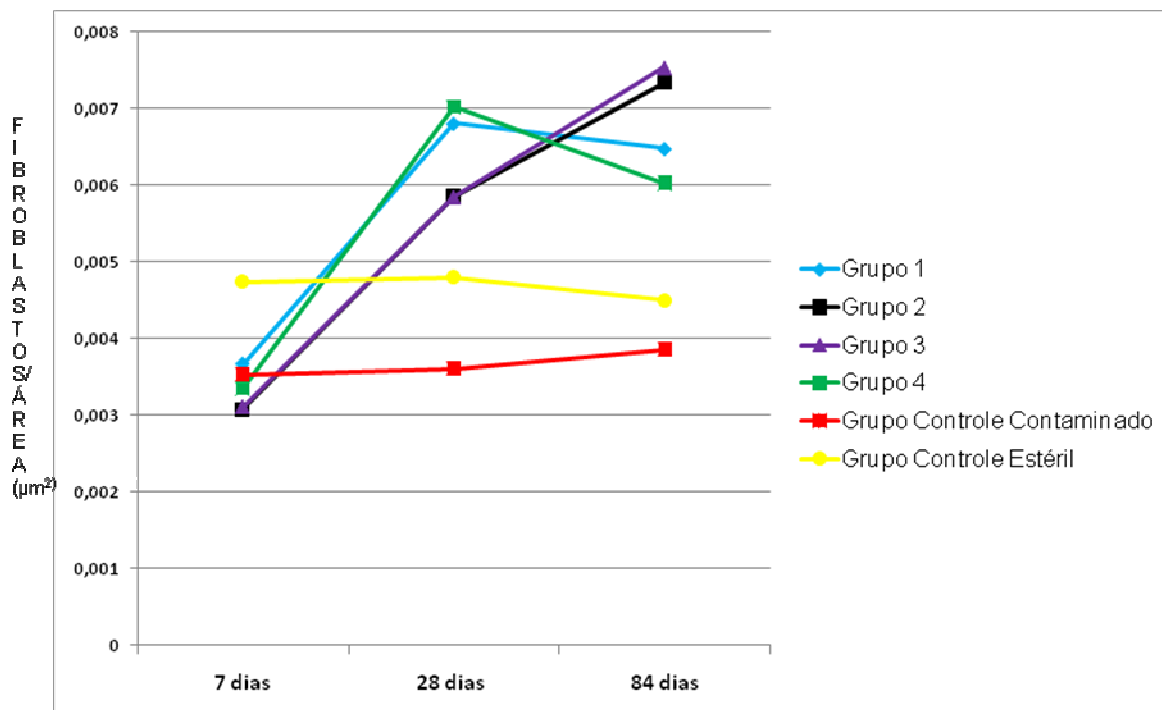


Tabela 5 - Diferenças nas médias das densidades de fibroblastos/área (μm^2), nos períodos comparativos de 7^o para 28^o, 7^o para 84^o e de 28^o para 84^o dias.

Grupos	Diferença de 7 ^o para 28 ^o dias	Diferença de 7 ^o para 84 ^o dias	Diferença de 28 ^o para 84 ^o dias
1	0,00314 ^a	0,00281 ^a	0,000334 ^a
2	0,00278 ^a	0,00426 ^a	0,001475 ^a
3	0,00274 ^a	0,00444 ^a	0,001695
4	0,00367 ^a	0,00267 ^a	-0,000990
C	0,0008	0,00033 ^b	0,00025 ^a
E	0,0000523	0,000165 ^b	-0,00022 ^a

Letras iguais indicam ausências de diferença estatística por período.

A variação na densidade de fibroblastos encontrada nas cápsulas formadas está descritas na Tabela 5 (Página 77). Nesta tabela é possível constatar que não ocorreu diferença estatística na variação da densidade de fibroblastos do período de 7 para 28 dias entre os grupos testados (1, 2, 3 e 4). Ocorreu diferença estatística entre o grupo controle contaminado em relação aos grupos testes ($P < 0,001$) e entre o grupo controle estéril e os grupos testes ($P < 0,001$), sendo que o grupo estéril foi o que menos variou neste período.

Na análise de 7 para 84 dias, os mesmos resultados foram encontrados. Ocorreu diferença estatística entre o grupo controle contaminado em relação aos grupos teste ($P < 0,001$) e, entre o grupo controle estéril e os grupos testados (1, 2, 3 e 4) ($P < 0,001$), sendo que o grupo controle estéril foi o que menos variou neste período.

Na análise de 28 para 84 dias houve diferença estatística no grupo 2 com diferença entre os períodos de -0,001475 ($P < 0,01$) na densidade de fibroblastos, assim como no grupo 3, com diferença de -0,001695 ($P < 0,01$) na densidade de fibroblastos de um período para o outro.

Tabela 6 - Médias e seus respectivos desvios-padrão da densidade de fibroblasto/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias, considerando a rugosidade; lisos (L) e rugosos (R).

Períodos	7 dias		28 dias		84 dias	
	Média	± DP	Média	± DP	Média	± DP
1L	0,00387	±0,000444	0,00573	±0,001192	0,00743	±0,001634
1R	0,00347	±0,000397	0,0079	±0,001151	0,00553	±0,000849
2L	0,00246	±0,000288	0,00593	±0,00152	0,00729	±0,000324
2R	0,00371	±0,000303	0,0058	±0,00158	0,00739	±0,001641
3L	0,00247	±0,000458	0,00525	±0,000737	0,00645	±0,000982
3R	0,00374	±0,000422	0,00645	±0,001004	0,00864	±0,002463
4L	0,00286	±0,000563	0,00631	±0,000997	0,00576	±0,001508
4R	0,00385	±0,000665	0,00773	±0,001641	0,0063	±0,003161
CL	0,00326	±0,000322	0,00345	±0,000332	0,00362	±0,000219
CR	0,0038	±0,000632	0,00377	±0,000687	0,0041	±0,000599
EL	0,00536	±0,000771	0,00476	±0,000514	0,00435	±0,001303
ER	0,00414	±0,000676	0,00484	±0,001293	0,00482	±0,000416

A análise dos dados referentes à densidade de fibroblastos em relação à diferença de rugosidade encontra-se na tabela 6 (Página 78). Nela é possível observar que no período de 7 dias, apenas nos grupos controle contaminado e grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina) não houve diferença estatisticamente significativa entre os protótipos lisos e rugosos. No grupo 2 ($P < 0,001$); no grupo 3 ($P < 0,001$); no grupo 4 ($P = 0,004$); e no grupo controle estéril ($P < 0,001$), houve diferença estatisticamente significativa.

No período de 28 dias não ocorreu diferença estatística em relação à rugosidade em nenhum grupo, o mesmo ocorreu no período de 84 dias, onde lisos e rugosos não tiveram diferença.

Tabela 7 - Médias e seus respectivos desvios-padrão da densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias.

