



FACULDADE
ILAPEO

Jânderson de Medeiros Cardoso

Reparo ósseo de defeitos provocados em tíbia de ratos, tratados com o uso associado da proteína derivada do esmalte e laser de baixa potência: estudo histológico e imunoistoquímico.

CURITIBA
2019

Jânderson de Medeiros Cardoso

Reparo ósseo de defeitos provocados em tibia de ratos, tratados com o uso associado da proteína derivada do esmalte e laser de baixa potência: estudo histológico e imunoistoquímico.

Dissertação apresentada a Faculdade ILAPEO como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Odontologia com área de concentração em implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Valdir Gouveia Garcia

CURITIBA
2019

Jânderson de Medeiros Cardoso

Reparo ósseo de defeitos provocados em tíbia de ratos, tratados com o uso associado da proteína derivada do esmalte e laser de baixa potência: estudo histológico e imunoistoquímico.

Presidente da Banca (Orientador): Prof. Dr. Valdir Gouveia Garcia

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes Oliveira
Prof. Dr. Rubens Moreno de Freitas

Aprovada em: 22 de maio de 2019

Dedicatória

Dedico esse trabalho à minha família, minha esposa Joelma, meus filhos Jean e Jeane, que sempre me incentivaram a buscar desafios.

Agradecimentos

AGRADEÇO,

o Professor Doutor EDILSON ERVOLINO, Professor Associado do Departamento de Ciências Básicas, Disciplina de Histologia e Embriologia e Responsável pelo Laboratório de Osteobiologia Aplicada à Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp, pelas análises histológicas, imunoistoquímicas e documentações microfotograficas do presente estudo,

a Professora Doutora LETÍCIA HELENA THEODORO, Professora Associada do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Disciplina de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp, pelo planejamento e discussão de resultados desta pesquisa,

o Doutorando LUAN FELIPE TORO do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada (área de concentração em Biologia Celular Estrutural e Funcional) do Instituto de Biociência de Botucatu, Unesp, pela colaboração na execução da parte experimental e laboratorial da pesquisa.

a Pós-doutoranda DANIELA MARIA JANJÁCOMO MIESSI da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp, pela colaboração na execução da parte experimental e laboratorial da pesquisa.

o Professor Doutor VALDIR GOUVEIA GARCIA, Professor do Programa de Pós-Graduação da Faculdade ILAPEO, por sua orientação, sua grande vontade de ensinar, empenho e ajuda na realização dessa pesquisa.

aos Professores da Faculdade ILAPEO, Luis Eduardo Padovan, Ivete Sartóri, Élcio Marcantônio, Leandro Klüppel, Rubens Moreno, Flávia Fontão, Rogéria Acedo.

as participantes do meu trio de clínica Carolina e

Gabriela. as minhas companheiras de pesquisa:

Valquíria e Márcia.

aos colegas de turma: Caio, Guilherme, André, Jorge, Bruno e Felipe.

a todos funcionários da Faculdade ILAPEO pelas ajudas imprescindíveis ao andamento do curso e das pesquisas.

Sumário

1. Artigo científico 1.....	7
2. Artigo científico 2.....	40

1. Artigo científico 1

Artigo de acordo com normas da Faculdade ILAPEO para futura publicação no periódico JOURNAL OF PERIODONTAL RESEARCH (JPR).

REPARO ÓSSEO DE DEFEITOS PROVOCADOS EM TÍBIA DE RATOS, TRATADOS COM O USO ASSOCIADO DA PROTEÍNA DERIVADA DO ESMALTE E LASER DE BAIXA POTÊNCIA: ESTUDO HISTOLÓGICO E IMUNOISTOQUÍMICO.

Jânderson de Medeiros Cardoso ¹
Valdir Gouveia Garcia ²

¹ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Implantodontia, da Faculdade Ilapeo – Curitiba/ PR

² Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Implantodontia, da Faculdade Ilapeo – Curitiba/ PR

RESUMO

Diferentes métodos de tratamento dos defeitos ósseos têm sido propostos, sem contudo apresentar um método totalmente eficiente e sem limitações. **Objetivo:** O presente estudo objetiva avaliar o reparo de defeitos ósseos em tibia de ratos. **Material e Método:** Cavidades cirúrgicas (2 mm de diâmetro) foram criadas na tibia de 36 animais que foram separados em dois grupos: **CS** – não receberam nenhum tratamento, **AMELOGENINA+FBM** cavidades tratadas com proteína derivada do esmalte (Emdogain®) seguido do tratamento com laser de baixa potência (**LBP**). Seis animais de cada grupo foram eutanasiados aos 10, 30 e 60 dias de pós-operatório. **Resultados:** Histologicamente a associação promoveu aceleração na reparação significativamente maior no período de 30 dias. O imunomarcador OCN foi maior no grupo **AMELOGENINA +FBM** em todos períodos e a TRAP maior aos 10 e 30 dias. **Conclusão:** Podemos concluir que a associação acelerou a neoformação de tecido ósseo e estimulou o processo de remodelação óssea.

Palavras-chave: Proteína derivada do esmalte; Reparação óssea; Fator de crescimento; Biomateriais, Laser de baixa potência.

ABSTRACT

Different methods of treatment of bone defects have been proposed, without however presenting a totally efficient and unrestricted method. **Objective:** This study aims to evaluate the repair of bone defects in the tibia of rats. **Material and Method:** Surgical cavities (2 mm diameter) were created in the tibia of 36 animals that were separated into two groups: **CS** - received no treatment, **AMELOGENIN + FBM** cavities treated with enamel-derived protein (Emdogain®) followed by treatment with low power laser (**LBP**). Six animals from each group were euthanized at 10, 30 and 60 postoperative days. **Results:** Histologically, the association promoted significantly greater acceleration of repair in the 30-day period. The OCN immunomarker was higher in the **AMELOGENIN + FBM** group at all periods and the TRAP greater at 10 and 30 days. **Conclusion:** We can conclude that the association accelerated the neoformation of bone tissue and stimulated the process of bone remodeling.

Keywords: Protein derived from enamel; Bone repair; Growth factor; Biomaterials, low-level laser therapy.

INTRODUÇÃO

Na prática clínica deparamos com defeitos ósseos resultantes de diferentes etiologias, como infecções (periodontite, peri-implantite), decorrentes de fraturas provocadas por traumas cirúrgicos ou não, ou até mesmo decorrentes da evolução de doenças sistêmicas.

A reparação do tecido ósseo ocorre a partir de uma cascata de eventos biológicos complexos que podem ocorrer espontaneamente e independentemente do fator etiológico que provocou a injúria. Esse processo tem seu início a partir da lesão da rede vascular da área promovendo uma redução inicialmente significativa da oxigenação e metabolismo do tecido, porém o sangue que preencherá a área lesionada logo formará o coágulo sanguíneo e uma rede de fibrina, estabilizando o sangramento. A rede de fibrina formada desempenhará importante papel pois servirá de arcabouço para que novas células atinjam o local, como as plaquetas. As plaquetas neste momento do processo podem degradar-se e liberar fatores de crescimento na área, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fatores de crescimento transformadores (TGF- β) como TGF- β 1 e TGF- β 2, que desempenham funções destacadas no reparo ósseo. Além disso o osso é um grande reservatório de fatores angiogênicos, de fatores endoteliais e de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) que são importantes para a cicatrização, a angiogênese e osteogênese (PINHEIRO. 2010).

Tão importante como os fatores de crescimento e a vascularização da área, elementos celulares como os osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, células inflamatórias, células precursoras da matriz óssea e da formação de um novo tecido ósseo (pré-osteoblastos e osteoblastos) e as células mesenquimais indiferenciadas do estroma, possuem também significativas funções no reparo (KNIGHT & HANKENSON. 2013).

O restabelecimento dos defeitos ósseos tem sido uma preocupação constante. Diferentes procedimentos e técnicas visando a estimulação da neoformação óssea e recomposição do tecido ósseo perdido tem se apresentado, destacando-se entre estes a aplicação de estímulos

químicos, biomateriais, proteínas morfogenéticas ósseas como também o uso de estímulos físicos, como o ultrassom, campo eletromagnético e mais recentemente o laser de baixa potência (GJELSVIK, 1973, PRETEL; LIZARELLI; RAMALHO 2007, EBRAHIMI et al. 2012).

O uso de biomateriais tem sido proposto para o tratamento de defeitos ósseos, quer usados como substitutos ósseos como também para estimular a sua neoformação. Dentre estes destaca-se o uso de enxertos ósseos autógenos que na literatura é considerado como o padrão ouro face sua capacidade de promover osteocondução, osteoindução além de suas propriedades osteogênicas (GARCIA-GARETA; COATHUP; BLUNN 2015). O uso de osso bovino (xenógeno) ou de materiais aloplásticos também tem sido proposto, quer usados isoladamente ou associados ao osso autógeno e de fatores de crescimento (THUAKSUBAN; NUNTANARANOUT; PRIPATNAMONT. 2010, KIM HJ et al. 2015).

Nos últimos anos o uso de uma proteína derivada da matriz do esmalte do órgão do esmalte de dentes suínos em desenvolvimento tem sido muito utilizado com o objetivo de promover a regeneração dos tecidos periodontais. Estudos demonstraram que esta proteína denominada de Emdogain[®] (Straumann[®]) associada ao tratamento cirúrgico periodontal poderá contribuir para a regeneração dos tecidos periodontais perdidos em decorrência da evolução da doença (LYNGSTADAAS et al. 2009). Estudos revelaram tratar-se de um extrato ácido purificado de proteínas do esmalte de suínos que tem sido muito empregada para a regeneração do ligamento periodontal, cimento e osso alveolar em pacientes portadores de doença periodontal, com perda de inserção severa. Os primeiros estudos do seu uso foram publicados há pouco mais de duas décadas (HEIJL 1997, HEIJL et al. 1977). O seu efeito biológico fundamenta-se na sua capacidade de estimular a secreção local de fatores de crescimento e expressão de citocinas no tecido tratado. Os efeitos benéficos desta proteína têm sido documentados na sua influência sobre o prolongamento do crescimento de odontoblastos

primários (JIANG et al. 2001), estimula a proliferação de préosteoblastos como também a diferenciação de osteoblastos jovens (SCHWARTZ et al. 2000). No entanto, o seu uso na osteogênese, na formação do tecido ósseo fora do ambiente periodontal e de seus mecanismos de ação ainda é limitado e merecedor de muitas pesquisas.

Com os adventos dos lasers a literatura tem evidenciado o seu uso na Odontologia, demonstrando resultados significativos e promissores. Dois grandes grupos de lasers tem o seu uso indicado em Odontologia; lasers de alta potência que promovem interação fototérmica ou fotomecânica com os tecidos, determinado pelo aumento da temperatura no tecido tratado, promovendo em consequência a ablação ou vaporização do tecido tratado; e os mais difundidos e utilizados, os lasers de baixa potência que atuam em fotoceptores das células (parede celular ou organelas citoplasmáticas) promovendo uma interação fotoquímica capaz de induzir aumento do metabolismo celular e conseqüentemente diferentes efeitos biológicos gerais como o analgésico, anti-inflamatório e bioestimulativo (GARCIA et al. 2010). Esta ação do LBP conceitualmente denomina-se de Fotobiomodulação (FBM) que consiste no uso de luz no espectro não ionizante, visível, próximo do infravermelho ou infravermelho que pode ser a de um laser, LED ou luz de banda larga, que tenha a capacidade de estimular a cicatrização, aliviar a dor e reduzir a inflamação (HAMBLIM 2017, TSAI & HAMBLIN. 2017). Portanto a FBM é um fenômeno fotobiológico onde a energia irradiada pelos fótons de luz emitidos, sem liberação de calor (atérmica), quando absorvida pelas células e tecidos tratados induzirão interações em diferentes níveis, fotofísicas, fotoquímicas e fotobiológicas que resultarão efeitos gerais caracterizados por respostas biológicas mais precoces, em maior intensidade e extensão, que se mostram superiores aos obtidos com métodos sem o uso da luz.

