

UNIVERSIDADE PAULISTA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**IMPACTO DE DIFERENTES TORQUES DE INSERÇÃO DE
IMPLANTES DENTAIS NO PADRÃO DE MARCADORES
RELACIONADOS À OSTEOCLASTO/BLASTOGÊNESE.
ESTUDO CLÍNICO-LABORATORIAL, PROSPECTIVO,
CONTROLADO E RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

ANTONIO VERRASTRO NETO

SÃO PAULO

2016

UNIVERSIDADE PAULISTA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**IMPACTO DE DIFERENTES TORQUES DE INSERÇÃO DE
IMPLANTES DENTAIS NO PADRÃO DE MARCADORES
RELACIONADOS À OSTEOCLASTO/BLASTOGÊNESE.
ESTUDO CLÍNICO-LABORATORIAL, PROSPECTIVO,
CONTROLADO E RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano

Área de Concentração: Clínica Odontológica
Sub-área: Periodontia

ANTONIO VERRASTRO NETO

SÃO PAULO

2016

Verrastro Neto, Antonio.

Impacto de diferentes torques de inserção de implantes dentais no padrão de marcadores relacionados a Osteoclasto/Blastogênese: estudo clínico-laboratorial, prospectivo, controlado e randomizado / Antonio Verrastro Neto. - 2016.

21 f. : il. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, São Paulo, 2016.

Área de Concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano.

1. Osseointegração. 2. Carga imediata. 3. Implantes.
I. Cirano, Fabiano Ribeiro (orientador). II. Título.

ANTONIO VERRASTRO NETO

**IMPACTO DE DIFERENTES TORQUES DE INSERÇÃO DE
IMPLANTES DENTAIS NO PADRÃO DE MARCADORES
RELACIONADOS À OSTEOCLASTO/BLASTOGÊNESE.
ESTUDO CLÍNICO-LABORATORIAL, PROSPECTIVO,
CONTROLADO E RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____/_____/201____.
Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano
UNIVERSIDADE PAULISTA - UNIP

_____/_____/201____.
Profa. Dra. Mônica Grazieli Corrêa
UNIVERSIDADE PAULISTA - UNIP

_____/_____/201____.
Prof. Dr. Nilton De Bortoli Junior
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, irmãos, meus professores de graduação e pós graduação, em especial ao grande amigo Geraldo Leonel Alves Júnior e sua família, minha namorada Beatriz Rodrigues Moreira e sua família e ao meu grande amigo Rodrigo Marques Andrade, essencial para a construção e finalização deste trabalho. Essas pessoas foram essenciais para que as barreiras fossem vencidas se transformando em méritos.

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, por permitir essa grande oportunidade e ter me dado força para seguir em frente.

Aos meus pais Alfredo Verrastro Neto e Aparecida de Fátima Mendes Verrastro, por me orientarem e apoiarem assiduamente nas escolhas profissionais e pelo incansável esforço para me proporcionar minha formação profissional;

À meus irmãos Giuliano Verrastro e Bianca Verrastro Antunes, pelo apoio e torcida pelo meu crescimento pessoal e profissional;

Ao meu grande amigo Prof. Geraldo Leonel Alves Júnior e sua família, Ângela Fabrizio e Paula Fabrizio, por serem fundamentais no meu ingresso na pós graduação e fazerem parte de todo meu crescimento profissional.

A minha namorada, conselheira e companheira Beatriz Rodrigues Moreira, meus sogros Douglas Moreira, Soraya Rodrigues Moreira e meu cunhado Douglas Moreira Filho, conhecedores de toda minha trajetória durante este mestrado, me apoiando e me dando ânimo a todo momento para sempre seguir em frente;

Ao Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano, orientador deste trabalho, por ter me aceito como orientado, tendo em mim depositado grande confiança durante todo o decorrer deste trabalho. Espero ter correspondido às expectativas.