Períodos	7 dias		28 dias		84 dias	
	Média	\pm DP	Média	\pm DP	Média	\pm DP
1	0,00141 ^a	\pm 0,000269	0,0000484 ^a	\pm 0,0000153	3,18 ⁻²² a	0
2	0,00134 ^a	\pm 0,000167	0,0000112 ^a	\pm 0,0000196	3,32 ⁻⁰⁶ a	\pm 1,05 ⁻⁰⁵
3	0,00137 ^a	\pm 0,000194	0,0000604 ^a	\pm 0,000172	8,93 ⁻⁰⁶ a	\pm 1,9 ⁻⁰⁵
4	0,00144 ^a	\pm 0,000606	0,0000398 ^a	\pm 0,0000528	5,29 ⁻²² a	0
C	0,00241	\pm 0,000172	0,0000779 ^a	\pm 0,000192	8,39 ⁻⁰⁶ a	\pm 1,78 ⁻⁰⁵
E	0,0000754	\pm 0,00005	0,0000368 ^a	\pm 0,0000564	1,01 ⁻⁰⁶ a	\pm 3,19 ⁻⁰⁶

Não foram consideradas as diferença de rugosidade, apenas os tipos de tratamento aplicado. Letras iguais indicam ausência de diferença estatística, por período.

A tabela 7 (Página 79) mostra a densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos 3 períodos analisados. Aos 7 dias não ocorreu diferença estatística entre os 4 grupos testados: 1, 2, 3 e 4 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico), porém ao comparar estes grupos com o grupo controle contaminado verificou-se uma diferença estatística, em que os grupos testes resultaram em menor densidade em relação ao grupo controle contaminado ($P < 0,001$). O grupo controle estéril apresentou menor densidade estatisticamente significativa de neutrófilos que os grupos testados (1, 2, 3 e 4), ($P = 0,001$).

Nos períodos experimentais seguintes (28 e 84 dias), não ocorreu diferença estatística entre nenhum dos grupos.

Avaliando a progressão da densidade de neutrófilos/área (μm^2) em todos os grupos aos 7, 28 e 84 dias, observou-se que (Tabelas 7 e 8, Figura 12, Páginas 79, 81 e 81):

- Grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina): ocorreu redução estatisticamente significativa de 0,00136 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$).

De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,000005 e não foi estatisticamente significativa.

- Grupo 2 (tetraciclina): ocorreu redução estatisticamente significativa de 0,00133 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,000008 e não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo 3 (EDTA): ocorreu redução estatisticamente significativa de 0,00131 aos 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,000051 e não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo 4 (ácido fosfórico): ocorreu uma redução estatisticamente significativa de 0,00140 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,000040 e não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo Controle Contaminado (controle positivo): ocorreu uma redução estatisticamente significativa de 0,00234 de 7 para 28 dias ($P < 0,001$). De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,000073 e não foi estatisticamente significativa.
 - Grupo Controle Estéril (controle negativo): ocorreu uma redução estatisticamente não significativa de 0,0000386 de 7 para 28 dias. De 28 para 84 dias, essa redução foi de 0,000036 e não foi estatisticamente significativa.
-
-

Figura 12 - Médias da densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias.

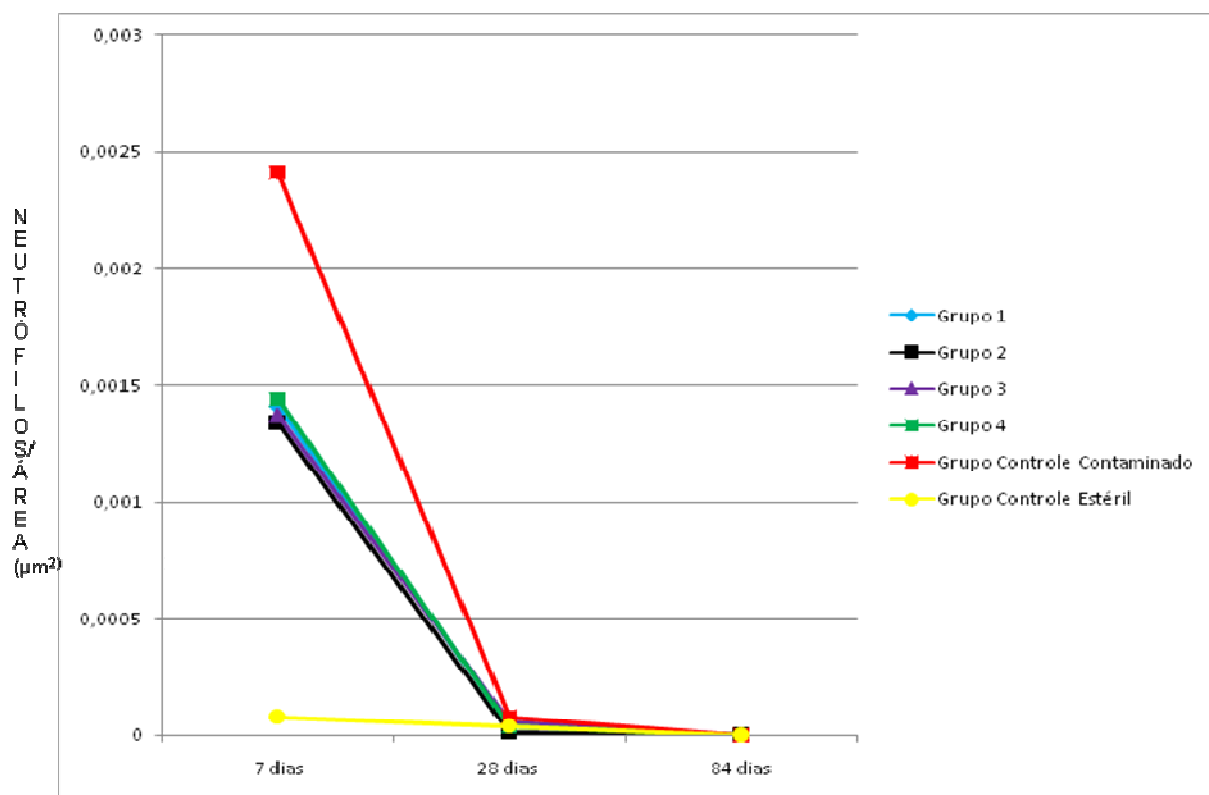


Tabela 8 - Diferenças nas médias das densidades de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos comparativos de 7° para 28°, 7° para 84° e de 28° para 84° dias.

Grupos	Diferença 7° para 28° dias	Diferença 7° para 84° dias	Diferença 28° para 84° dias
1	0,00136 ^a	0,00141 ^a	0,000005 ^a
2	0,00133 ^a	0,00134 ^a	0,000008 ^a
3	0,00131 ^a	0,00136 ^a	0,000051 ^a
4	0,00140 ^a	0,00144 ^a	0,000040 ^a
C	0,00234	0,00241	0,000073 ^a
E	0,0000386	0,0000744	0,000036 ^a

Letras iguais indicam ausência de diferença estatística por coluna.