Estudo de revisão atesta que os lasers de baixa potência são capazes de acelerar a reparação óssea em sítios de exodontias, em defeitos ósseos de fraturas, em distração osteogênica, quando parâmetros adequados forem utilizados (EBRAHIMI et al. 2012).

Corroborando estes achados, outras pesquisas também demonstraram que os LBP são efetivos na FBM do tecido ósseo em diferentes condições experimentais, tanto em estudos *in vitro* quanto *in vivo*, em animais e em humanos (GIANNELLI et al. 2013, AMID et al. 2014, OLIVEIRA et al. 2016, TIM et al. 2014, SANTINONI et al. 2017). A FBM poderá ser induzida tanto por luz coerente típica dos lasers quanto por luz não coerente, típica do LED (diodo emissor de luz) e principalmente quando se emprega potências iguais ou inferiores a 100 mW (0,1 W), densidade de energia menor que 10 J/cm² e comprimento de onda que pode variar de 405 nm a 1100 nm (DE FREITAS et al. 2016). Interessante ainda ressaltar que a literatura evidência que baixa densidade de energia, de 0,4 J/cm² é suficiente capaz de influenciar positivamente o comportamento de osteoblastos e de células mesenquimais do estroma humano (TANI et al 2018).

Considerando o grande número de emissores lasers utilizados, com comprimentos de onda, potência, tempo de exposição, número de tratamento e modo de aplicação bem variados, não há ainda um protocolo definido de FBM para a osteogênese. Por outro lado, não está evidenciado na literatura pesquisas que avaliaram o uso combinado estes dois importantes estimuladores da reparação, em defeitos ósseos não periodontais. Assim, diante do exposto é que propomos avaliar no presente estudo, os efeitos da associação da AMELOGENINA com LBP nos eventos da reparação do tecido ósseo e da neoformação óssea.

MATERIAL E MÉTODO

O protocolo experimental deste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP – Campus de Araçatuba dentro das normas vigentes adotadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (Processo FOA nº. 00328-2018 aprovado em 20 de julho de 2018). (Anexo 1).

Animais

Foram utilizados 36 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) de aproximadamente 180 a 250g, com aproximadamente 2 a 3 meses de idade, provenientes do Biotério central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, SP. Os animais apresentaram-se saudáveis e em condições de serem submetidos aos procedimentos operatórios. Foram mantidos em gaiolas plásticas com cinco animais cada uma, em ambiente com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e temperatura estável no ambiente, entre $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Durante todo o experimento, os animais consumiram ração sólida selecionada (Presence[®], Neovia Nutrição e Saúde Animal Ltda, Paulínea, SP, Brasil) e água *ad libitum*.

Protocolos experimentais

Amostra

A amostra do presente estudo foi representada por animais provenientes do Biotério central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, SP. O tamanho da amostra seguiu parâmetro médio de pesquisas prévias da literatura (PRETEL, LIZARELLI, RAMALHO. 2007, Akyol et al. 2015, Atasoy et al. 2016) considerando o número de grupos, tratamentos e períodos de eutanásia, ficando estabelecido um número de 6 animais por período.

Preparo da cavidade óssea nos animais

Para a execução do procedimento experimental, todos os animais foram anestesiados pela associação de 70 mg/kg de Cloridrato de cetamina (Sintec do Brasil, Santana de Parnaíba, São Paulo, Brasil) e 5 mg/Kg de cloridrato de xilazina (Sintec do Brasil, Santana de Parnaíba, São Paulo, Brasil). As tíbias foram tricotomizadas e submetidas à antissepsia da área, com Iodopovidona a 10 % (PVPI, Geyer, Poá/RS, Brasil). A seguir os animais foram posicionados em mesa operatória apropriada para acesso ao leito cirúrgico.

Para o acesso ao tecido ósseo foi realizado uma incisão pelo lado medial da tíbia, direita

e esquerda, de aproximadamente 30 mm, com auxílio de uma lâmina de bisturi nº 15C (Swann-Morton, Sheffield, Inglaterra) e após rebatimento dos tecidos realizado com auxílio de um descolador de periósteo (Alpha Inst. Cirúrgicos, Ribeirão Preto/SP, Brasil), o tecido ósseo foi exposto (Figura 1A). Uma cavidade cirúrgica que atingiu as duas corticais foi preparada na metáfise proximal, utilizando inicialmente uma fresa lança para localização e demarcação do exato local da perfuração (Figura 1B). A seguir foi realizado o preparo da cavidade óssea utilizando uma fresa de 2,0 mm de diâmetro (Neodent, Curitiba, PR, Brasil) montada em motor cirúrgico (Dentscler Indústria de Equipamentos Odontológicos Ltda, Ribeirão Preto, Brasil) com velocidade de 1000 rpm sob irrigação constante de solução salina fisiológica (Figura 1C). A cavidade cirúrgica foi concluída, estando apta para receber os tratamentos propostos (Figura 1D). Após os tratamentos, o tecido muscular foi aproximado e suturado com fio de vicryl 4-0 (Johnson & Johnson do Brasil Ind. Com. Prod. Ltda, São Bernardo do Campo, SP, Brasil), e a pele aproximada e suturada com fio de vicryl 4-0 (Johnson & Johnson do Brasil Ind. Com. Prod Ltda, São Bernardo do Campo, Brasil). Imediatamente após a realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais receberam injeção intramuscular de penicilina e estreptomicina (Pentabiótico Pequeno Porte, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, Brasil,) para prevenir infecções, além de dipirona sódica, uso veterinário (Zoetis, São Paulo, Brasil) para redução da dor, em dose única.

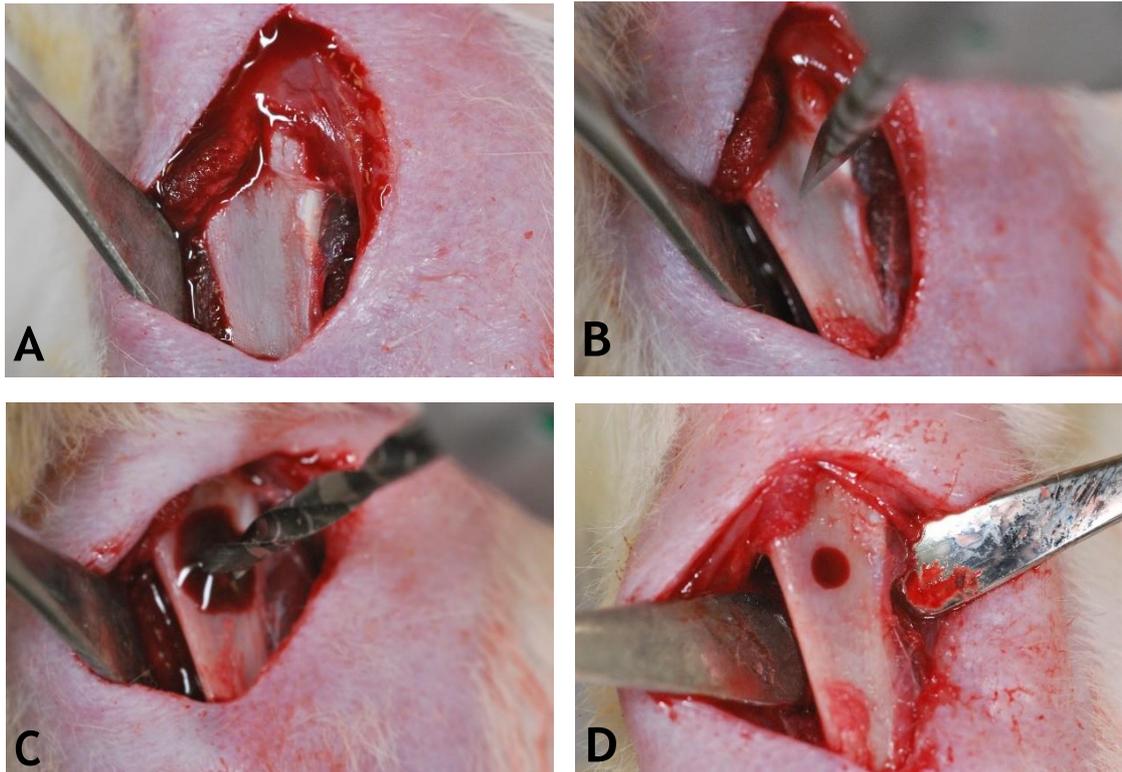


Figura 1 - Procedimento cirúrgico para realização da cavidade óssea. A) Tecido ósseo exposto, B) Broca lança em posição para perfurar cortical, C) Fresa de 2.0 mm de diâmetro realizando a cavidade cirúrgica, D) Cavidade cirúrgica concluída, sem tratamento.

Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos com 18 animais cada um, Os animais sofreram o tratamento de acordo com o grupo: **CS** (n=18) também denominado de grupo Controle, onde as cavidades ósseas e os animais não receberam nenhum tratamento local ou sistêmico (Figura 2A); **Amelogenina+LBP** (n=18) onde as cavidades sofreram tratamento local com proteína derivada do esmalte e a seguir submetidas ao tratamento com laser de baixa potência e os animais não sofreram nenhum tratamento sistêmico (Figuras 2 B e 2 C).

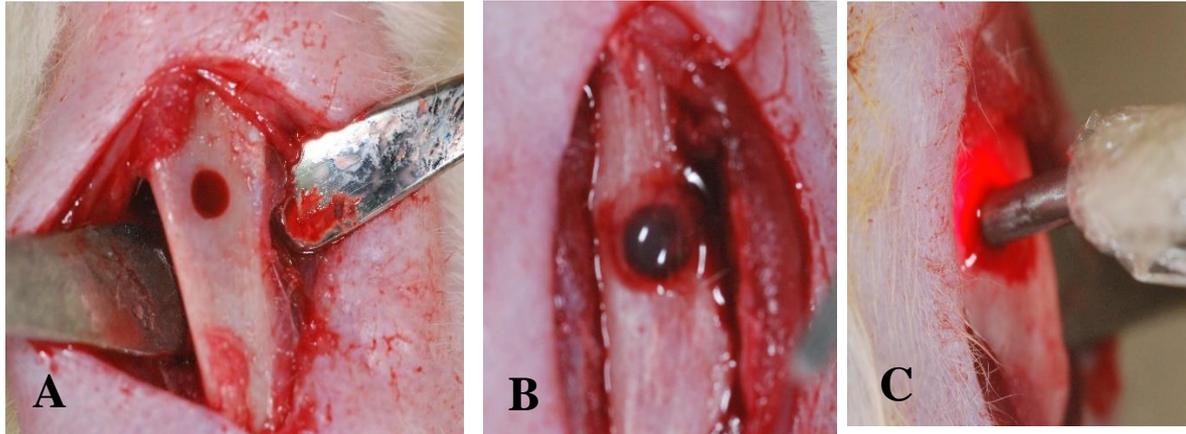


Figura 2. Tratamentos das cavidades ósseas. A) Cavidade óssea concluída, sem nenhum tratamento local (Grupo Controle), B-C) Preenchimento da cavidade óssea com proteína derivada do esmalte (Amelogenina) seguido do tratamento com laser de baixa potência.

Protocolo para aplicação da proteína Amelogenina e tratamento com LBP

Os animais do grupo **Amelogenina+LBP** receberam imediatamente após a realização da cavidade óssea o preenchimento desta com a proteína derivada do esmalte que foi depositada com o auxílio da agulha e seringa que acompanha o material (Figura 2B) de tal modo que o biomaterial preencheu completamente a cavidade cirúrgica.