A toda equipe de Periodontia da UNIP/SP: Dr. Renato Corrêa Viena Casarin, Dra. Mônica Grazieli, Dr. Márcio Zaffalon Casatti, Profa. Dra. Suzana Pimentel, Dra. Fernanda Vieira Ribeiro pelo trabalho conjunto e pelo apoio durante todo o percurso deste trabalho;

À Coordenadora, Profa. Dra. Cíntia Helena Coury Saraceni e aos demais Professores do Curso de Mestrado em Odontologia da UNIP, que têm trabalhado incansavelmente para o crescimento desse reconhecido Programa de Pós-Graduação da UNIP/SP;

Ao amigo Rodrigo Marques Andrade, que percorreu simultaneamente toda esta jornada do início ao fim, sempre prestativo nas tarefas e nos trabalhos, sendo um grande amigo em todos os momentos;

Aos colegas do Curso de Mestrado da UNIP/SP, visto que tivemos a oportunidade de aprimorar juntos nossos conhecimentos, cada um na sua área de atuação, no decorrer das atividades;

A todos(as) os(as) funcionários(as) do *Campus Indianópolis* da UNIP/SP, em especial à Secretaria dos Cursos de Pós-Graduação, que são parte integrante do bom funcionamento e do apoio aos alunos;

A toda a equipe do Instituto Impianto, na qual tenho muito orgulho em fazer parte e trabalhar todos os dias.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar prospectivamente o comportamento do processo de reparo ósseo ao redor de implantes instalados com diferentes torques. Foram selecionados 18 pacientes desdentados totais mandibulares, os quais receberam cinco implantes para instalação de prótese imediata do tipo protocolo fixa, sendo os implantes localizados entre o implante central e o mais distal de ambos os lados divididos entre os grupos teste (torque entre 15 e 30N) e controle (torque entre 30 e 60N). Após 7, 15, 30 e 120 dias foram realizadas coletas do fluido peri-implantar para avaliação dos níveis de marcadores relacionados a osteoclasto/blastogênese, sendo eles Fator de crescimento endotelial e vascular (VEGF), Fator de crescimento de placenta (PLGF), BMP- 9 (proteína óssea morfogenética-9), Periostin (POSTIN), Osteoprotegerina (OPG) e TRAP (fosfatase ácida resistente ao tartarato). Os resultados imunoenzimáticos relacionados a osteoblastogênese (VEGF, PLGF, BMP-9, POSTIN e OPG), demonstraram maiores concentrações em curto prazo no grupo teste, observando diferença estatística entre os tempos em até 30 dias ($p<0.05$). No tempo de 120 dias, foi possível observar maiores concentrações de PLGF, BMP-9 e POSTIN no grupo controle ($p<0.05$). O mediador osteoclasto TRAP foi demonstrado em menor concentração no grupo teste em todos os tempos avaliados ($p<0.05$). O estudo permitiu concluir que o torque promoveu uma modulação dos mediadores imunoenzimáticos osteoblásticos e osteoclasto avaliados.

Palavras chave: Osseointegração. Carga imediata. Implantes. Osteoblastogênese. Osteoclastogênese

ABSTRACT

The aim of this study was to compare prospectively the behavior of the bone repair process around implants installed with different torque type. Eighteen totally edentulous patients were selected to receive five mandibular implants for immediate installation of the fixed protocol prostheses. The implants were located between the central and the most distal implant of both sides. The patients were divided in test (torque between 15 and 30N) and control (torque between 60N and 30) groups. Peri-implant fluid collection were performed at 7, 15, 30 and 120 days to perform the immunoenzymatic analyzes of osteoclasts/osteoblasts related markers Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Placental Growth Factor (PLGF), Bone Morphogenetic Protein-9 (BMP-9), Periostin (POSTIN), Osteoprotegerin (OPG) and Tartrate Resistant Acid Phosphatase (TRAP). The results showed higher concentration of markers related to osteoblastogenesis (VEGF, PLGF, BMP-9, POSTIN and OPG) in the test group in the short term at 30 day period ($p < 0.05$). At 120th day it was observed higher concentration of PLGF, BMP-9 and POSTIN in the control group ($p < 0.05$). The osteoclastic mediator TRAP was in lower concentration in the test group throughout the time ($p < 0.05$). Within the limits of the present study, it is possible to conclude that torque promotes modulation of the evaluated osteoblasts and osteoclasts markers.

Keywords: Osseointegration. Immediate loading implants. Osteoblast. Osteoclast.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 FIGURAS	13
3 TABELAS	17
4 CONCLUSÃO GERAL	18
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	19

1 INTRODUÇÃO

A reabilitação dental por meio de implantes dentários é uma alternativa amplamente utilizada para substituição de dentes unitários e de toda a arcada e, nos dias de hoje, com a evolução dos materiais e dos aspectos biomecânicos dos implantes, tratamentos mais previsíveis estão sendo alcançados.