Através da análise dos dados da tabela 8 (Página 81), verificou-se no grupo controle estéril ocorreu a menor diminuição de neutrófilos entre os períodos de 7 para 28 dias, comparando-se esta diminuição com os outros grupos (1, 2, 3, 4 e o contaminado), com diferença estatisticamente significante entre eles ($P < 0,001$).

Nos períodos de 7 para 84 dias houve diferença estatística entre o grupo estéril e os grupos 1, 2, 3, 4 e o contaminado ($P < 0,001$).

Quando avaliada a diferença de 28 para 84 dias, não ocorreu diferença estatística entre nenhum grupo em relação à diminuição da densidade de neutrófilos.

Tabela 9 – Médias e seus respectivos desvios-padrão densidade de neutrófilos/área (μm^2) nos períodos de 7, 28 e 84 dias, considerando a rugosidade; lisos (L) e rugosos (R).

Períodos	7 dias		28 dias		84 dias	
	Média	\pm DP	Média	\pm DP	Média	\pm DP
1L	0,00142	$\pm 0,000261$	$8,47^{-22}$	0	$4,24^{-22}$	0
1R	0,0014	$\pm 0,000308$	$9,68^{-06}$	$\pm 0,0000217$	$4,24^{-22}$	0
2L	0,0014	$\pm 0,000182$	0,0000124	$\pm 2,78^{-05}$	0	0
2R	0,00128	0,000135	$9,99^{-06}$	$\pm 9,4^{-06}$	$6,65^{-06}$	$1,40^{-06}$
3L	0,00129	$\pm 0,000193$	$2,54^{-21}$	0	$1,48^{-21}$	0
3R	0,00145	$\pm 0,000177$	0,000121	$\pm 0,000239$	0,0000179	$\pm 2,47^{-05}$
4L	0,00112	$\pm 8,63^{-05}$	$4,81^{-06}$	$\pm 1,08^{-05}$	$2,12^{-22}$	0
4R	0,00176	$\pm 0,000752$	0,0000747	$\pm 5,56^{-05}$	$1,059^{-21}$	0
CL	0,00248	$\pm 9,6^{-05}$	0,000156	$\pm 0,000245$	$1,69^{-21}$	0
CR	0,00235	$\pm 0,000217$	$9,32^{-21}$	0	$1,68^{-05}$	$\pm 2,91^{-05}$
EL	0,0000705	$\pm 7,23^{-05}$	$2,58^{-06}$	$\pm 5,77^{-06}$	$2,01^{-06}$	$\pm 4,5^{-06}$
ER	0,0000803	$\pm 1,85^{-05}$	0,000071	$\pm 6,48^{-05}$	0	0

Os resultados referentes à densidade de neutrófilos em relação à diferença de rugosidade encontra-se na tabela 9 (Página 82). Aos 7 dias houve diferença estatística em relação à rugosidade apenas dentro no 4 ($P < 0,001$).

Nos períodos de 28 e 84 dias não ocorreram diferenças com relação à rugosidade em nenhum grupo.

Discussão

VI DISCUSSÃO

A biocompatibilidade das superfícies de implantes em relação aos tecidos moles e duros é um requisito muito importante no sucesso da implantodontia, porém implantes acometidos por doenças peri-implantares, principalmente a peri-implantite, sofrem uma modificação em suas superfícies pelo fato de ocorrer um depósito de biofilme bacteriano composto por inúmeros microorganismos patogênicos, impedindo assim a reinserção dos tecidos peri-implantares, seja do tecido ósseo ou da mucosa peri-implantar.

Muitos estudos tiveram como objetivo protocolar o melhor tratamento da peri-implantite; diversas técnicas não invasivas e cirúrgicas com a descontaminação mecânica e química das superfícies dos implantes foram testadas, assim como a utilização de enxertos ósseos com ou sem membranas são achados freqüentes na literatura. Estas técnicas de tratamento, em sua maioria, são adaptações de técnicas utilizadas no tratamento da periodontite, uma vez que as duas doenças são muito semelhantes quanto à evolução e à composição microbiológica (Mombelli; Lang, 1998; Lang et al., 2000; Heitz-Mayfield et al., 2004; Schou et al. 2004; Jovanovic et al., 1993; Persson et al., 1996; Hanisch et al., 1997; Hurzeler et al., 1997; Alhag et al., 2008; Suh et al., 2003).

Tendo em vista a relação entre a superfície contaminada dos implantes e a necessidade de um tratamento prévio para que ocorra a formação de toda estrutura de suporte e proteção dos implantes, é necessária a descontaminação de sua superfície (Meffert, 1996). Vários métodos de descontaminação da superfície de implantes têm sido defendidos com base em evidências de estudos sobre doença periodontal, porém não existem resultados suficientes que determinem a intervenção mais eficaz no tratamento das doenças peri-implantares (Esposito et al., 2008).

Este estudo avaliou o tecido conjuntivo formado imediatamente adjacente a discos de titânio após o tratamento químico dos mesmos. Não foram observados quaisquer sinais de toxicidade decorrentes do tratamento de descontaminação, o que foi considerado por Hansson et al. (1983) como um dos critérios importantes no sucesso da implantodontia.

Com relação aos resultados obtidos neste estudo, a análise das médias das espessuras do tecido conjuntivo formado adjacente aos protótipos de titânio mostrou que a espessura média dos tecidos reacionais aos 7 dias (Tabela 1, Página 69) foram maiores em todos os grupos testes e também no grupo controle positivo (contaminado), quando comparados ao grupo controle negativo (estéril). Este resultado com menor resposta inflamatória no grupo controle estéril era esperado pelo fato dos discos deste grupo não terem sido contaminados.

A espessura do tecido conjuntivo formado no grupo 4 (ácido fosfórico) foi de 294,575 μ m, e mesmo apresentando diferença estatisticamente significante maior que o grupo controle estéril (104,587 μ m), foi o tratamento que apresentou resultados mais próximos deste último grupo, quando comparado aos outros grupos experimentais e ao grupo controle contaminado. Nos grupos 1, 2 e 3 (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina e EDTA), as médias das espessuras foram próximas entre si, porém menores que o grupo controle contaminado (controle positivo) e maiores que o grupo controle estéril (controle negativo), mostrando que o efeito produzido pela descontaminação com ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina e EDTA foram parecidos entre si, e parecem ter sido menos efetivos que o ácido fosfórico, levando-se em consideração a espessura do tecido conjuntivo no período de 7 dias de cicatrização.

No período experimental de 28 dias notou-se uma grande diminuição da espessura em todos os grupos. O grupo 4 (ácido fosfórico) continuou com a menor espessura (55,909 μ m) em relação aos grupos testes e também ao grupo controle estéril (controle negativo; 90,958 μ m).