Imediatamente após a deposição da proteína (Amelogenina) as tíbias receberam o tratamento com laser de baixa potência (Thera Lase®, DMC Equipamentos Ltda, São Carlos, SP, Brasil) que possui as seguintes características: Emissores InGaAlP (660 nm, laser visível) e GaAlAs (808 nm, laser infravermelho), emissão contínua e pulsada, sistema de entrega com fibra ótica com diâmetro do spot de 0,0283 cm². O Laser foi aplicado com o seguinte protocolo: 660 nm, visível, emissão contínua, aplicação única, transcirúrgica, modo contato, 0,035W, 60 s, 2.1 J, 74.2 J/cm², 1.23 W/cm² (Figura 2C)

Períodos experimentais

Seis animais de cada grupo foram eutanasiados por meio de superdosagem anestésica (150mg/kg de Thiopental - Cristália, Itapira, São Paulo, Brazil) aos 10, 30 e 60 dias após realização do procedimento cirúrgico e tratamento, as tíbias foram removidas; sendo que

após a coleta foram fixadas em formol tamponado a 4%, por um período mínimo de 48 horas. A seguir lavadas por 24 horas e seguiram o processamento laboratorial de rotina.

Fluxograma da Pesquisa

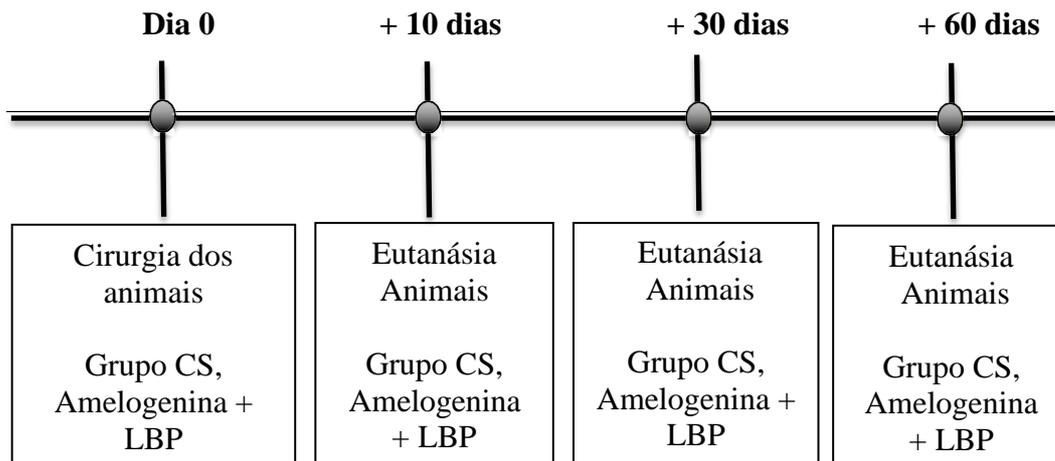


Figura 3. Fluxograma da pesquisa. Distribuição dos períodos, grupos e procedimento realizados.

Processamento laboratorial das amostras

Processamento histológico

Posteriormente à fixação, tais amostras foram submetidas à lavagem em água, por 12 horas, e à desmineralização em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 10% (Sigma-Aldrich), por 30 dias. Ao final do processo de desmineralização estas amostras foram submetidas à lavagem em água, por 24 horas, e procedeu-se o seu processamento histológico convencional. Foram realizadas: desidratação em série crescente de etanol (70°, 80°, 90°, 95°, 100°, 100°; 100° GL - 60 minutos em cada solução); diafanização em xilol (etanol – xilol, 1° xilol, 2° xilol e 3° xilol - 40 minutos em cada solução); impregnação pela parafina histológica (1ª parafina, 2ª parafina, 3ª parafina - 60 minutos em cada solução); inclusão em parafina histológica, de modo que, o longo eixo da tibia ficasse paralelo à superfície do bloco de parafina. As amostras foram então seccionadas em micrótomo com 5µm de espessura. Os

cortes histológicos da porção cental dos defeitos ósseos tibiais foram coletados em lâminas de vidro silanizadas para: coloração com hematoxilina e eosina (HE) ou técnica imunohistoquímica para detecção de OCN e TRAP.

Coloração com hematoxilina-eosina

Para a análise histológica do processo de reparação tecidual pós tratamentos locais as secções histológicas foram submetidas à coloração por HE. Procedeu-se da seguinte maneira: primeira etapa da desparafinização, a qual foi efetuada em estufa de parafina com temperatura entre 56°C a 58°C, por 30 minutos; segunda etapa da desparafinização em xilol (1º xilol, 2º xilol e 3º xilol - 10 minutos em cada solução); reidratação em série decrescente de etanol (100°, 100°; 100°, 95°, 90°, 70° GL - 2 minutos em cada solução); hidratação em água, por 5 minutos; imersão em hematoxilina, por 1 minuto; lavagens em água para retirada do excesso de corante; imersão em eosina, por 3 minutos; lavagens em água para retirada do excesso de corante; desidratação em etanol (70°, 90°, 95°, 100°, 100°; 100° GL - 2 minutos em cada solução), diafanização em xilol (etanol – xilol, 1º xilol, 2º xilol e 3º xilol - 5 minutos em cada solução) e; recobrimento com meio de montagem e lamínulas de vidro.

Análise Histológica do processo de reparação tecidual nos defeitos ósseo

A análise histológica do processo de reparo ósseo nos defeitos tibiais foi realizada por um histologista certificado (Prof. Dr. Edilson Ervolino) e cego aos tratamentos realizados. Foi efetuada uma análise semi-quantitativa utilizando-se de uma secção histológica do centro dos defeitos ósseos tibiais de cada animal nos aumentos de 50x e 400x. Ao padrão de reparação tecidual foi atribuído um escore. A definição dos escores foi: ESCORE 0 = ausência completa de reparação tecidual; ESCORE 1 = defeito ósseo parcialmente preenchido por trabéculas ósseas compostas por tecido ósseo imaturo; ESCORE 2 = defeito ósseo totalmente preenchido por delgadas trabéculas compostas por tecido ósseo imaturo; ESCORE 3 = defeito ósseo

totalmente preenchido por espessas trabéculas compostas por tecido ósseo imaturo; ESCORE 4 = defeito ósseo totalmente preenchido por espessas trabéculas compostas por tecido ósseo maduro; ESCORE 5 = defeito ósseo totalmente preenchido por tecido ósseo compacto maduro.

Processamento Imunoistoquímico

Diferentes imunomarcadores tem sido utilizados para avaliar a osteobiologia óssea. No presente estudo foi empregado o imunomarcador Osteocalcina (OCN) e a Fosfatase ácida tartarato-resistente (TRAP). Enquanto a OCN é expressa em osteoblastos a fosfatase ácida resistente a tartarato (TRAP) é expresso principalmente por osteoclastos, macrófagos, células dendríticas e vários outros tipos de células (HAYMAN 2008)

Técnica imunoistoquímica para detecção de OCN e TRAP

Para a análise imunoistoquímica os cortes histológicos foram desparafinizados em xilol e hidratados em série decrescente de etanol (100° - 100° - 100° - 90° - 70° GL). A recuperação antigênica foi realizada através da imersão das lâminas histológicas em tampão citrato (Spring Bioscience, Pleasanton, CA, EUA), em câmara pressurizada (Decloaking chamber®, Biocare Medical, Concord, CA, EUA) a 95°C, por 20 minutos. No final de cada etapa da reação imunoistoquímica, as lâminas histológicas foram lavadas em PBS 0,1 M, pH 7,4. Posteriormente, as lâminas foram imersas em 3% de peróxido de hidrogênio por 1 hora e 1% de soro albumina bovino por 12 horas para bloqueio da peroxidase endógena e bloqueio dos sítios inespecíficos, respectivamente. As lâminas contendo amostras de cada grupo experimental foram divididas em dois lotes, e cada lote foi incubado com um dos seguintes anticorpos primários: anti-OCN do rato gerado em cabra (SC-18319, Santa Cruz Biotechnology®) ou anti-TRAP do rato gerado em cabra (SC-30833, Santa Cruz Biotechnology®). Os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotilado por 2 horas e subsequentemente tratados com estreptavidina conjugada com a peroxidase - HRP por

1 hora (Universal Dako Labeled HRP Streptavidin-Biotin Kit[®], Dako Laboratories, CA, EUA). A revelação foi realizada utilizando como cromógeno o 3,3'- tetracloridrato de diaminobenzidina (DAB chromogen Kit[®], Dako Laboratories, CA, EUA). Foi realizada a contracoloração com Hematoxilina de Harris, seguida de desidratação em etanol, diafanização em xilol e, recobrimento com meio de montagem e lamínulas de vidro. Como controle negativo, os espécimes foram submetidos aos procedimentos descritos anteriormente suprimindo-se a utilização do anticorpo primário.

Análise Imunoistoquímica

A análise imunoistoquímica foi realizada por um histologista certificado (Prof. Dr. Edilson Ervolino) e cego aos tratamentos realizados. Foi efetuada uma análise semi-quantitativa utilizando-se de uma secção histológica do centro dos defeitos ósseos tibiais de cada animal no aumento de 400x. Ao padrão de imunomarcção foi atribuído um escore. A definição dos escores foi: ESCORE 0 = ausência total de imunomarcção; ESCORE 1 = padrão extremamente baixo de imunomarcção; ESCORE 2 = baixo padrão de imunomarcção; ESCORE 3 = moderado padrão de imunomarcção; ESCORE 4 = alto padrão de imunomarcção; ESCORE 5 = padrão extremamente alto de imunomarcção. Os critérios adotado para o estabelecimento de cada escore para OCN foram: ESCORE 0 = ausência total de imunomarcção; ESCORE 1: menos de 10% das células imunorreativas e fraca marcação na matriz extracelular; ESCORE 2: de 10% - 35% das células imunorreativas e fraca marcação na matriz extracelular; ESCORE 3: de 35% - 65% das células imunorreativas e moderada marcação na matriz extracelular; ESCORE 4: de 65% - 90% das células imunorreativas e forte marcação na matriz extracelular; ESCORE 5: menos de 90% das células imunorreativas e forte marcação na matriz extracelular. Os critérios adotado para o estabelecimento de cada escore para TRAP foram: ESCORE 0 = ausência total de imunomarcção; ESCORE 1: menos de 2 células imunomarcadas; ESCORE 2: de 2 – 5

células imunomarcadas; ESCORE 3: de 5 – 9 células imunomarcadas; ESCORE 4: de 9 – 12 células imunomarcadas; ESCORE 5: mais de 12 células imunomarcadas.

Análise estatística dos dados

Empregou-se o programa Bioestat 5.3 (Instituto Mamiruaá, Manaus, AM, Brasil). O tamanho da amostra foi calculado para assegurar um poder do teste estatístico de 95% ($p < 0.05$). Para a análise histológica e imunoistoquímica (ONM e TRAP) foram empregados os testes de Análise de Variância de Kruskal-Wallis e pós teste de Student-Newman-Keuls. Os dados estão apresentados sob a forma de mediana e desvio interquartil. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Padrão de reparação tecidual nos defeitos ósseos tibiais

No GRUPO CONTROLE a mediana e o desvio interquartil aos 10, 30 e 60 dias foi de 1 (1-2), 2 (2-3) e 4 (4-5), respectivamente. No GRUPO AMELOGENINA E FBM a mediana e o desvio interquartil aos 10, 30 e 60 dias foi de 3 (3-3), 4 (4-4) e 5 (5-5), respectivamente. No GRUPO AMELOGENINA E FBM aos 30 dias o padrão de reparação tecidual nos defeitos ósseos tibiais foi estatisticamente superior ao mesmo período no GRUPO CONTROLE. Nos demais períodos experimentais os escores que prevaleceram no GRUPO AMELOGENINA E FBM embora denotem uma aceleração no processo de reparação tecidual nos defeitos ósseos tibiais esta diferença não foi estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE. Os dados histológicos referentes ao padrão de reparação tecidual estão sendo apresentados nas Figuras 4, 5, 6 e 7.

CONTROLE (10 dias)	CONTROLE (30 dias)	CONTROLE (60 dias)	AMELOGENINA E FBM (10 dias)	AMELOGENINA E FBM (30 dias)	AMELOGENINA E FBM (60 dias)
1	2	4	3	4	5
1	3	4	3	4	5
1	2	4	3	4	5
1	2	5	3	4	5
2	3	4	3	4	5
1	2	5	3	4	5
1 (1-2)	2 (2-3)	4 (4-5)	3 (3-3)	4 (4-4)	5 (5-5)

Figura 4. Dados semi-quantitativos da análise histológica.