Com este intuito, a estabilidade primária dos implantes, definida como ausência de qualquer mobilidade do implante após sua inserção no leito ósseo confeccionado cirurgicamente, tem sido preconizada a fim de otimizar a previsibilidade do tratamento (Trisi et al., 2009; Tabassum et al., 2013). Com base nisso, modificações nas técnicas de fresagem e preparo do leito, bem como a utilização de novos desenhos de implantes, foram introduzidos a fim de otimizar a estabilidade primária, alcançando maior torque no ato da instalação dos implantes. Alguns estudos, no entanto, sugeriram que o torque elevado de instalação dos implantes pode produzir forças compressivas no osso peri-implantar, alterando o microambiente e gerando tensão mecânica na região, causando efeitos deletérios sobre a microcirculação local, o que poderia levar à necrose do tecido ósseo e, finalmente, a um atraso ou comprometimento na osseointegração dos implantes dentais (Coelho et al., 2010).

Assim, embora o torque elevado no ato da instalação dos implantes seja preconizado, especialmente em casos de carregamento de implantes imediatos, menores níveis de tensão após a colocação do implante dental associados a um menor torque de inserção também seriam desejáveis, podendo exercer um efeito benéfico durante o processo de reparo peri-implantar (Freitas et al., 2012; Duyck et al., 2013).

Na tentativa de elucidar o comportamento do reparo ósseo peri-implantar quando implantes são instalados com diferentes torques de inserção, tem sido sugerido que vias de reparação distintas serão estimuladas de acordo com a tensão existente entre a superfície do implante e o tecido ósseo. Deste modo, haverá uma remodelação óssea nos casos de valores altos de inserção e um estímulo à ossificação intramembranosa nos casos de valores baixos de inserção (Campos et al., 2012).

Previvamente, foi demonstrado que em implantes com menores valores de estabilidade, o espaço residual deixado entre a superfície do implante e o leito

confeccionado foi preenchido por coágulo e rapidamente substituído por tecido ósseo neoformado, em uma ossificação semelhante à intramembranosa, sem a necessidade prévia de reabsorção de osso pré-existente para formação de novo tecido (Berglundh et al., 2003). Por outro lado, em implantes com elevados níveis de inserção, o processo de remodelação tecidual na interface osso-implante, abrangendo uma reabsorção óssea inicial e posterior aposição óssea, pode ter influência negativa na estabilidade secundária do implante. No entanto, em ambos os casos, a osseointegração ocorrerá, e sendo assim, não há uma resposta clara de qual torque de inserção seria de melhor aplicação do ponto de vista clínico, sendo esta decisão ainda amplamente baseada no conceito de que o torque elevado parece ser preferível, embora os eventos moleculares associados aos diferentes processos de reparo peri-implantar, de acordo com os torques de inserção do implante, sejam ainda desconhecidos.

Diversos estudos investigaram o impacto dos diferentes níveis de torque dos implantes no tecido por meio de diferentes tipos de avaliações, como análise de frequência de ressonância, análise histológica ou ainda torque para a remoção do implante (Turkyilmaz et al., 2009; Campos et al., 2012; Freitas et al., 2012; Coelho et al., 2013; Duyck et al., 2013). Entretanto, nenhum estudo até o presente momento avaliou o impacto da estabilidade inicial de implantes dentais no perfil local de marcadores relacionados à formação e reabsorção óssea, durante os diferentes estágios da osseointegração e o que poderia refletir o comportamento do tecido ósseo durante o todo o processo de cicatrização peri-implantar, frente à diferentes torques de inserção do implante.

Por mais que esses fatores sejam estabelecidos como chave de sucesso no tratamento, é necessário um melhor entendimento dos eventos osteoimunológicos no processo de reparo, para que possamos compreender qual o melhor caminho a seguir na abordagem cirúrgica.

Dentre os eventos osteoimunológicos, os marcadores ósseos têm como finalidade atuar na angiogênese, osteoblastogênese e osteoclastogênese. O estabelecimento de um sistema vascular funcional e a regulação de fatores de crescimento angiogênicos são essenciais durante os processos de reparo ósseo. O Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF) se apresenta como um dos fatores de crescimento mais importantes para a regulação do desenvolvimento vascular e angiogênico pós-natal (Coulas, et al. 2005; Hoeben, et al. 2004).

Desempenha também papel fundamental no processo de reparação óssea, uma vez que a angiogênese e osteogênese caminham juntas no processo de reparação. O Fator de Crescimento de Placenta (PLGF) foi descoberto como indutor angiogênico pertencente à família do Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF). Além do papel tradicional de angiogênese, o PLGF desempenha papel importante na remodelação óssea e regeneração (Carmeliet et al., 2011; Maes et al., 2006).