Ao período final de 84 dias foram observadas as menores espessuras das cápsulas. No grupo 4 (ácido fosfórico) e no grupo controle contaminado (controle positivo), as médias das espessuras aumentaram entre o período de 28 para 84 dias, porém essa diferença não foi estatisticamente significante. Neste período final (84 dias), os grupos 1, 3 e 4 (ácido cítrico com tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico) não apresentaram diferença estatisticamente significante entre si e também em relação ao grupo controle estéril.

Os resultados obtidos em relação à espessura foram semelhantes aos resultados obtidos em trabalhos cujas respostas inflamatórias em tecido subcutâneo de ratos foram acompanhadas. Em estudo realizado por Therin et al. (1994) os autores verificaram que a espessura média do tecido reacional formado foi em torno de 60µm nos períodos iniciais de 1 a 2 semanas, já na 12^a semana e nos períodos experimentais de 26 a 52 semanas, essa espessura média reduziu para 45µm, independente do material testado e do tipo de superfície.

Bates et al (2011) analisaram as espessuras das cápsulas de tecido conjuntivo formadas ao redor de implantes de titânio e obtiveram como resultado a média das espessuras de 155,9µm após 4 semanas de cicatrização e de 100,9µm após 8 semanas, sendo maiores que as espessuras encontradas no presente experimento.

No trabalho realizado por Damé (2002) foram obtidos resultados diferentes ao analisar as espessuras das cápsulas formadas em subcutâneos de ratos ao redor de protótipos de titânio que receberam tratamentos de superfície na terapêutica da peri-implantite em um período de 30 dias. As cápsulas formadas adjacentes aos protótipos que receberam tratamento com ácido cítrico, ácido fosfórico e tetraciclina tiveram espessura média de 36,53; 36,35 e 40,08µm, respectivamente, sendo estas espessuras mais delgadas comparando-as aos grupos experimentais do nosso experimento. Esta diferença pode ter ocorrido pelo fato da contaminação em nosso estudo ter sido realizada com biofilme bacteriano, o que não ocorreu no trabalho realizado por Damé (2002) no qual os protótipos não foram contaminados.

No grupo 3, em que os protótipos de titânio foram descontaminados com gel EDTA, o qual é muito utilizado no tratamento da superfície radicular em cirurgias periodontais, as médias das espessuras das cápsulas fibrosas foram de 451,731; 68,341 e 52,679µm aos 7, 28 e 84 dias, respectivamente e, se mantiveram próximas aos resultados encontrados em outros trabalhos na literatura (Damé, 2002; Therin et al., 1994; Buser et al., 1997).

Os resultados das médias das espessuras do tecido conjuntivo formado ao redor dos protótipos, levando-se em consideração os diferentes tipos de rugosidade (lisos e rugosos), mostraram que no período de 7 dias (Tabela 3, Página 73) todos

os protótipos de superfície rugosa apresentaram maior espessura da cápsula comparados aos protótipos lisos, sendo esta diferença estatisticamente significativa nos grupos testados (grupos 1, 2, 3 e 4).

Caso se considere a hipótese de que as superfícies rugosas levariam à formação de uma cápsula com menor espessura, pelo fato de existir um maior imbricamento mecânico entre o tecido conjuntivo e o protótipo, o que geraria menor irritação mecânica e injúria ao tecido adjacente conforme proposto por Cheroudi et al. (1992); den Braber et al. (1997); Resende, (1999); Persson et al. (2001), os resultados do nosso estudo são discordantes, pois neste estudo foram encontradas menores espessuras aos 7 dias em todos os discos de superfície lisa. Os autores citados constataram que a superfície rugosa pode atrair e facilitar o desenvolvimento do coágulo após a cirurgia e, assim facilitar a cicatrização. Um fato a ser destacado é que os trabalhos cujos resultados são conflitantes com o deste estudo não levaram em consideração o fato da superfície rugosa apresentar maior facilidade no acúmulo microbiano; a presença deste substrato, que inicialmente estaria aderido à superfície rugosa dos protótipos, poderia justificar essa divergência nos resultados encontrados neste estudo com os relatos anteriormente citados.

Além das espessuras das cápsulas fibrosas formadas, foram avaliadas as densidades de fibroblastos presentes em todos os períodos. Esta análise mostrou que a quantidade inicial de fibroblastos aos 7 dias (Tabela 4, Página 74) foi maior no grupo controle estéril ($0,00475$ fibroblastos/ μm^2), com diferença estatisticamente significativa superior aos grupos 1, 2, 3, 4 e no grupo controle contaminado (controle positivo). Com relação à densidade de fibroblastos neste mesmo período (7 dias) nos grupos testados, não ocorreu diferença estatisticamente significativa, mesmo quando comparados ao grupo controle contaminado (controle positivo).

No período de 28 dias ocorreu um aumento significativo na densidade de fibroblastos nos grupos 1, 2, 3 e 4, porém nos grupos controle estéril e controle contaminado essa densidade não variou, mantendo-se estável.

Ao final dos 84 dias (Tabela 4, Página 74) no grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina) a densidade de fibroblastos diminuiu, mas sem diferença estatisticamente significativa, no grupo 2 (tetraciclina) e no grupo 3 (EDTA), a

densidade aumentou significativamente de 0,00586 e 0,00585 para 0,00734 e 0,00754, respectivamente. No grupo 4 (ácido fosfórico) ocorreu uma redução estatisticamente significante de 0,00702 para 0,00603.

Os resultados obtidos em relação à densidade de fibroblastos em nenhum grupo teste foram similares ao grupo controle estéril (controle negativo), pois a densidade neste grupo sempre se manteve em número inferior aos grupos que receberam algum tipo de tratamento para a descontaminação de sua superfície. Isto leva à suposição de que nenhum tratamento conseguiu restabelecer plenamente as características superficiais encontradas nos protótipos estéreis.

As cápsulas fibrosas, nos períodos finais de cicatrização (28 e 84 dias), foram quase exclusivamente compostas por fibroblastos, conforme esperado, uma vez que alguns trabalhos relataram a presença deste tipo celular em superfície de titânio como sendo característico da biocompatibilidade deste material Branemark (1987); Chehroudi et al. (1992); Mericske-Stern et al. (1997). Assim, é possível admitir que as superfícies de titânio tratadas com as técnicas propostas tornaram-se com características mais biocompatíveis.