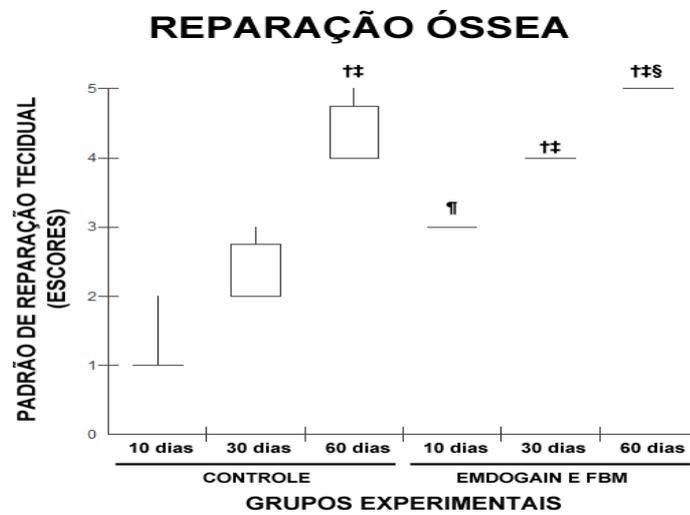


Figura 5. Gráfico apresentando o padrão de reparação tecidual nos defeitos ósseos tibiais nos diferentes grupos experimentais e períodos. Teste estatístico: Análise de Variância de Kruskal-Wallis e pós teste de Student- Newman-Keuls. Símbolo: †, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 10 dias; ‡, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 30 dias; §, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO AMELOGENINA E FBM aos 10 dias.

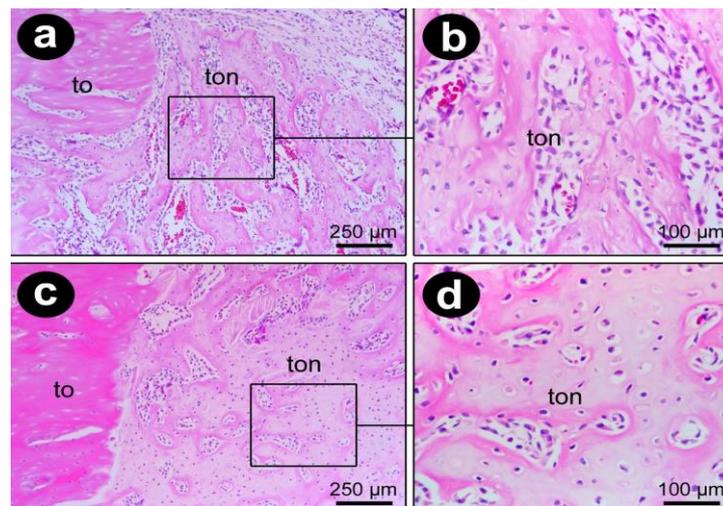


Figura 6. Fotomicrografias evidenciando o tecido ósseo neoformado no interior dos defeitos ósseos tibiais aos 10 dias de pós-operatório no Grupo Controle (a - b) e no Grupo Amelogenina (c - d). Abreviaturas: to, tecido ósseo original; ton, tecido ósseo neoformado. Aumento original: a e c, 100x; b e d, 400x. Barras de escala: a e c, 250 µm; b e d, 100 µm. Coloração: Hematoxilina e Eosina (H.E.).

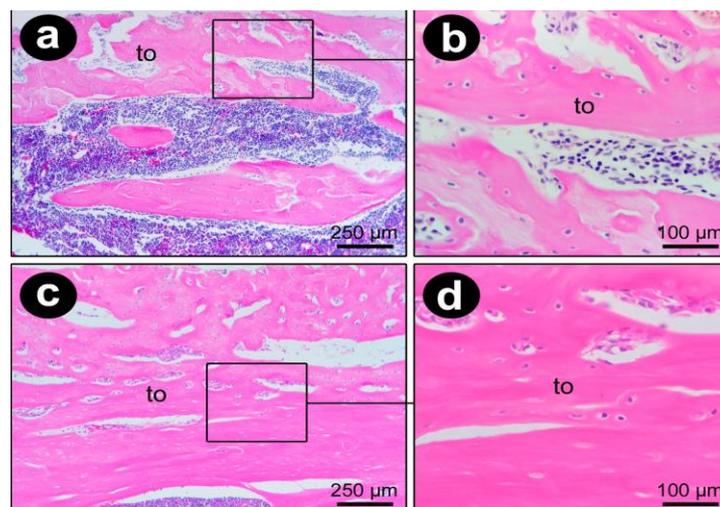


Figura 7. Fotomicrografias evidenciando o tecido ósseo neoformado no interior dos defeitos ósseos tibiais aos 60 dias de pós-operatório no Grupo Controle (a - b) e no Grupo Amelogenina (c - d). Abreviaturas: to, tecido ósseo original; ton, tecido ósseo neoformado. Aumento original: a e c, 100x; b e d, 400x. Barras de escala: a e c, 250 µm; b e d, 100 µm. Coloração: Hematoxilina e Eosina (H.E.).

Análise imunoistoquímica

Diferentes imunomarcadores tem sido utilizados para avaliar a osteobiologia óssea. No presente estudo foi empregado o imunomarcador Osteocalcina (OCN) e a Fosfatase ácida tartarato-resistente (TRAP). Enquanto a OCN é expressa em osteoblastos a fosfatase ácida resistente a tartarato (TRAP) é expresso principalmente por osteoclastos, macrófagos, células

dendríticas e vários outros tipos de células (HAYMAN 2008)

Padrão de imunomarcção para OCN e TRAP nos defeitos ósseos tibiais

A técnica imunoistoquímica empregada para a detecção de OCN e TRAP mostrou alta especificidade na detecção de tais proteínas, a qual foi comprovada pela ausência total de marcação no controle negativo da reação. As células imunorreativas apresentaram uma coloração marrom escura confinada ao citoplasma e à matriz extracelular, no caso de OCN, e confinada exclusivamente ao citoplasma, no caso de TRAP. A imunomarcção para OCN estava presente predominantemente em osteoblastos, ou seja, nas células OCN-positivas situadas na superfície da matriz óssea neoformada, no entanto, também estava presente em algumas células próximas aos osteoblastos, na matriz óssea e na matriz extracelular do tecido conjuntivo nas proximidades da matriz óssea.

Com relação ao padrão de imunomarcção para OCN, no GRUPO CONTROLE a mediana e o desvio interquartil aos 10, 30 e 60 dias foi de 1 (1-1), 2 (2-3) e 3 (3-3), respectivamente. No GRUPO AMELOGENINA E FBM a mediana e o desvio interquartil aos 10, 30 e 60 dias foi de 3 (3-4), 4 (4-4) e 5 (5-5), respectivamente. O padrão de imunomarcção para OCN foi maior no GRUPO AMELOGENINA E FBM aos 10, 30 e 60 dias quando comparado com o GRUPO CONTROLE. Os dados imunoistoquímicos referentes à imunomarcção para OCN estão sendo apresentados nas Figura 8, 9 e 10.

CONTROLE (10 dias)	CONTROLE (30 dias)	CONTROLE (60 dias)	AMELOGENINA E FBM (10 dias)	AMELOGENINA E FBM (30 dias)	AMELOGENINA E FBM (60 dias)
1	2	3	3	4	5
1	2	3	3	4	5
1	2	3	4	4	5
1	2	3	4	4	5
1	3	3	3	4	5
1	3	3	3	4	5
1 (1-1)	2 (2-3)	3 (3-3)	3 (3-4)	4 (4-4)	5 (5-5)

Figura 8. Dados semi-quantitativos da OCN (Escore)

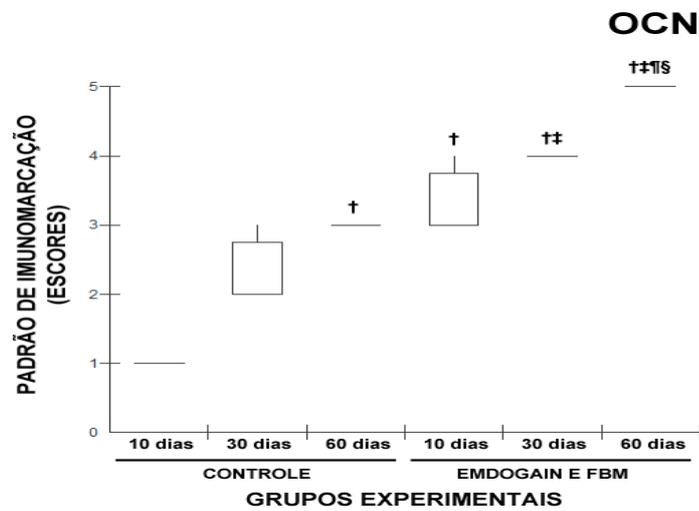


Figura 9. Gráfico apresentando o padrão de imunomarcção para OCN nos defeitos ósseos tibiais nos diferentes grupos experimentais e períodos. Teste estatístico: Análise de Variância de Kruskal-Wallis e pós teste de Student-Newman-Keuls. Símbolo: †, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 10 dias; ‡, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 30 dias; §, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 60 dias; §, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO AMELOGENINA E FBM aos 10 dias.

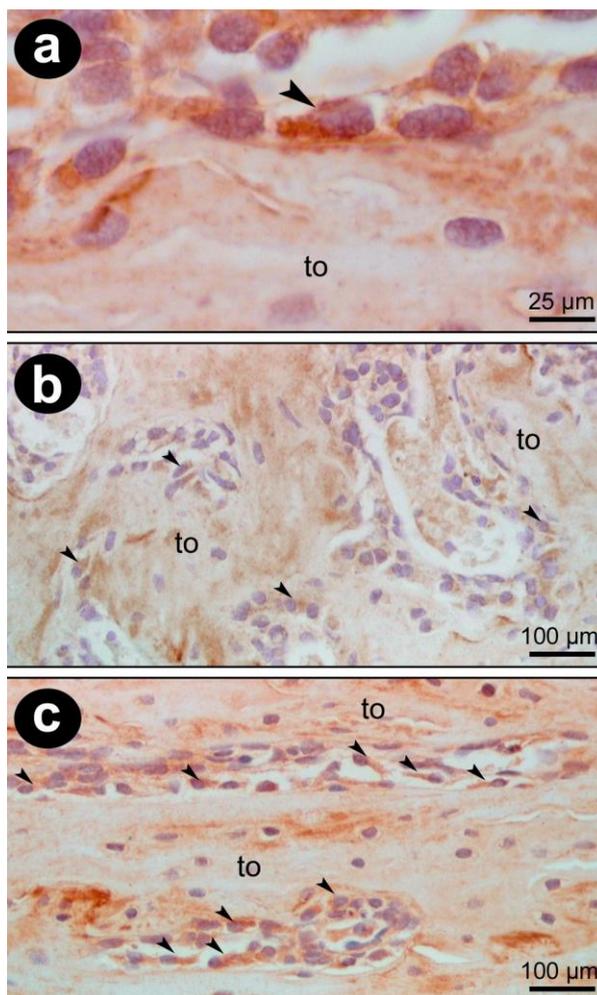


Figura 10. Fotomicrografia evidenciando o padrão de imunomarcção para OCN (a) nos defeitos ósseos tibiais aos 30 dias pós-operatórios no Grupo Controle (b) e Grupo Amelogenina (c). Abreviações e símbolos: to, tecido ósseo neoformado; setas: células OCN-positivas. Aumento original: b e c, 400x; a 1000x. Barras de escala: b e c 100μm, a 25μm. Contra-coloração: Hematoxilina de Harris.

A imunomarcção para TRAP estava presente predominantemente em células multinucleadas nas adjacências da matriz óssea, ou seja, em osteoclastos ativos.

Com relação ao padrão de imunomarcção para TRAP, no GRUPO CONTROLE a mediana e o desvio interquartil aos 10, 30 e 60 dias foi de 1 (1-1), 2 (2-3) e 3 (2-4), respectivamente. No GRUPO AMELOGENINA E FBM a mediana e o desvio interquartil aos 10, 30 e 60 dias foi de 3 (3-3), 3 (4-4) e 2 (2-2), respectivamente.