Em paralelo, as Proteínas Ósseas Morfogênicas (BMPs) fazem parte da super família de proteínas dos fatores de crescimento transformador beta (TGF- β) e exercem um papel essencial nos primeiros eventos da cascata de reparo ósseo, sendo que a BMP-9 está entre as BMPs mais osteogênicas, estimulando a osteoindução de células mesenquimais indiferenciadas e beneficiando também os eventos de reparo (Lamplot et al., 2013). As BMPs atuam diretamente no metabolismo osteoblástico e podem estimular outro fator importante para a osteoblastogênese, denominado POSTIN (Periostin). POSTIN foi inicialmente identificado como um fator específico de osteoblastos, atuando como regulador da formação óssea (Oshima et al., 2002).

A molécula Osteoprotegerina (OPG) liga-se ao Receptor Ativador de NF- κ B ligante (RANKL), prevenindo a ligação ao seu receptor de membrana Receptor ativador de NF- κ B (RANK) presente nos pré-osteoclastos, evitando, deste modo, a reabsorção óssea. O equilíbrio no sistema RANKL/OPG a favor da osteoblastogênese é essencial para o adequado processo de reparação óssea (Spencer et al., 2006).

O metabolismo osteoclastico apresenta característica importante no processo de remodelação, pois ele é responsável pela modulação da reabsorção óssea (Teitelbaum, 2000). Mediadores inflamatórios ligados a osteoclastogênese têm desempenhado papel importante no processo de reparação.

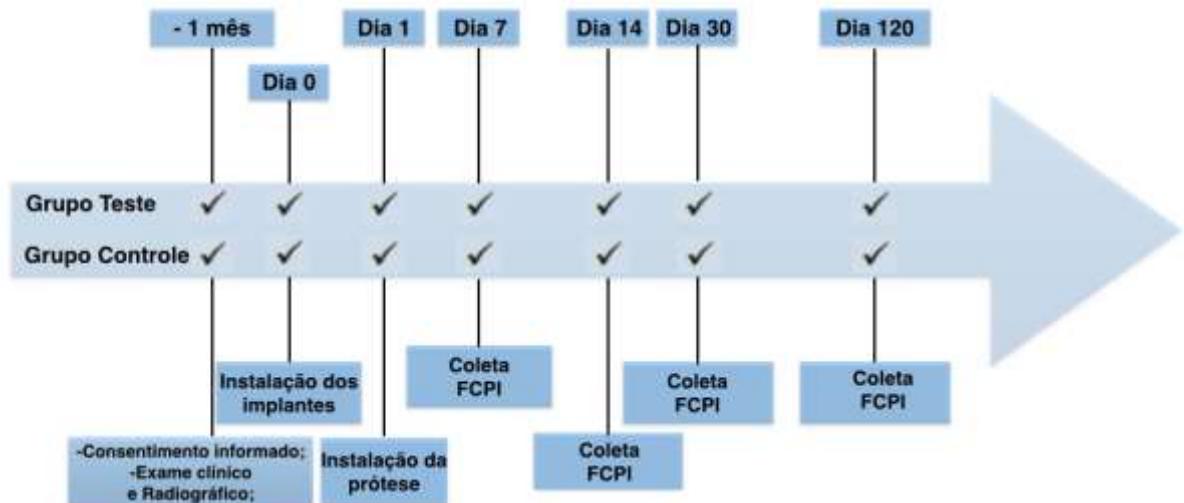
A criação de um ambiente ácido para dissolução do mineral e a reabsorção da matriz orgânica do osso são induzidos durante a diferenciação de osteoclastos, através de genes adicionais essenciais (Teitelbaum, 2000).

A fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) está entre as enzimas que são expressas nas células que contribuem para a reabsorção do componente da matriz extracelular óssea, atuando na diferenciação, ativação, proliferação e migração de osteoclastos para os sítios de reabsorção óssea (Teitelbaum, 2000; Kontinnen et al., 1999).