Ao considerar a rugosidade dos protótipos na análise da densidade de fibroblastos no período de 7 dias, conforme observado na tabela 6 (Página 78), houve diferenças estatisticamente significantes entre as superfícies rugosa e lisa nos grupos 2, 3, 4 (tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico) e no grupo controle estéril (controle negativo), sendo que nos grupos 2, 3 e 4, os discos de superfície rugosa levaram à uma resposta inicial com maior densidade de fibroblastos que os lisos. Já no grupo estéril e no grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina), os discos lisos mostraram maior densidade de fibroblastos que os rugosos. No período de 84 dias de cicatrização, a densidade de fibroblastos aumentou nos grupos 1, 2, 3 e 4, tanto nos lisos, como nos rugosos e, assim como no período de 7 dias, os grupos 2, 3 e 4 mostraram maior densidade de fibroblastos nos grupos rugosos. Porém, apenas no grupo 3 (EDTA) a diferença entre rugosos e lisos foi estatisticamente significante.

A maior densidade de fibroblastos em superfícies lisas encontradas nos grupos 1 (ácido cítrico) e controle estéril (controle negativo), aos 7 dias, está de acordo com o trabalho publicado por Kononen et al. (1992), pois os autores

sugeriram que as superfícies de titânio lisas são as regiões dos implantes que mais favorecem o crescimento de fibroblastos quando estão adjacentes aos tecidos moles

Os resultados da densidade de fibroblastos foram os mesmos encontrados por Berglundh et al. (2007), os quais relataram que no período inicial de 4 dias, a quantidade de fibroblastos e fibras colágenas foram menores e no período de 2 a 6 semanas existia uma grande quantidade de fibroblastos no tecido conjuntivo formado, sendo estes o tipo celular predominante com a presença de fibras colágenas organizadas. Segundo esses autores, a quantidade de fibroblastos a partir de 6 semanas e até o final do experimento, na 12^a semana, se mantiveram estáveis.

Buser et al. (1992) analisaram a cicatrização do tecido conjuntivo ao redor de implantes de titânio e concluíram que aos 3 meses este tecido encontrava-se cicatrizado, sua composição era de fibras colágenas com poucos vasos sanguíneos, predominando fibroblastos, e havia ausência de inflamação. Resultado semelhante aos grupos testados em nossa pesquisa, em que ao final do período de 84 dias, predominaram fibroblastos com a presença de fibras colágenas organizadas.

Na análise da densidade de neutrófilos (quantidade de neutrófilos/ área em μm^2) pôde-se observar (Tabela 7, Página 79) que aos 7 dias os grupos tratados com ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina, EDTA e ácido fosfórico não apresentaram densidades diferentes estatisticamente significante entre si. Mas, ao comparar esta resposta com o grupo controle estéril (controle negativo), a densidade de neutrófilos de todos os grupos que receberam tratamento foi significativamente maior que o grupo estéril.

A comparação de todos os grupos que receberam tratamento de descontaminação (1, 2, 3 e 4) com o grupo controle contaminado (controle positivo) mostrou que a densidade de neutrófilos dos grupos descontaminados foi significativamente menor que no grupo controle contaminado, sugerindo assim que apesar de não terem sido efetivos ao ponto de gerarem uma descontaminação absoluta, foi obtido um efeito positivo em todos os grupos, sendo estes resultados muito superiores que a ausência de um método de descontaminação.

Aos 28 dias, a densidade de neutrófilos reduziu em todos os grupos, inclusive no grupo controle contaminado (controle positivo). Esta redução era esperada, ao longo do período experimental, pelo fato de existir uma resposta inflamatória inicial que tende a diminuir com o passar do tempo, como foi demonstrado por Therin et al. (1994), que mostraram que com o passar do tempo há diminuição de células inflamatórias e aumento de fibroblastos.. A presença de neutrófilos esparsos, nos períodos de 28 e 84 dias, não foi característica de uma resposta inflamatória, conforme descrito por Abrahamsson et al. (2001) como sendo um aspecto de normalidade no tecido conjuntivo ao redor de implantes.

A diminuição da inflamação, encontrada neste experimento, está de acordo com os trabalhos realizados por Berglundh et al. (2007); Bates et al. (2011) que mostraram a presença de uma resposta inflamatória inicial ao redor de implantes e cessamento desta inflamação na 4^a semana, além do tecido conjuntivo apresentar-se organizado.

O fato desta diminuição de neutrófilos também ocorrer de forma acentuada no grupo controle contaminado nos períodos mais avançados, grupo este em que nenhuma descontaminação foi realizada, mostra que ao longo do tempo, o processo de infecção local acaba sendo debelado pelo sistema imune.

Levando-se em consideração a densidade de neutrófilos para os 2 tipos de protótipos utilizados (lisos e rugosos), pôde-se observar na tabela 9 (Página 82) que ocorreu diferença estatisticamente significativa apenas no grupo 4, onde observou-se maior presença de neutrófilos nos protótipos rugosos, comparados aos lisos.

Esses achados na densidade de neutrófilos em relação às diferentes rugosidades das superfícies testadas (lisas e rugosas) mostraram que na maioria dos grupos não ocorreu diferença estatisticamente significativa, podendo afirmar que a rugosidade não interferiu na dificuldade de realizar a descontaminação. Esses resultados estão de acordo com Pereira da Silva et al. (2005), que obtiveram a descontaminação das superfícies de titânio independente do tipo de superfície, porém são divergentes aos obtidos por Dennison et al. (1994); Teughels et al. (2006), que concluíram que as superfícies rugosas apresentam maior facilidade na

formação de biofilme e também dificuldade na remoção do mesmo quando comparadas às superfícies lisas.

Em relação aos grupos experimentais, pôde-se observar que o grupo 1 (ácido cítrico com tetraciclina) apresentou a média da espessura da cápsula fibrosa formada foi semelhante aos grupos 2 (tetraciclina) e 3 (EDTA) no período de 7 dias, podendo relacionar ao trabalho realizado por Meffert et al. (1992); Meffert (1994); Merffert (1996), onde os autores concluíram que o ácido cítrico produziu um ótimo efeito no tratamento de descontaminação quando comparado aos implantes que não receberam nenhum tratamento para peri-implantite. Porém, não se pode concluir que o tratamento com ácido cítrico com tetraciclina seja o melhor tratamento, uma vez que não ocorreu melhores resultados em todos os parâmetros avaliados (inflamação e fibrosamento)

Em outros estudos, a eficiência no tratamento da peri-implantite com a utilização de ácido cítrico para a descontaminação da superfície de implantes foi avaliada (Gosau et al., 2010; Meffert, 1992; Meffert et al., 1992; Zablotsky et al., 1992; Jovanovic et al., 1993; Zablotsky, 1993; Meffert, 1994; Hanisch et al., 1997; Mouhyi et al. 1998; Kolonidis et al., 2003; Alhag et al., 2008), os quais mostraram a possibilidade de realizar esta descontaminação sem prejuízo para os tecidos peri-implantares, conseguindo, inclusive, a formação de novo tecido ósseo ao redor dos implantes em alguns casos. Assim como no estudo de Alhag et al. (2008), que mostrou possível realização da descontaminação da superfície de implantes contaminados com biofilme bacteriano através da utilização de ácido cítrico, com promoção da re-osseointegração nos implantes de superfície rugosa.