O padrão de imunomarcção para TRAP foi maior no GRUPO AMELOGENINA E FBM aos 10 e 30 dias quando comparado com os respectivos períodos experimentais no

GRUPO CONTROLE. Aos 30 dias o padrão de imunomarcção para TRAP foi menor no GRUPO AMELOGENINA E FBM quando comparado com o GRUPO CONTROLE. Os dados imunoistoquímicos referentes à imunomarcção para TRAP estão sendo apresentados nas Figuras 11, 12 e 13.

CONTROLE (10 dias)	CONTROLE (30 dias)	CONTROLE (60 dias)	AMELOGENINA E FBM (10 dias)	AMELOGENINA E FBM (30 dias)	AMELOGENINA E FBM (60 dias)
1	2	3	3	4	2
1	2	2	3	4	2
1	2	4	3	4	2
1	2	3	3	4	2
1	2	3	3	4	2
1	3	4	3	4	2
1 (1-1)	2 (2-3)	3 (2-4)	3 (3-3)	4 (4-4)	2 (2-2)

Figura 11. Dados semi quantitativos de TRAP (Eacores).

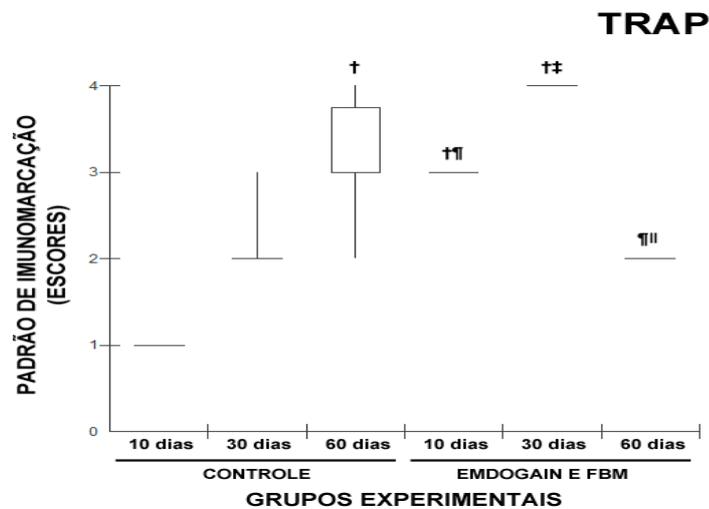


Figura 12. Gráfico apresentando o padrão de imunomarcção para TRAP nos defeitos ósseos tibiais nos diferentes grupos experimentais e períodos. Teste estatístico: Análise de Variância de Kruskal-Wallis e pós teste de Student-Newman-Keuls. Símbolo: †, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 10 dias; ‡, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 30 dias; ¶, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO CONTROLE aos 60 dias; |, diferença estatisticamente significativa em relação ao GRUPO AMELOGENINA E FBM aos 30 dias.

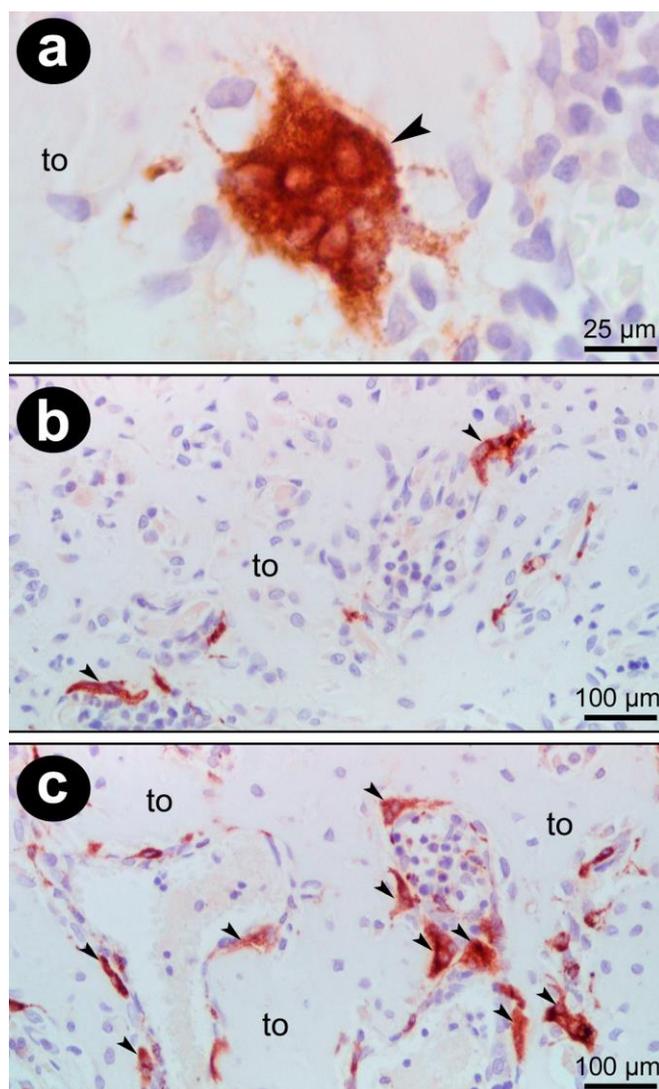


Figura 13. Fotomicrografia evidenciando o padrão de imunomarcção para TRAP (a) nos defeitos ósseos tibiais aos 10 dias pós-operatórios no Grupo Controle (b) e Grupo Amelogenina: (c). Abreviações e símbolos: to, tecido ósseo neoformado; setas: células TRAP-positivas. Aumento original: a. 1000x, b e c, 400x.

Barra de escala: a, 25µm, b e c, 100µm. Contra-coloração: Hematoxilina de Harris.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o processo de reparo de defeitos ósseos provocados em tíbias de ratos tratados com a proteína derivada do órgão de esmalte de suínos, comercialmente denominada de Emdogain associada ao uso do laser em baixa potência (LBP).

O produto Emdogain contém em sua composição aproximadamente 95% de proteína derivada da matriz do esmalte (amelogenina), além de água e um veículo, o propileno glicol

e com o LBP que já possuem resultados consagrados na literatura. O Emdogain, tem seu uso reconhecido há pouco mais de duas décadas na Periodontia e indicado para o tratamento adjunto ou alternativo para estimulação da regeneração dos tecidos periodontais perdidos em decorrência das doenças periodontais, enquanto que o LBP também possui resultados consolidados na literatura principalmente fotobiomodulação óssea, pela sua capacidade de promover diferentes efeitos biológicos favoráveis ao processo de reparo de feridas, tanto de tecido mole ou ósseo.

O animal selecionado para esta pesquisa foi o rato como modelo experimental. Tem crescido a cada ano o número de pesquisas envolvendo o uso de animais em experimentações. Isto se deve à facilidade em estudar a relação de causa, efeitos e variedades terapêuticas, porém estes possuem limitações, não tão severas como as encontradas nos estudos clínicos, principalmente quando se deseja de estudar as respostas do hospedeiro às condições terapêuticas, a patogênese de doenças e testes biológicos.

Animais roedores tem sido preferidos como modelo animal para investigar diferentes mecanismos envolvidos na patogênese e no curso das doenças infecto-inflamatórias e o reparo tecidual (GRAVES et al. 2008). Isto se deve à similaridade da sua anatomia e sistemas, com a dos humanos (OZ & PULEO, 2011). Além disso o rato (*Rattus norvegicus*) é o mais utilizado em estudos experimentais pois são de fácil manipulação, de custo reduzido e apresentam resposta biológica com grande semelhança à do homem (KLAUSEN, 1991; GRAVES et al. 2008).

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a associação da Amelogenina com o LBP promoveu a aceleração da neoformação do tecido ósseo (Figuras 4 e 5). Isto poderá ser comprovado também na avaliação dos escores onde observa-se que as medianas do grupo controle foram 1, 2 e 4, contra 3, 4 e 5 do grupo AMELOGENINA+FBM nos períodos de 10, 30 e 60 dias, respectivamente. Ainda, na análise imunoistoquímica da

OCN pode ser observado que a imunomarcção da osteocalcina (OCN) evidenciou maior neoformação e maturação do tecido ósseo neoformado caracterizado pelas medianas dos grupos AMELOGENINA +FBM de 3, 4, 5 comparando-as com as do grupo controle que foram de 1, 2 e 3, nos períodos de 10, 30 e 60 dias, respectivamente. Estes fatos ficam mais evidentes nas microfotografias histológicas da figura 6 (c e d), que também mostram maior formação óssea e osso mais maduro no período de 60 dias (Figura 7, c e d)

O uso do EMD revelaram táticos resultados na regeneração de defeitos ósseos periodontais como também na reparação de feridas e na vascularização da área (RICON; HAASE; BARTOLD et al. 2003; YUAN, CHEN, LIN et al. 2003; TONETTI et al. 2004, Sculean et al. 2004). A maioria dos estudos relatados na literatura demonstraram benefícios do uso do EMD para o tratamento periodontal regenerativo, ou em estudos *in vitro* concentrados na avaliação desta sobre células do ligamento periodontal ou tipos diversos de células, incluindo as ósseas. Testes clínicos que avaliem o seu potencial no reparo ósseo em outros modelos de defeitos ósseos (não periodontais) ainda são escassos, carente de estudos.

Com a metodologia empregada no presente estudo não será possível esclarecer os mecanismos envolvidos nos benefícios promovidos pela associação AMELOGENINA +FBM porém estudos *in vitro* demonstraram que esta proteína é capaz de promover diferentes efeitos biológicos como: proliferação de fibroblastos e inibição de crescimento epitelial, aumento da síntese de proteínas, formação de nódulos de mineralização, crescimento de células mesenquimais e crescimento autócrino de fatores de crescimento (RICON; HAASE; BARTOLD et al. 2003). Além disso poderá promover a diferenciação osteogênica de células mesenquimais pluripotentes (CHEN et al. 2010) podendo atuar em pelo menos dois níveis: com seu mecanismo natural de liberação lenta que garante a liberação estável dos peptídios da amelogenina após sua aplicação; ou pela liberação de produtos advindos de sua degradação ativa que interagem diretamente com células, induzindo uma

cascata de liberação de fatores de crescimento que secundariamente, inicia e mantém os processos anabólicos (LYNGSYADAAS et al. 2009). Alia-se a estas considerações a de que esta proteína é capaz de induzir a produção de MMP-2 (metaloproteinase-2) estimulando a degradação do colágeno no ambiente da injúria, resultando em mudanças na estrutura da matriz extracelular capaz de promover em consequência, a regeneração (GODA et al. 2014).

Acreditamos que os resultados obtidos no presente estudo, realizado em defeitos ósseos não periodontais, contribuem significativamente para o seu uso na prática clínica, pois esta proposta terapêutica poderá contar com diferentes meios de ação: os promovidos pela ação da proteína AMELOGENINA nas células ósseas, nas células mesenquimais indiferenciadas presentes na área e liberação de fatores de crescimento; os promovidos pela ação do LBP na proliferação celular, angiogênese da área e liberação de fatores de crescimento; como também pela ação fotobiomoduladora do LBP sobre os produtos oriundos da degradação da proteína no leito cirúrgico. Esta hipótese é corroborada por pesquisas que avaliaram o uso do EMD em fêmur (KAWANA et al. 2001) e osso parietal de ratos (SAWAE et al. 2002) como também as que avaliaram a ação do LBP (GARAVELLO-FREITAS et al. 2003, PINHEIRO et al. 2003, ROCKLIND et al., 2004, NISSAN et al. 2006, PRETEL; LIZARELLI; RAMALHO. 2007, EBRAHIMI et al. 2012, OLIVEIRA et al. 2018) os quais comprovaram o efeito fotobiomodulador do laser na formação óssea, isoladamente ou associado a biomateriais.