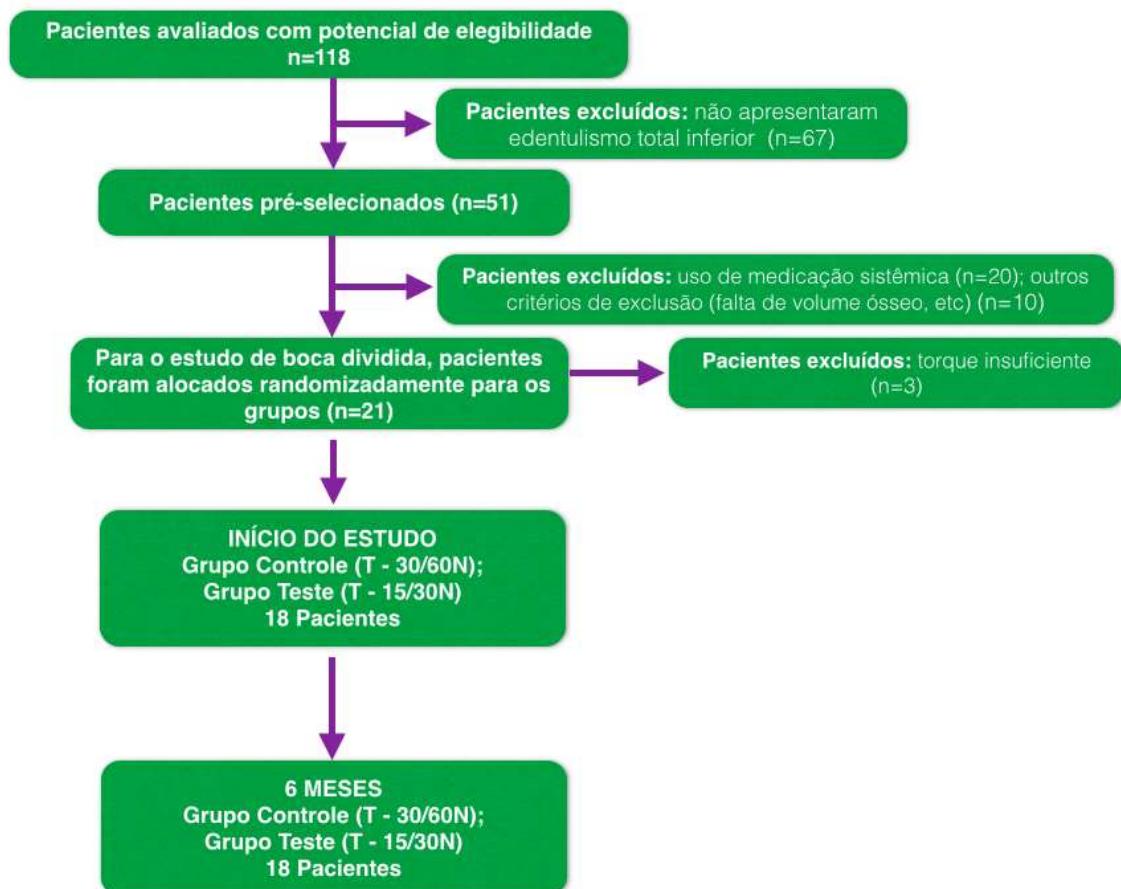
O maior conhecimento sobre os aspectos envolvendo o reparo peri-implantar e a utilização de alternativas não invasivas para investigar os mecanismos osteoimunológicos ocorrendo ao redor de implantes durante sua reparação, como foi proposto neste estudo, poderão direcionar estudos futuros para uma melhor compreensão da osseointegração e das condições peri-implantares.