No grupo 2, que recebeu tratamento com tetraciclina, foi possível observar na tabela 1 (Página 69) que a média da espessura da cápsula formada foi, ao final do período de 84 dias, a mais delgada, sem considerar a rugosidade do disco, resultados que estariam muito próximos aos resultados encontrados por Therin et al. (1994). Porém, a divergência observada em relação aos discos rugosos e lisos mostra uma maior diferença estatisticamente significativa na espessura no grupo rugoso.

Em concordância com os resultados do grupo 2, Suh et al. (2003) realizaram a eliminação das roscas expostas de implantes que apresentavam peri-implantite, com o intuito de diminuir a rugosidade e facilitar a descontaminação de suas superfícies e, aplicaram solução de tetraciclina para descontaminação das superfícies dos mesmos. Foram realizados também enxertos com tecido ósseo autógeno. Após controle de 6 meses, os autores notaram a formação de novo tecido ósseo em contato com a superfície dos implantes, o que demonstrou de certa forma a eficácia da descontaminação associada à técnica regenerativa.

A análise da densidade de fibroblastos e de neutrófilos no grupo 2 (tetraciclina) não mostrou diferença estatisticamente significativa em nenhum período quando comparada aos demais grupos testes. Ao observar que após 84 dias a densidade de neutrófilos foi muito baixa, é possível relacionar com os resultados de sucesso obtidos por Mellonig et al. (1995) na descontaminação da superfície de implantes osseointegrados utilizando a tetraciclina no tratamento da peri-implantite.

Em relação ao grupo 3 (EDTA), apesar de pouco utilizado na descontaminação da superfície de implantes, foram encontrados relatos que associam a sua função na remoção da “smear layer” às propriedades antibacteriana e fungicida Putzer et al. (2008), o que poderia justificar os resultados similares, quando da sua utilização neste estudo, aos demais tratamentos propostos (ácido cítrico com tetraciclina, tetraciclina e ácido fosfórico). Apesar de haver poucos relatos na literatura sobre sua utilização para descontaminação de superfície de implantes, aqueles que existem comprovam alguma eficácia. A sua utilização foi descrita por Rocuzzo et al. (2011), onde os autores utilizaram EDTA para descontaminação da superfície de implantes osseointegrados previamente à aplicação de solução de clorexidina com subsequente preenchimento dos defeitos com osso bovino liofilizado, estes concluíram que a utilização da técnica de 2 passos para descontaminação (EDTA + clorexidina), empregado no estudo pela primeira vez na literatura, surtiu bons resultados.

As superfícies lisas apresentam menores taxas de re-osseointegração, uma vez que, segundo Parlar et al. (2009), a superfície dos implantes está diretamente relacionada à taxa de osseointegração, onde as rugosas apresentam índices superiores após o tratamento da peri-implantite Persson et al. (2001).

Pareceu-nos que o ácido fosfórico resultou em menor resposta inflamatória e, conseqüentemente, promoveu melhor descontaminação da superfície dos protótipos de titânio contaminados por biofilme bacteriano aos 7 dias.

Embora muitos fatores possam interferir no processo de regeneração, também uma resolução rápida do processo inflamatório com a eliminação da flora bacteriana é importante, pois a perpetuação da infecção/inflamação por um período longo pode interferir no tipo de povoamento celular da área e conseqüentemente no tipo de tecido formado (Fearson; Austen, 1978).

Resultados encontrados por Strooker et al. (1998) mostraram que a aplicação de gel de ácido fosfórico durante 1 minuto em implantes osseointegrados, seguido por lavagem com jato de água, resultou em melhora dos parâmetros clínicos de índice gengival e profundidade média de sondagem. Essa diminuição pareceu ser tão eficaz quanto a terapia de suporte mecânico convencional com curetas de carbono.

Os resultados obtidos em nosso experimento mostraram que o tratamento de descontaminação da superfície com ácido cítrico com tetraciclina; tetraciclina; EDTA e ácido fosfórico possuem efeitos significativos, principalmente quanto à resposta tecidual inicial, onde os parâmetros avaliados indicam uma diferença a favor de todos os tratamentos, quando comparados ao grupo que não recebeu nenhum tratamento.

A comparação entre 28 e 84 dias mostrou que praticamente não ocorreram alterações significativas entre estes períodos. A análise de todos os dados obtidos neste estudo indicou que ao período final de 84 dias, as repostas foram muito similares entre si, mostrando que todos os tratamentos são efetivos neste período. Em se tratando do período inicial (7 dias), o ácido fosfórico (grupo 4) teve os melhores resultados com relação à espessura da cápsula, que foi de 294,575 μ m, sendo a menor espessura em relação aos outros tratamentos testados.

Uma observação importante deve ser feita em relação ao EDTA, que apresentou resultados semelhantes aos tratamentos com ácido cítrico com tetraciclina e à tetraciclina, o que aponta a necessidade da realização de novas pesquisas a fim de avaliar a sua utilização como forma de descontaminação da

superfície de titânio para o tratamento da peri-implantite, uma vez que na literatura existem poucas evidências em relação a sua utilização na descontaminação da superfície de implantes.

Conclusão

VII CONCLUSÃO

Diante da metodologia desenvolvida, dos resultados obtidos e das limitações deste trabalho, é possível concluir que:

1. Os tecidos reacionais formados em todos os grupos experimentais no período de 7 dias foram característicos de infiltrado inflamatório e, nos períodos de 28 e 84 dias, apresentaram-se como um tecido conjuntivo fibroso, demonstrando um debelamento do processo de contaminação inicial nos grupos que foram previamente contaminados, seja pelo tratamento aplicado e/ou pela ação do sistema imune;
 2. Os diferentes tratamentos de descontaminação resultaram em menores espessuras de tecido conjuntivo na formação tecidual circunjacente aos protótipos de superfícies lisas, talvez demonstrando um aspecto de maior biocompatibilidade da superfície lisa após o tratamento de descontaminação, o que de certa forma teria de se admitir maior efetividade na descontaminação dos protótipos lisos;
 3. A densidade de neutrófilos foi grande no período inicial com redução nos períodos de 28 e 84 dias, enquanto os fibroblastos apresentaram um aumento em sua densidade com o passar dos períodos em todos os grupos;
 4. O tratamento com ácido fosfórico revelou melhores resultados na descontaminação inicial, considerando o número de neutrófilos, tendo como base o grupo controle estéril (controle negativo);
 5. No período final de 84 dias todos os grupos mostraram-se semelhantes em relação às espessuras das cápsulas, densidade de neutrófilos e fibroblastos.
-

Referências

REFERÊNCIAS

Abrahamsson I, Zitzmann NU, Berglundh T, Wennerberg A, Lindhe J. Bone and soft tissue integration to titanium implants with different surface topography: an experimental study in the dog. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001; 16(3): 323-32.

Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*. 1981; 10(6): 387-416.

Albouy JP, Abrahamsson I, Persson LG, Berglundh T. Implant surface characteristics influence the outcome of treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(1): 58-64.

Albrektsson T, Isidor F. Concensus report of session IV. In: Lang, NP; Karring, T; editors. *Proceeding of the 1st European Workshop on Periodontology*. London: Quintessence Publishing. 1994; 365-9.

Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont*. 2004; 17(5): 544-64.

Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986; 1(1): 11-25.

Alhag M, Renvert S, Polyzois I, Claffey N. Re-osseointegration on rough implant surfaces previously coated with bacterial biofilm: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19(2): 182-7.

Bates C, Marino V, Fazzalari NL, Bartold M. Soft Tissue Attachment to Titanium Implants Coated with Growth Factors. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011

Berglundh T, Abrahamsson I, Welander M, Lang NP, Lindhe J. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* . 2007; 18(1): 1-8.

Berglundh T, Gotfredsen K, Zitzmann NU, Lang NP, Lindhe J. Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2007; 18(5): 655-61.

Berglundh T, Lindhe J. Dimension of the periimplant mucosa. Biological width revisited. *J Clin Periodontol*. 1996; 23(10): 971-3.

Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res*. 1991; 2(2): 81-90.

Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1992; 3(1): 1-8.

Branemark PI. Introduction to osseointegration. In: Branemark PI, Zarb G A, Albrektsson T. *Tissue-integrated prostheses*. Chicago, Quintessence Publishing Co.: Cap. 1, 11-76, 1987.

Brookshire FV, Nagy WW, Dhuru VB, Ziebert GJ, Chada S. The qualitative effects of various types of hygiene instrumentation on commercially pure titanium and titanium alloy implant abutments: an in vitro and scanning electron microscope study. *J Prosthet Dent*. 1997; 78(3): 286-94.

Buser D, Mericske-Stern R, Bernard JP, Behneke A, Behneke N, Hirt HP, Belser UC,

Lang NP. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin Oral Implants Res*. 1997; 8(3): 161-72.

Buser D, Weber HP, Donath K, Fiorellini JP, Paquette DW, Williams RC. Soft tissue reactions to non-submerged unloaded titanium implants in beagle dogs. *J Periodontol.* 1992; 63(3): 225-35.

Chehroudi B, Gould TR, Brunette DM. The role of connective tissue in inhibiting epithelial downgrowth on titanium-coated percutaneous implants. *J Biomed Mater Res.* 1992; 26(4): 493-515.

Damé JAM. Reação do tecido subcutâneo de ratos a implantes de Ti cp submetidos a tratamentos superficiais para peri-implantite[Tese]. Bauru(SP): Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo;2002.

den Braber ET, de Ruijter JE, Jansen JA. The effect of a subcutaneous silicone rubber implant with shallow surface microgrooves on the surrounding tissues in rabbits. *J Biomed Mater Res.* 1997; 37(4): 539-47.

Dennison DK, Huerzeler MB, Quinones C, Caffesse RG. Contaminated implant surfaces: an in vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. *J Periodontol.* 1994; 65(10): 942-8.

Donley TG, Gillette WB. Titanium endosseous implant-soft tissue interface: a literature review. *J Periodontol.* 1991; 62(2): 153-60.

Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Edlund T, Lindhe J. The effect of antimicrobial therapy on periimplantitis lesions. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1996; 7(4): 320-8.

Esposito M, Grusovin MG, Patel S, Worthington HV, Coulthard P. Interventions for replacing missing teeth: hyperbaric oxygen therapy for irradiated patients who require dental implants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008; (1): CD003603.

Fearson DT, Austen KR. Activation of the alternative complement pathway by E coli: resistance of bound c3b to inactivation by c3b INA and BIH, *J Immunol.* 1978; 120(5): 1772.

Furlani TA. Efeito do lactate de cálcio aplicado previamente ao dentifrício fluoretado na desmineralização do esmalte bovino e na composição da placa bacteriana formada in situ (Tese). Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2007.

Gosau M, Hahnel S, Schwarz F, Gerlach T, Reichert TE, Burgers R. Effect of six different peri-implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clin Oral Implants Res.* 2010; 21(8): 866-72.

Gould TR, Brunette DM, Westbury L. The attachment mechanism of epithelial cells to titanium in vitro. *J Periodontal Res.* 1981; 16(6): 611-6.

Grunder U, Hurzeler MB, Schupbach P, Strub JR. Treatment of ligature-induced peri-implantitis using guided tissue regeneration: a clinical and histologic study in the beagle dog. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993; 8(3): 282-93.

Hanisch O, Tatakis DN, Boskovic MM, Rohrer MD, Wikesjo UM. Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defects following surgical implantation of rhBMP-2. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997; 12(5): 604-10.

Hanisch O, Tatakis DN, Rohrer MD, Wohrle PS, Wozney JM, Wikesjo UM. Bone formation and osseointegration stimulated by rhBMP-2 following subantral augmentation procedures in nonhuman primates. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997; 12(6): 785-92.

Hansson HA, Albrektsson T, Branemark PI. Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. *J Prosthet Dent.* 1983; 50(1): 108-13.

Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Antimicrobial treatment of peri-implant diseases. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19 Suppl: 128-39.

Hurzeler MB, Quinones CR, Schupback P, Morrison EC, Caffesse RG. Treatment of peri-implantitis using guided bone regeneration and bone grafts, alone or in combination, in beagle dogs. Part 2: Histologic findings. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997; 12(2): 168-75.

James RA. Peri-implant considerations. *Dent Clin North Am.* 1980; 24(3): 415-20.

Jovanovic SA, Kenney EB, Carranza FA Jr., Donath K. The regenerative potential of plaque-induced peri-implant bone defects treated by a submerged membrane technique: an experimental study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993; 8(1): 13-8.

Klinge B, Hultin M, Berglundh T. Peri-implantitis. *Dent Clin North Am.* 2005; 49(3): 661-76, vii-viii.

Kolonidis SG, Renvert S, Hammerle CH, Lang NP, Harris D, Claffey N. Osseointegration on implant surfaces previously contaminated with plaque. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14(4): 373-80.

Kononen M, Hormia M, Kivilahti J, Hautaniemi J, Thesleff I. Effect of surface processing on the attachment, orientation, and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. *J Biomed Mater Res.* 1992; 26(10): 1325-41.

Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clin Oral Implants Res.* 2000; 11 Suppl 1: 146-55.

Leonhardt A, Berglundh T, Ericsson I, Dahlen G. Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res.* 1992; 3(3): 112-9.

Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res.* 1992; 3(1): 9-16.

Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(8 Suppl): 282-5.

Meffert RM. Treatment of the ailing, failing implant. *J Calif Dent Assoc.* 1992; 20(6): 42-5.

Meffert RM. Maintenance and treatment of the ailing and failing implant. *J Indiana Dent Assoc.* 1994; 73(3): 22-4; quiz 25.