Ressalta-se ainda que o restabelecimento do tecido ósseo depende de vários fatores, destacando-se entre eles as células inflamatórias, osteoclastos, células precursoras da matriz óssea e da formação de um novo tecido ósseo (pré-osteoblastos e osteoblastos), além das células mesenquimais do estroma, que frente a um estímulo podem se diferenciar em células formadoras de um novo osso (osteoblasto) ou modular a resposta inflamatória com liberação de citocinas e fatores de crescimento (KNIGHT & HANKENSON, 2013). Estudos tem

demonstrado a efetividade dos LBP na resposta óssea em diferentes condições experimentais, tanto em estudos *in vitro*, em animais e em humanos (GIANNELLI et al. 2013, AMID et al. 2014, TIM et al. 2014, OLIVEIRA et al. 2016, SANTIONI et al. 2017), destacando-se a sua capacidade de acelerar a fase proliferativa do processo de reparo promovendo neovascularização da área, vasodilatação e formação mais precoce de tecido ósseo (GARCIA et al. 2010). Estudos também tem demonstrado que no ambiente de reparação do osso medular, o processo é regulado por fatores estimuladores que são liberados no microambiente medular como o TGT- β 1 capaz de promover precursores osteoblásticos ou produtores de matriz (PARK et al. 2014), bloqueador de apoptose de osteoblastos (HUANG et al. 2009) e de estímulo para a proliferação de osteoblastos (HORWITZ et al. 2002), que podem sofrer o estímulo pra sua liberação frente a ação da irradiação com LBP (AMAROLI et al. 2018).

Um dos poucos estudos clínicos encontrados na literatura que avaliou o uso do Emdogain associado ao LBP foi realizado para o tratamento de defeitos infra-ósseos profundos (6 mm). Nestes estudos os autores avaliaram também a sintomatologia dolorosa, a regeneração periodontal e a reparação clínica da ferida através da análise de parâmetros clínicos. Os resultados demonstraram que a associação promoveu redução estatisticamente significativa na profundidade de sondagem, ganho de inserção clínica, como também menor grau de recessão gengival e edema quando comparado com o uso isolado do Emdogain® (OZCELIK et al. 2008). Estes achados reforçam a capacidade de ambos promoverem a estimulação da proliferação de células mesenquimais em células progenitoras do ligamento periodontal e sua ação na regeneração periodontal.

Com base nos resultados obtidos com a metodologia utilizada ficou evidenciado que a associação AMELOGENINA+FBM foi capaz de estimular o processo de neoformação óssea em defeitos ósseos tibiais, não havendo diferenças significantes entre ambos.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos com a metodologia utilizada pode-se concluir que o uso da proteína derivada do esmalte suíno AMELOGENINA associada ao laser de baixa potência acelerou a neoformação de tecido ósseo e estimulou o processo de remodelação óssea, resultando em melhora na reparação tecidual de defeitos ósseos tibiais.

REFERÊNCIAS

1. Pinheiro AL, Gerbi MEMM. A Fotobiomodulação Laser aplicada a cirurgias ósseas e à implantodontia. In: Pinheiro AL, Brugnera Jr A, Zanin FAA. Aplicação do laser na odontologia. São Paulo:Santos, 2010. p. 351-380.
2. Knight MN, Hankenson KD. Mesenchymal stem cells in bone regeneration. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2013;2(6):306–16.
3. Gjelsvik A. Bone remodeling and piezoelectricity. II. *J Biochech* 1973;6(1):69-77.
4. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histologic study in rats. *Lasers Surg Med* 2007;39(10):788-96.
5. Ebrahimi T, Moslemi N, Rokn, AR, Heidari M, Nokhbatolfoghahaie H, Fekrazad R. The influence of low-level laser therapy on bone healing. *J Dent (Tehran)* 2012;9(4):238-48.
6. Garcia – Garetta E, Coathup MJ, Blunn GW. Osteoinduction of boné grafting materials for boné repair and regeneration. *Bone* 2015;81:112-21.
7. Thuaksuban N, Nuntanaranout T, Pripatnamont P. A comparison of autogenous bone graft combined with deproteinized bovine boné and autogenous boné graft alone for treatment of alveolar cleft. *Int J Maxillofac Surg* 2010;39(12):1175-80.
8. Kim HJ, Chung JH, Shin SY, Shin SI, Kye SB, Kim NK, et al. Efficacy of rhBMP-2/hydroxyapatite on sinus floor augmentation: a multicenter, randomized controlled clinical trial. *J Dent Res* 2015 Sep;94(9 Suppl):158S-65S.
9. Lyngstadaas SP, Wohlfahrt JC, Brookes SJ, Paine ML, Snead ML, Reseland JE. Enamel matrix proteins; old molecules for new applications. *Orthod Craniofac Res* 2009;12(3):243-53.
10. Heijl L. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in one human experimental defect. A case report. *J Clin Periodontol* 1997;24(9 Pt 2):693-6.
11. Heijl L, Heden G, Svardstrom G, Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of infrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997;24(9 Pt 2):705-14.

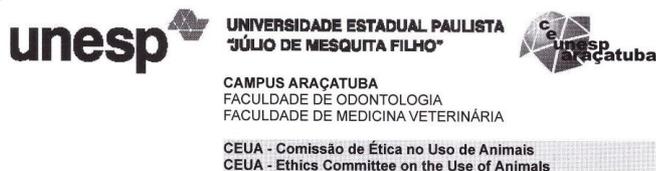
12. Jiang J, Safavi KE, Spangberg LS, Zhu Q. Enamel matrix derivative prolongs primary osteoblast growth. *J Endod* 2001;27(2):110-2.
13. Schwartz Z, Carnes DL Jr, Pulliam R, Lohmann CH, Sylvia VL, Liu Y, et al. Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells. *J Periodontol* 2000;71(8):1287-96.
14. Garcia VG, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Almeida JM. Laser em Periodontia: Estado atual. In: Sallum AW, Cicareli AJ, Querido MRM, Bastos Neto FVR. *Periodontia em Implantodontia*. Nova Odessa: Napoleão; 2010. p.539-53.
15. Hamblin MR. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Physics* 2017;4(3):337-61.
16. Tsai SR, Hamblin MR. Biological effects and medical applications of infrared radiation. *J Photochem Photobiol B* 2017;170:197-07.
17. Hayman AR. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cells dichotomy. *Autoimmunity* 2008;41(3):218-23.
18. Giannelli M, Chellini F, Sassoli C, Feancini F, Pini A, Squecco R, et al. Photoactivation of bone marrow mesenchymal stromal cells with diode laser: effects and mechanisms of action. *J Cell Physiol* 2013;228(1):172–81.
19. Amid R, Kadkhodazadeh M, Ahsaie MG, Hakakzadeh A. Effect of low level laser therapy on proliferation and differentiation of the cells contributing in bone regeneration. *J Lasers Med Sci* 2014;5(4):163–70.
20. Tim CR, Pinto KN, Rossi BR, Fernandes K, Matsumoto MA, Parizotto NA, et al. Low-level laser therapy enhances the expression of osteogenic factors during bone repair in rats. *Lasers Med Sci* 2014;29(1):147–56.
21. Oliveira FA, Matos AA, Santesso MR, Tokuhara CK, Leite AL, Bagnato VS, et al. Low intensity lasers differently induce primary human osteoblast proliferation and differentiation. *J Photochem Photobiol B* 2016;163:14–21.
22. Santinoni CD, Oliveira HF, Batista VE, Lemos CA, Verri FR. Influence of low-level laser therapy on the healing of human bone maxillofacial defects: A systematic review. *J Photochem Photobiol B* 2017;169:83–9.
23. Tani A, Chellini F, Giannelli M, Nosi D, Zecchi-Orlandini S, Sassoli C. Red (635 nm), near-infrared (808 nm) and violet-blue (405 nm) photobiomodulation potentiality on human osteoblasts and mesenchymal stromal cells: a morphological and molecular in vitro study. *Int J Mol Sci* 2018;19(7): pii: E1946.
24. Graves DT, Fine D, Teng Y-TA, van Dyke TE, Hajishengallis G. The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 2008;35(2):89-105.

25. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011; 2011:754857. doi:10.1155/2011/754857.
26. Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol* 1991;62(1):59-73.
27. Ozcelik O, Haytac MC, Seydaoglu G. Enamel matrix derivative and low-level laser therapy in the treatment of infra-bony defects: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2008;35(2):147-56.
28. Ricon JC, Haase HR, Bartold PM. Effect of emdogain on human periodontal fibroblasts in vivo wound healing model. *J Periodontal Res* 2003;38(3):290-5.
29. Yuan K, Chen CL, Lin MT. Enamel matrix derivative exhibits angiogenic effect in vitro and in a murine model. *J Clin Periodontol* 2003;30(8):732-8.
30. Tonetti MS, Fourmoussis I, Suvan J, Cortellini P, Brägger U, Lang NP. Healing, postoperative morbidity and patient perception of outcomes following regenerative therapy of deep intrabony defects. *J Clin Periodontol* 2004;31(12):1092-8.
31. Sculean A, Donos N, Schwarz F, Becker J, Brex M, Arweiler NB. Five-year results following treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 2004;31(7):545-9.
32. Chen FM, Zhang J, Zhang M, An Y, Chen F, Wu ZF. A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials* 2010;31(31):7892-927.
33. Goda S, Inoue H, Takeuchi O, Ujii Y, Domae E, Ikee T. Enamel matrix derivative protein enhances production of matrix metalloproteinase-2 by osteoblasts. *BMC Oral Health* 2014;14:85. doi:10.1186/1472-6831-14-85.
34. Kawana F, Sawae Y, Sahara T, Tanaka S, Debari K, Shimizu M, et al. Porcine enamel matrix derivative enhances trabecular bone regeneration during wound healing of injured rat femur. *Anat Rec* 2001;264(4):438-46.
35. Sawae Y, Sahara T, Kawana F, Sasaki T. Effects of enamel matrix derivative on mineralized tissue formation during bone wound healing in rat parietal bone defects. *J Electron microsc* 2002;51(6):413-23.
36. Garavello-Freitas I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M, da Cruz-Höfling MA. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B* 2003;70(2):81-9.
37. Pinheiro ALB, Martinez Gerbi ME, De Assis Limeira F, Carneiro Ponzi EA, Marques AMC, Carvalho CM, et al. Bone repair following bone grafting hydroxyapatite guided bone regeneration and infra-red laser photobiomodulation: A histological study in a rodent model. *Lasers Med Sci* 2009;24(2):234-40.

38. Rochkind S, Kogan G, Luger EG, Salame K, Karp E, Graif M, et al. Molecular structure of the bony tissue after experimental trauma to the mandibular region followed by laser therapy. *Photomed Laser Surg* 2004;22(3):249-53.
39. Nissan J, Assif D, Gross MD, Yaffe A, Binderman I. Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. *J Oral Rehabil* 2006;33(8):619-924.
40. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med*. 2007 Dec;39(10):788-96.
41. Oliveira GJPL, Aroni MAT, Medeiros MC, Marcantonio E Jr, Marcantonio RAC. Effect of low-level laser therapy on the healing of sites grafted with coagulum, deproteinized bovine bone, and biphasic ceramic made of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate. In vivo study in rats. *Lasers Surg Med* 2018 Jan 13. doi:10.1002/lsm.22787.
42. Park IS, Chung PS, Ahn JC. Enhanced angiogenic effect of adipose-derived stromal cell spheroid with low-level light therapy in hind limb ischemia mice. *Biomaterials* 2014;35(34):9280-9.
43. Huang GT, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res* 2009;88(9):792- 806.
44. Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(13):8932-7.
45. Amaroli A, Agas D, Laus F, Cuteri V, Hanna R, Sabbieti MG, et al. The effects of photobiomodulation of 808 nm diode laser therapy at higher fluence on the *in vitro* osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Front Physiol* 2018;9:123.
46. Ozcelik O, Hayatac MC, Seydaooglu G. Enamel matrix derivative and low-level laser therapy in the treatment of infra-bony defects: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2008;35(2):147-56.

ANEXO

Anexo 1 – Parecer do Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp.