2 FIGURAS

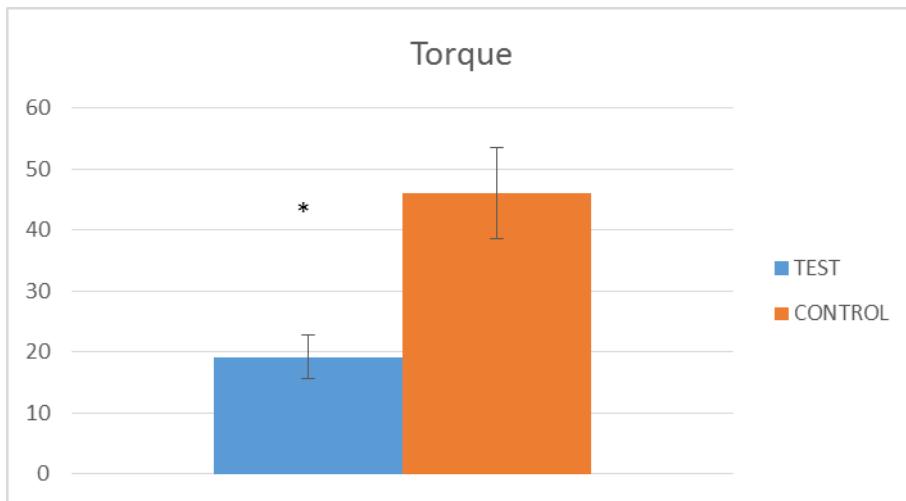
1. Linha do tempo do estudo



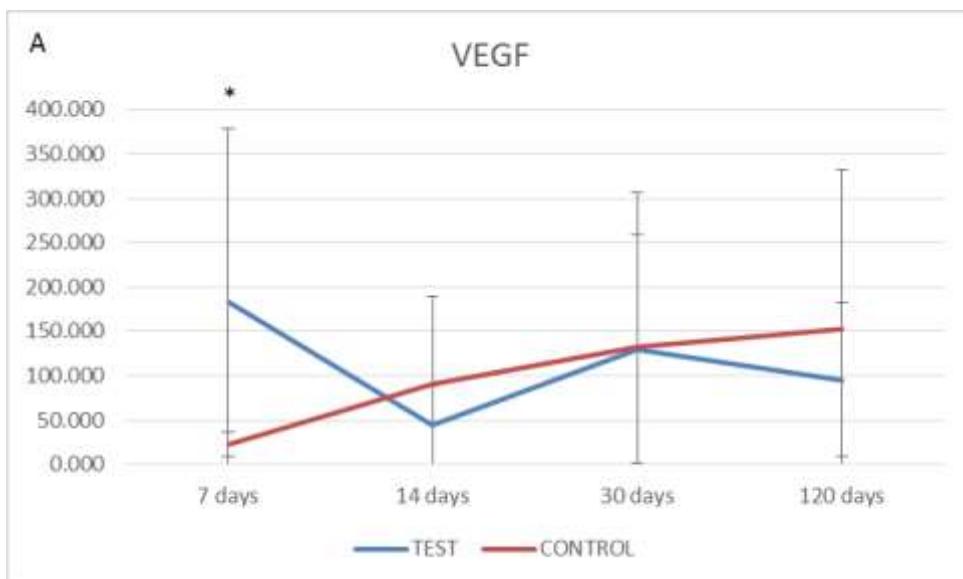
2. Fluxograma do estudo

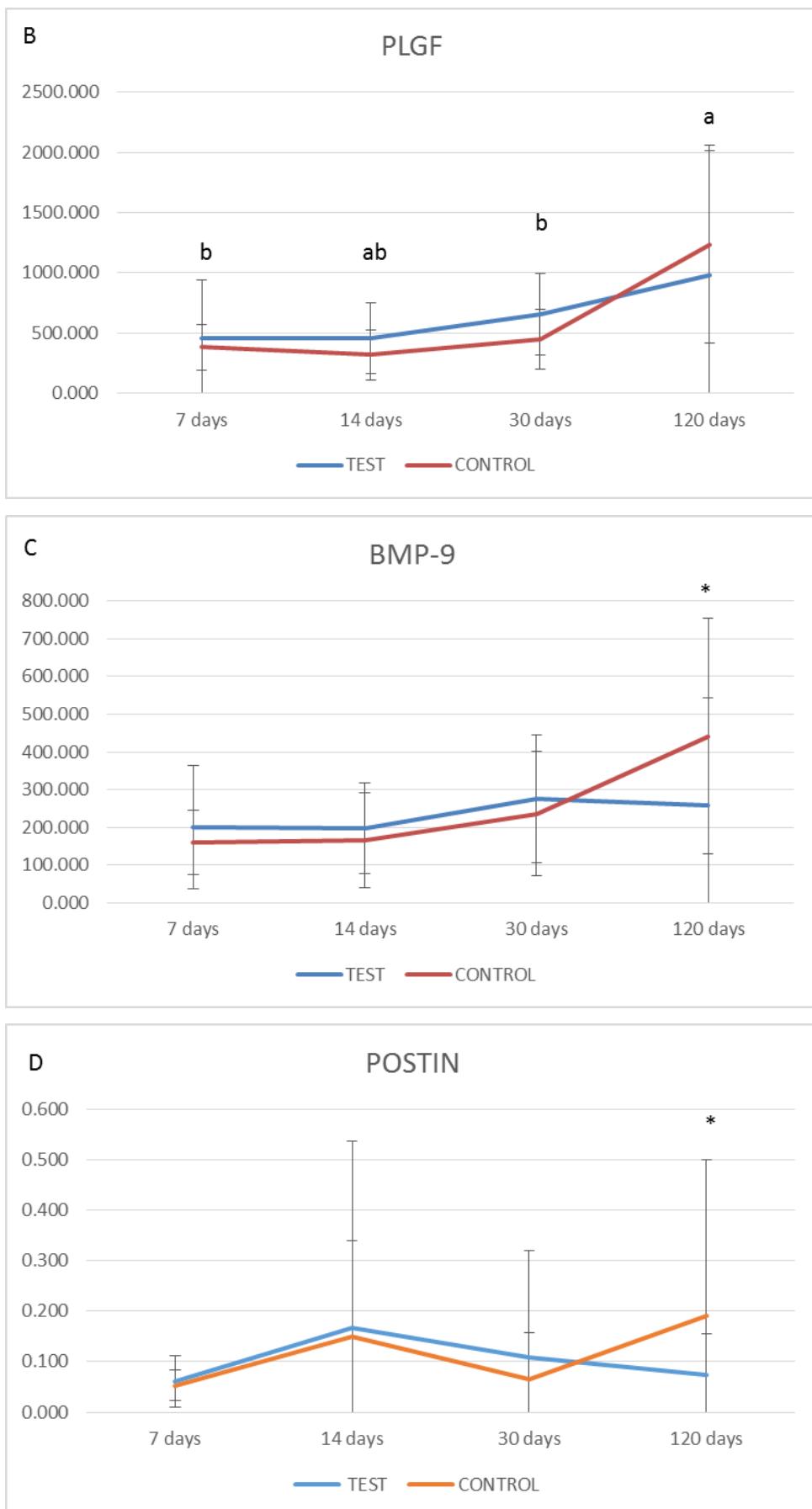


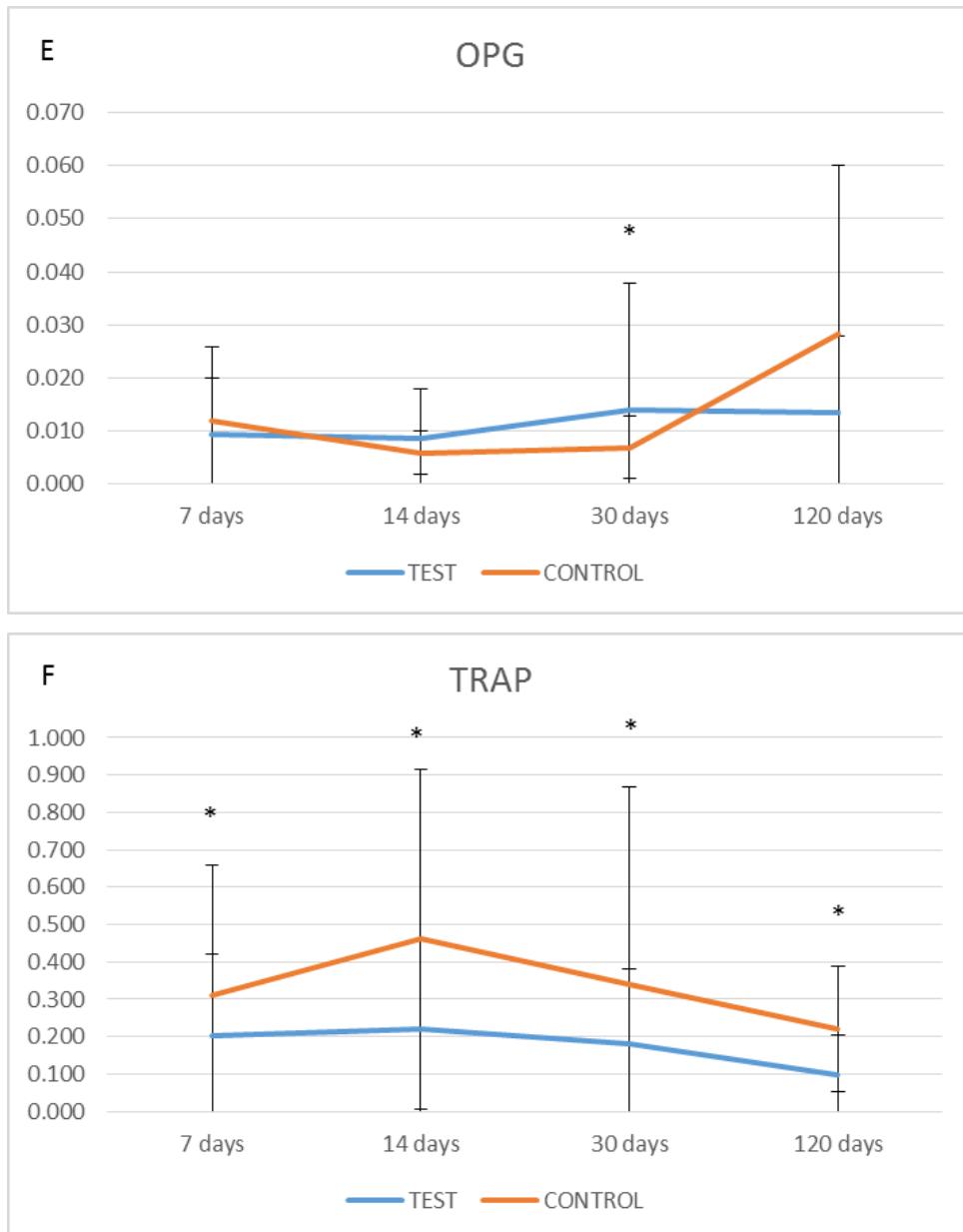
3. Média DP ± de diferentes torques de inserção de implantes dentários em cada grupo. Asterisco (*) indica uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Teste T de Student pareado, $p < 0,0001$).