Meffert RM. Periodontitis vs. peri-implantitis: the same disease? The same treatment? *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996; 7(3): 278-91.

Meffert RM, Langer B, Fritz ME. Dental implants: a review. *J Periodontol.* 1992; 63(11): 859-70.

Mellonig JT, Griffiths G, Mathys E, Spitznagel J Jr. Treatment of the failing implant: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1995; 15(4): 384-95.

Mombelli A. Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 2002; 28: 177-89.

Mombelli A, Feloutzis A, Bragger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline. Clinical, microbiological and radiological results. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12(4): 287-94.

Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 1998; 17: 63-76.

Mombelli A, van Oosten MA, Schurch E Jr., Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol.* 1987; 2(4): 145-51.

Mouhyi J, Sennerby L, Pireaux JJ, Dourov N, Nammour S, Van Reck J. An XPS and SEM evaluation of six chemical and physical techniques for cleaning of contaminated titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 1998; 9(3): 185-94.

Nibali L, Donos N. Radiographic bone fill of peri-implantitis defects following nonsurgical therapy: report of three cases. *Quintessence Int.* 2011; 42(5): 393-7.

Ong CT, Ivanovski S, Needleman IG, Retzepi M, Moles DR, Tonetti MS, Donos N. Systematic review of implant outcomes in treated periodontitis subjects. *J Clin Periodontol.* 2008; 35(5): 438-62.

Parlar A, Bosshardt DD, Cetiner D, Schafroth D, Unsal B, Haytac C, Lang NP. Effects of decontamination and implant surface characteristics on re-osseointegration following treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20(4): 391-9.

Pereira da Silva CH, Vidigal GM Jr, de Uzeda M, de Almeida Soares G. Influence of titanium surface roughness on attachment of *Streptococcus sanguis*: an in vitro study. *Implant Dent.* 2005; 14(1): 88-93.

Persson LG, Araujo MG, Berglundh T, Grondahl K, Lindhe J. Resolution of peri-implantitis following treatment. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1999; 10(3): 195-203.

Persson LG, Berglundh T, Lindhe J, Sennerby L. Re-osseointegration after treatment of peri-implantitis at different implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12(6): 595-603.

Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. Guided bone regeneration in the treatment of periimplantitis. *Clin Oral Implants Res.* 1996; 7(4): 366-72.

Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. Osseointegration following treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(3): 258-63.

Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman SR, Lang NP. Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res.* 1994; 5(4): 254-9.

Putzer P, Hoy L, Gunay H. Highly concentrated EDTA gel improves cleaning efficiency of root canal preparation in vitro. *Clin Oral Investig*. 2008; 12(4): 319-24.

Renvert S, Lindahl C, Roos Jansaker AM, Persson GR. Treatment of peri-implantitis using an Er:YAG laser or an air-abrasive device: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(1): 65-73.

Renvert S, Polyzois I, Maguire R. Re-osseointegration on previously contaminated surfaces: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009; 20 Suppl 4: 216-27.

Renvert S, Roos-Jansaker AM, Claffey N. Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(8 Suppl): 305-15.

Resende, DRB. Avaliação da reação tecidual ao redor de diferentes topografias superficiais de protótipos de Ti cp implantados no subcutâneo de ratos. [Dissertação]. Bauru(SP): Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 1999.

Roccuzzo M, Bonino F, Bonino L, Dalmaso P. Surgical therapy of peri-implantitis lesions by means of a bovine-derived xenograft: comparative results of a prospective study on two different implant surfaces. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(8): 738-45.

Roos-Jansaker AM, Lindahl C, Persson GR, Renvert S. Long-term stability of surgical bone regenerative procedures of peri-implantitis lesions in a prospective case-control study over 3 years. *J Clin Periodontol*. 2011; 38(6): 590-7.

Rosenberg ES, Torosian JP, Slots J. Microbial differences in 2 clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. *Clin Oral Implants Res*. 1991; 2(3): 135-44.

Salvi GE, Persson GR, Heitz-Mayfield LJ, Frei M, Lang NP. Adjunctive local antibiotic therapy in the treatment of peri-implantitis II: clinical and radiographic outcomes. *Clin Oral Implants Res*. 2007; 18(3): 281-5.

Schenk G, Flemmig TF, Betz T, Reuther J, Klaiber B. Controlled local delivery of tetracycline HCl in the treatment of periimplant mucosal hyperplasia and mucositis. A controlled case series. *Clin Oral Implants Res.* 1997; 8(5): 427-33.

Schou S, Berglundh T, Lang NP. Surgical treatment of peri-implantitis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004; 19 Suppl: 140-9.

Schwartz Z, Kieswetter K, Dean DD, Boyan BD. Underlying mechanisms at the bone-surface interface during regeneration. *J Periodontal Res.* 1997; 32(1 Pt 2): 166-71.

Schwarz F, Sahm N, Iglhaut G, Becker J. Impact of the method of surface debridement and decontamination on the clinical outcome following combined surgical therapy of peri-implantitis: a randomized controlled clinical study. *J Clin Periodontol.* 2011;38(3): 276-84.

Shibli JA, Grassi S, de Figueiredo LC, Feres M, Marcantonio E Jr, Iezzi G, Piattelli A. Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007; 80(2): 377-85.

Speelman JA, Collaert B, Klinge B. Evaluation of different methods to clean titanium abutments. A scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res.* 1992; 3(3): 120-7.

Strooker H, Rohn S, Van Winkelhoff AJ. Clinical and microbiologic effects of chemical versus mechanical cleansing in professional supportive implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998; 13(6): 845-50.

Suh JJ, Simon Z, Jeon YS, Choi BG, Kim CK. The use of implantoplasty and guided bone regeneration in the treatment of peri-implantitis: two case reports. *Implant Dent.* 2003; 12(4): 277-82.

Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res.* 2006; 17 Suppl 2: 68-81.

Therin M, Christel P, Meunier A. Analysis of the general features of the soft tissue response to some metals and ceramics using quantitative histomorphometry. *J Biomed Mater Res.* 1994; 28(11): 1267-76.

Tinti C, Parma-Benfenati, S. Treatment of peri-implant defects with the vertical ridge augmentation procedure: a patient report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001 16(4): 572-7.

Tonetti M. Peri-implantitis: biological considerations. *J Parodontol Implantol Oracle.* 1996 15: 284-96.

van Steenberghe D. Periodontal aspects of osseointegrated oral implants modum Branemark. *Dent Clin North Am.* 1988; 32(2): 355-70.

Zablotsky MH. Chemotherapeutics in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993; 2(1): 19-25.

Zablotsky MH, Diedrich DL, Meffert RM. Detoxification of endotoxin-contaminated titanium and hydroxyapatite-coated surfaces utilizing various chemotherapeutic and mechanical modalities. *Implant Dent.* 1992; 1(2): 154-8.