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Efeitos da proteína derivada do esmalte (Emdogain) associada ou não ao laser de baixa potência no reparo de defeitos ósseos provocados em tíbias de ratos: estudo histomorfométrico e microtomográfico"**, Processo FOA nº 00328-2018, sob responsabilidade de Valdir Gouveia Garcia apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 20 de Julho de 2018.

VALIDADE DESTES CERTIFICADO: 20 de Agosto de 2019.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 20 de Setembro de 2019.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Effects of Enamel derivative protein (Emdogain) associated of not to low-level laser in bone repair of bone defects caused in tibia of rats: histomorphometric and microtomographic study"**, Protocol FOA nº 00328-2018, under the supervision of Valdir Gouveia Garcia presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on July 20, 2018.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: August 20, 2019.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: September 20, 2019.


Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani
 Coordenador da CEUA
 CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
 Faculdade de Odontologia de Araçatuba
 Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
 Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
 Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br

ANEXO 2

Dados da pesquisa: Análise histológica semi-quantitativa, imunomarcadores OCN e TRAP e análise estatística.

DADOS SEMI-QUANTITATIVOS DA ANÁLISE HISTOLÓGICA

CONTROLE (10 dias)	CONTROLE (30 dias)	CONTROLE (60 dias)	AMELOGENIN A E FBM (10 dias)	AMELOGENIN A E FBM (30 dias)	AMELOGENIN A E FBM (60 dias)
1	2	4	3	4	5
1	3	4	3	4	5
1	2	4	3	4	5
1	2	5	3	4	5
2	3	4	3	4	5
1	2	5	3	4	5
1 (1-2)	2 (2-3)	4 (4-5)	3 (3-3)	4 (4-4)	5 (5-5)

ANÁLISE ESTATÍSTICA DA ANÁLISE HISTOLÓGICA

RESULTADOS		
H =	33.2477	
Graus de liberdade =	5	
(p) Kruskal-Wallis =	0.0000	
R 1 (posto médio) =	3.8333	
R 2 (posto médio) =	10.1667	
R 3 (posto médio) =	26.5000	
R 4 (posto médio) =	14.5000	
R 5 (posto médio) =	23.5000	
R 6 (posto médio) =	32.5000	
Student-Newman-Keuls	Dif. Postos	p-valor
Grupos (1 e 2) =	6.3333	0.2978
Grupos (1 e 3) =	22.6667	0.0002
Grupos (1 e 4) =	10.6667	0.0795
Grupos (1 e 5) =	19.6667	0.0012
Grupos (1 e 6) =	28.6667	< 0.0001
Grupos (2 e 3) =	16.3333	0.0072
Grupos (2 e 4) =	4.3333	0.4762
Grupos (2 e 5) =	13.3333	0.0284
Grupos (2 e 6) =	22.3333	0.0002
Grupos (3 e 4) =	12.0000	0.0485
Grupos (3 e 5) =	3.0000	0.6219
Grupos (3 e 6) =	6.0000	0.3239
Grupos (4 e 5) =	9.0000	0.1390
Grupos (4 e 6) =	18.0000	0.0031
Grupos (5 e 6) =	9.0000	0.1390

DADOS SEMI-QUANTITATIVOS DE OCN (SCORES)

CONTROL E (10 dias)	CONTROL E (30 dias)	CONTROL E (60 dias)	AMELOGENIN A E FBM (10 dias)	AMELOGENIN A E FBM (30 dias)	AMELOGENIN A E FBM (60 dias)
1	2	3	3	4	5
1	2	3	3	4	5
1	2	3	4	4	5
1	2	3	4	4	5
1	3	3	3	4	5
1	3	3	3	4	5
1 (1-1)	2 (2-3)	3 (3-3)	3 (3-4)	4 (4-4)	5 (5-5)

ANÁLISE ESTATÍSTICA DE OCN

RESULTADOS		
H =	32.9089	
Graus de liberdade =	5	
(p) Kruskal-Wallis =	0.0000	
R 1 (posto médio) =	3.5000	
R 2 (posto médio) =	11.1667	
R 3 (posto médio) =	16.5000	
R 4 (posto médio) =	19.8333	
R 5 (posto médio) =	26.5000	
R 6 (posto médio) =	33.5000	
Student-Newman-Keuls	Dif. Postos	p-valor
Grupos (1 e 2) =	7.6667	0.2075
Grupos (1 e 3) =	13.0000	0.0326
Grupos (1 e 4) =	16.3333	0.0072
Grupos (1 e 5) =	23.0000	0.0002
Grupos (1 e 6) =	30.0000	< 0.0001
Grupos (2 e 3) =	5.3333	0.3806
Grupos (2 e 4) =	8.6667	0.1542
Grupos (2 e 5) =	15.3333	0.0117
Grupos (2 e 6) =	22.3333	0.0002
Grupos (3 e 4) =	3.3333	0.5837
Grupos (3 e 5) =	10.0000	0.1002
Grupos (3 e 6) =	17.0000	0.0052
Grupos (4 e 5) =	6.6667	0.2731
Grupos (4 e 6) =	13.6667	0.0247
Grupos (5 e 6) =	7.0000	0.2498

DADOS SEMI-QUANTITATIVOS DE TRAP (SCORES)

CONTROL E (10 dias)	CONTROL E (30 dias)	CONTROL E (60 dias)	AMELOGENIN A E FBM (10 dias)	AMELOGENIN A E FBM (30 dias)	AMELOGENIN A E FBM (60 dias)
1	2	3	3	4	2
1	2	2	3	4	2
1	2	4	3	4	2
1	2	3	3	4	2
1	2	3	3	4	2
1	3	4	3	4	2
1 (1-1)	2 (2-3)	3 (2-4)	3 (3-3)	4 (4-4)	2 (2-2)

ANÁLISE ESTATÍSTICA DE TRAP

RESULTADOS		
H =	31.3477	
Graus de liberdade =	5	
(p) Kruskal-Wallis =	0.0000	
R 1 (posto médio) =	3.5000	
R 2 (posto médio) =	14.3333	
R 3 (posto médio) =	24.6667	
R 4 (posto médio) =	23.5000	
R 5 (posto médio) =	32.5000	
R 6 (posto médio) =	12.5000	
Student-Newman-Keuls	Dif. Postos	p-valor
Grupos (1 e 2) =	10.8333	0.0749
Grupos (1 e 3) =	21.1667	0.0005
Grupos (1 e 4) =	20.0000	0.0010
Grupos (1 e 5) =	29.0000	< 0.0001
Grupos (1 e 6) =	9.0000	0.1390
Grupos (2 e 3) =	10.3333	0.0894
Grupos (2 e 4) =	9.1667	0.1318
Grupos (2 e 5) =	18.1667	0.0028
Grupos (2 e 6) =	1.8333	0.7631
Grupos (3 e 4) =	1.1667	0.8479
Grupos (3 e 5) =	7.8333	0.1978
Grupos (3 e 6) =	12.1667	0.0455
Grupos (4 e 5) =	9.0000	0.1390
Grupos (4 e 6) =	11.0000	0.0705
Grupos (5 e 6) =	20.0000	0.0010

2. Artigo científico 2

Artigo de acordo com as normas da Faculdade ILAPEO para futura publicação no periódico **Implantnews**.

Aplicabilidade dos implantes zigomáticos cone morse para reabilitação de maxilas atróficas: relato de caso.

Jânderson de Medeiros Cardoso¹

Luis Eduardo Marques Padovan²

Leandro Kluppel³

1 Mestrando em Implantodontia do Instituto Latino Americano de Ensino e Pesquisa Odontológico - ILAPEO, Curitiba, Brasil.

2 Professor doutor em Implantodontia do Instituto Latino Americano de Ensino e Pesquisa Odontológico ILAPEO, Curitiba, Brasil.

3 Professor doutor em Implantodontia do Instituto Latino Americano de Ensino e Pesquisa Odontológico ILAPEO, Curitiba, Brasil.

RESUMO

Pacientes portadores de deficiência de volume ósseo na maxila instigam à um plano de tratamento mais elaborado de como conseguir uma distribuição na instalação dos implantes que alcance uma biomecânica favorável. Existe a possibilidade de reconstruções ósseas, mas demandam uma intervenção prévia, uso de biomateriais ou até mesmo uma segunda área cirúrgica, isso incorre em elevar o tempo de conclusão e riscos cirúrgicos. O propósito deste relato de caso, foi descrever a resolução cirúrgico/protética de um caso que foram usados os novos implantes GM de ancoragem zigomática, bilateralmente e unitários, em conjunto a quatro implantes convencionais GM instalados na região anterior de maxila, em paciente idosa, 84 anos. Tratamento cirúrgico feito em ambiente hospitalar sob anestesia geral. O plano de tratamento foi propiciar uma finalização estética funcional mais próximo do ideal ao referente caso. No controle de 90 dias os objetivos foram alcançados.

Palavras-chave: Atrofia maxilar; Enxerto sinusal; Implante de zigomático.

ABSTRACT

Patients with bone volume deficiency in the maxilla instigate a more elaborate treatment plan on how to achieve a distribution in implant installation that achieves favorable biomechanics. There is the possibility of bone reconstruction, but they require a previous intervention, use of biomaterial or even a second surgical area, this incurs to increase the time of completion and surgical risks. The purpose of this case report is to describe the surgical / prosthetic resolution of a case that the new biomatic and bilateral zygomatic anchorage implants were used in conjunction with four conventional GM implants installed in the anterior maxilla in an elderly patient, 84 years. Surgical treatment done in hospital environment under general anesthesia. The treatment plan was to provide a functional aesthetic finalization closer to the ideal case referent. In the 90 day control the objectives were achieved.

Keywords: Maxillary atrophy; Sinus graft; Zygomatic implant.

INTRODUÇÃO

O edentulismo é considerado um problema de saúde bastante significativo a nível mundial (MASSAD, SWATI AHUJA & GOODACRE, 2015). Para que ocorra a reabilitação oral por meio de implantes é necessário que haja adequado volume ósseo em altura e espessura (BRANEMARK et al., 1969). Maxilares atróficos sempre serão um desafio a ser solucionado, reabsorção de crista e rebordo, mais pneumatização dos seios maxilares, invariavelmente reduzem a um volume ósseo insuficiente, impossibilitando a instalação de implantes convencionais. Muitas técnicas são usadas para superar isso, inclusive enxerto ósseo autógeno, reconstruções usando fíbula como material de preenchimento ou para ganho de volume (CHIAPASCO et al., 2011). Apresentados pela primeira vez em 1989, os implantes zigomáticos foram inicialmente indicados para a reabilitação de pacientes com traumas faciais, defeitos congênitos ou submetidos a grandes cirurgias de ressecção óssea em decorrência de neoplasias malignas (APARÍCIO et al., 2008; ROMEIRO et al., 2009). A ancoragem zigomática é uma técnica alternativa a técnicas de reabilitação com implantes convencionais. Inicialmente introduzido por Branemark em 1988, os implantes zigomáticos apresentam confiabilidade devido a constância do volume de osso do osso zigomático ao longo do tempo (KAHNBERG et al., 2007). As principais complicações que podem ocorrer são: surgimento de fístulas oroantrais, sinusites crônicas e fraturas do osso orbital e zigoma (DOS SANTOS et al., 2016). É uma cirurgia de envolve alguns riscos, devido essencialmente ao fato de que o trajeto que a broca efetua é próximo a certas estruturas anatômicas, como o seio maxilar, a cavidade nasal e a região ocular (UCHIDA et al., 2001). Implantes zigomáticos apresentam taxas de sobrevivência de 98-100% em follow-ups variáveis entre 1-10 anos (UGURLU et al., 2013).

RELATO DE CASO CLÍNICO

Paciente J. S., sexo feminino, 84 anos, portadora de Prótese Total Superior a mais de 60 anos e prótese protocolo inferior sobre 5 implantes a mais de 15 anos SIC, procurou o atendimento na faculdade ILAPEO com o objetivo de receber tratamento que desse estabilidade e conforto, pois a prótese total superior atual não atendia sua expectativa quanto a fixação e estética, e como portadora de protocolo inferior gostaria que a superior também proporcionasse a mesma segurança, foram solicitados exames de imagem na avaliação pré-operatória, radiografia panorâmica (fig. 1) e tomografia computadorizada de maxila e zigomas, nas quais confirmou a pouca disponibilidade óssea nas regiões posteriores da maxila pelo presença de seios maxilares hipertróficos por pneumatização; com o arquivo Dicon da Tomografia Computadorizada Cone Beam foi confeccionado um biomodelo, proporcionando uma maior precisão no planejamento, tanto na posição como nos tamanhos dos implantes a serem instalados (fig. 2). Durante a anamnese constatamos ser uma paciente com moderado risco cirúrgico, portadora de cardiopatia, hipertensão, desequilíbrio hormonal tireoidiano, hipercolesteremia e leve insuficiência respiratória, controlados por medicações de uso contínuo: AAS (antiagregante plaquetário), Selozok (controle da hipertensão), Diltiazem (coronariopatias), Sinvastatina (controle do colesterol), Euthyrox (repositor hormonal tireoidiano), Tofranil (antidepressivo), Pantozol (inibidor de bomba de prótons). Foram solicitados exames laboratoriais confirmando a possibilidade da intervenção cirúrgica: hemograma, coagulograma, glicemia jejum, hemoglobina glicada, creatinina e exame de eletrocardiograma de esforço com risco cirúrgico mais RX de tórax P.A. e perfil. Foram instalados os novos implantes de plataforma cônica GM de ancoragem zigomática (Neodent[®] Curitiba/ Paraná – Brasil) (fig. 3) bilateralmente e individuais pela técnica de Stella e quatro implantes convencionais de plataforma cônica GM Helix Acqua (Neodent[®] Curitiba/ Paraná – Brasil) em região de pré-maxila, e no mesmo momento houve a escolha e instalação dos

intermediários protéticos mini pilares retos nos anteriores e angulados em 45 graus nos de ancoragem zigomática com seus referentes cilindros de proteção (Neodent[®] Curitiba/ Paraná – Brasil), sob anestesia geral e intubação nasotraqueal; cobertura medicamentosa antibiótica e para controle da dor por 7 dias. Após alta hospitalar, na clínica da faculdade ILAPEO foi feita uma tomada tomográfica de controle pós operatório para confirmação do posicionamento de instalação (fig. 4, fig. 5), moldagens e provas para confecção das próteses: protocolo superior e a troca da protocolo inferior; as suas instalações foram feitas 48 horas após a cirurgia, uma radiografia panorâmica de controle instalação das próteses protocolo. Consulta de controle aos 7, 15, 30, 45, 60 e aos 90 dias; no 15º dia pós cirúrgico foi confeccionada uma placa intermaxilar sobre a prótese protocolo inferior para diminuir hábitos deletérios da paciente. No decorrer do tempo, houve evolução satisfatória no reparo cirúrgico e na adaptação da paciente ao uso de protocolo bimaxilar (fig. 7).



Figura 1 – Radiografia Panorâmica inicial.



Figura 2 – Planejamento no biomodelo.

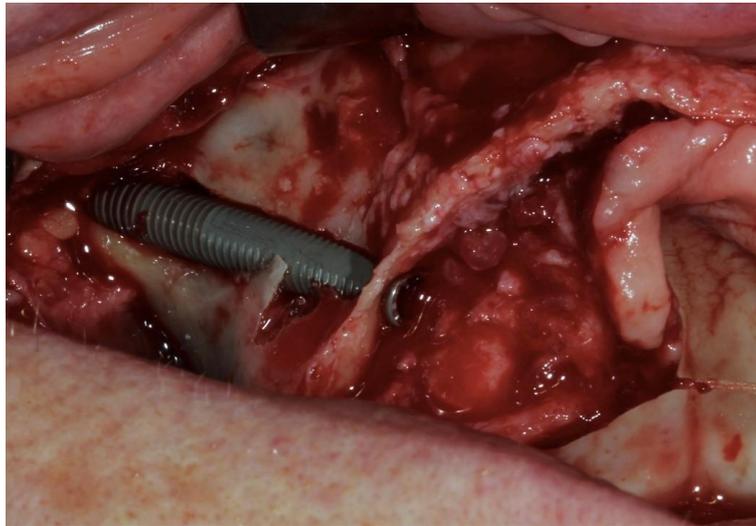


Figura 3 – Novo implante GM de ancoragem zigomática.

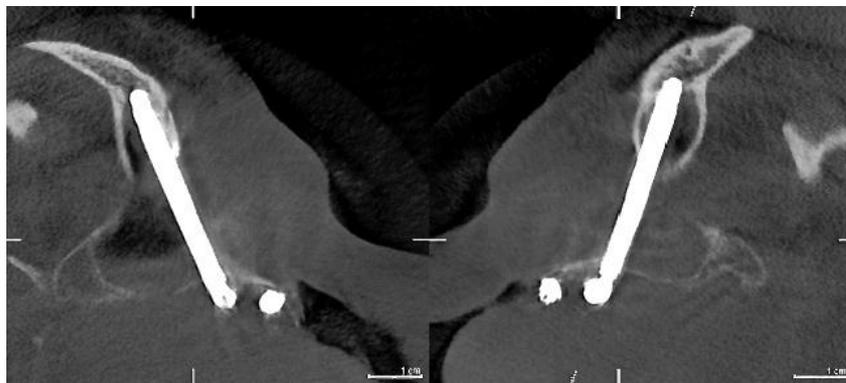


Figura 4 – Cortes tomográficos zigomáticos.

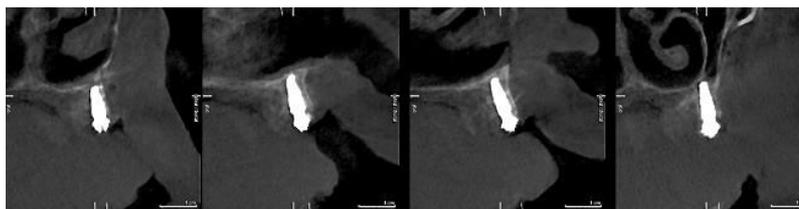


Figura 5 – Cortes tomográficos anteriores.

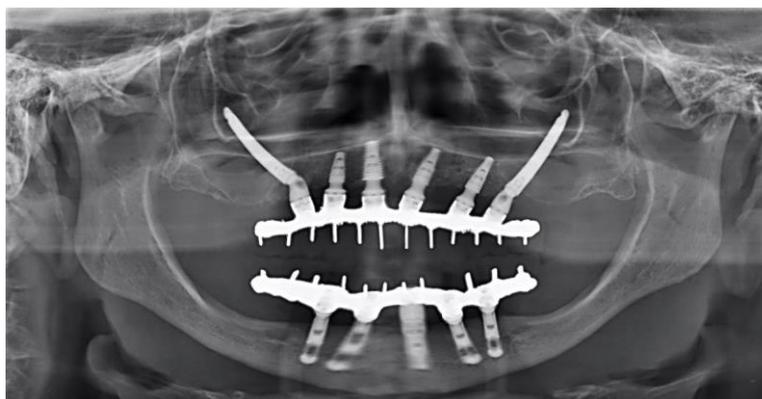


Figura 6 – Novo implante GM de ancoragem zigomática.



Figura 7 – 90 dias da prótese instalada.

DISCUSSÃO

Os implantes zigomáticos, originalmente idealizados por Branemark em 1989, oferecem ao cirurgião dentista uma boa alternativa aos enxertos ósseos para a reabilitação de maxilas atroficas, Branemark instalou implantes zigomáticos em 81 pacientes, e obteve uma taxa de êxito de 97% durante 10 anos (GOIATO et al., 2014). É graças a uma possível inserção em quatro corticais e num espesso trabeculado, o que fornecerá a necessária resistência à distribuição das forças oclusais (STIÉVENART E MALEVEZ, 2010; NKENKE et al., 2003; APARICIO et al., 2008). Uma revisão sistemática de Goiato et al. (2014), teve como

propósito abordar uma série de casos clínicos, compreendidos entre 2000 e 2012, de forma a entender a sobrevivência dos implantes zigomáticos. Algumas das conclusões mais expressivas que se pode retirar deste estudo sistemático é, em primeiro lugar, que os implantes zigomáticos são uma alternativa viável para usar em pacientes com maxilares atróficos. Na revisão sistemática de Chrcanovic e Abreu (2012), em que foram observados 2402 casos clínicos de implantação zigomática, apenas 70 casos de sinusite foram reportados, o que significa que não existe qualquer mecanismo de interferência entre os implantes e a fisiologia do seio maxilar. Está comprovado que a sinusite maxilar pode surgir alguns anos após a cirurgia, o que torna este problema num risco ainda mais potencial e inestimado (BRANEMARK et al., 2004). Grande parte do stress mecânico é distribuído à superfície lateral da parede do seio maxilar e ao pilar do implante, existindo, portanto, uma significativa desvantagem biomecânica em relação ao braço de alavanca de comprimento e a pequena quantidade de osso integrado (GOIATO et al., 2014). A estabilidade primária permite a carga imediata e reduz o tempo de tratamento, aumentando o conforto e a satisfação do paciente (GOIATO et al., 2014).

CONCLUSÃO

Esse relato de caso demonstrou que o uso de implantes zigomáticos em conjunto a implantes convencionais na região anterior, fornece estabilidade suficiente para a instalação de prótese protocolo em maxila atrófica e são uma excelente opção para pacientes que buscam uma resolução segura e rápida.

REFERÊNCIAS

1. Massad JJ, Ahuja S, Goodacre CJ. *Implants and prosthetic restorations: clinical considerations*. Oral Health Group; 2015.
2. Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 1969;3(2):81-100.
3. Chiapasco M, Zaniboni M. Methods to treat the edentulous posterior maxilla: implants with sinus grafting. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67(4):867-71.
4. Aparicio C, Ouazzani W, Hatano N. The use of zygomatic implants for prosthetic rehabilitation of the severely resorbed maxilla. *Periodontol 2000* 2008;47:162-71.
5. Romeiro RL, Feitosa PC, Canôas RS, Cunha AC. Implantes zigomáticos x reconstrução de maxila com enxerto de íliaco: relato de caso clínico. *Periodontia* 2009;19(4):82-8.
6. Kahnberg KE, Henry PJ, Hirsch JM, Ohnell LO, Andreasson L, Branemark PI et al. Clinical evaluation of the zygoma implant: 3 years followup at 16 clinics. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65(10):2033-8.
7. Dos Santos PL, Silva GH, Da Silva Pereira FR, da Silva RD, Campos ML, Mattos TB, et al. Zygomatic implant subjected to immediate loading for atrophic maxilla rehabilitation. *J Craniofac Surg* 2016;27(8):734-7.
8. Uchida, Y, Goto M, Katsuki T, Akiyoshi T. Measurement of the maxilla and zygoma as an aid in installing zygomatic implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2001;59(10):1193-8.
9. Ugurlu F, Yıldız C, Sener BC, Sertgoz A. Rehabilitation of posterior maxilla with zygomatic and dental implant after tumor resection: a case report. *Case Rep Dent* 2013; 2013:930345. doi: 10.1155/2013/930345.
10. Goiato MC, Pellizzer EP, Moreno A, Gennari-Filho H, Santos DM, Santiago JF Jr, et al. Implants in the zygomatic bone for maxillary prosthetic rehabilitation: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(6):748-57.
11. Stiévenart M, Malevez C. Rehabilitation of totally atrophied maxilla by means of four zygomatic implants and fixed prosthesis: a 6-40 month follow-up. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010;39(4):358-63.
12. Nkenke E, Hahn M, Lell M, Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Stech B, et al. Anatomic site evaluation of the zygomatic bone for dental implant placement. *Clin Oral Implants Res* 2003;14(1):72-9.
13. Chrcanovic BR, e Abreu MH. Survival and complications of zygomatic implants: a systematic review. *Oral Maxillofac Surg* 2013;17(2):81-93.

14. Branemark PI, Gröndahl K, Öhrnell LO, Nilsson P, Petruson B, Svensson B, et al. Zygoma fixture in the management of advanced atrophy of the maxilla: technique and long-term results. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2004;38(2):70-85.