4. Níveis do Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF) (A), Fator de Crescimento de Placenta (PLGF) (B), Proteína Morfogenética Óssea - 9 (BMP-9) (C), Periostin (PERIOSTIN) (D), Osteoprotegerina (OPG) (E) e Fosfatase Ácida Resistente ao Tartarato (TRAP) (F) no fluido peri-implantar (pg/mL) em implantes inseridos com torque entre 15/30 N (TESTE) e entre 30/60 N (CONTROLE). Asterisco (*) indica uma diferença estatisticamente significante entre os grupos; letras minúsculas indicam uma diferença estatisticamente significante entre os períodos de avaliação dentro de cada grupo (ANOVA TWO-WAY/TUKEY, $p < /0.05$).







3 TABELAS

Tabela 1. Dados demográficos dos indivíduos incluídos no estudo.

Idade (Media±DP)	58.06±7.42
Feminino (%)	61.11
Masculino (%)	38.89

4 CONCLUSÃO GERAL

O estudo permitiu concluir que os diferentes torques de inserção dos implantes resultaram em respostas distintas do tecido ósseo, possibilitando dizer que o torque promoveu uma modulação dos mediadores imunoenzimáticos osteoblásticos e osteoclástico avaliados, se caracterizando como o primeiro estudo que avaliou esse tipo de atividade metabólica

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Jun;14(3):251-62.
- Campos FE, Gomes JB, Marin C, Teixeira HS, Suzuki M, Witek L, Zanetta-Barbosa D, Coelho PG. Effect of drilling dimension on implant placement torque and early osseointegration stages: an experimental study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012 Jan;70(1):e43-50. doi: 10.1016/j.joms.2011.08.006.
- Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature.* 2011;473(7347):298–307
- Coelho PG, Granato R, Marin C, Bonfante EA, Janal MN, Suzuki M. Biomechanical and bone histomorphologic evaluation of four surfaces on plateau root form implants: an experimental study in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 May;109(5):e39-45. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.01.004.
- Coelho PG, Marin C, Teixeira HS, Campos FE, Gomes JB, Guastaldi F, Anchieta RB, Silveira L, Bonfante EA. Biomechanical evaluation of undersized drilling on implant biomechanical stability at early implantation times. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013 Feb;71(2):e69-75. doi: 10.1016/j.joms.2012.10.008
- Coultas L, Chawengsaksophak K, Rossant J. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature.* 2005;438(7070):937–945. doi: 10.1038/nature04479.
- Duyck J, Roesems R, Cardoso MV, Ogawa T, De Villa Camargos G, Vandamme K. Effect of insertion torque on titanium implant osseointegration: an animal experimental study. *Clin Oral Implants Res.* 2013 Dec 11. doi: 10.1111/clr.12316.
- Freitas AC Jr, Bonfante EA, Giro G, Janal MN, Coelho PG. The effect of implant design on insertion torque and immediate micromotion. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Jan;23(1):113-8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.02142.x. Epub 2011 Mar 23.
- Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev.* 2004 Dec;56(4):549-80. Review. PubMed PMID: 15602010.

Konttinen YT, Ainola M, Valleala H, Ma J, Ida H, Mandelin J, Kinne RW, Santavirta S, Sorsa T, López-Otín C, et al. Analysis of 16 different matrix metalloproteinases (MMP-1 to MMP-20) in the synovial membrane: different profiles in trauma and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1999 Nov;58(11):691–697.

Lamplot JD, Qin J, Nan G, Wang J, Liu X, Yin L, Tomal J, Li R, Shui W, Zhang H, Kim SH, Zhang W, Zhang J, Kong Y, Denduluri S, Rogers MR, Pratt A, Haydon RC, Luu HH, Angeles J, Shi LL, He TC. BMP9 signaling in stem cell differentiation and osteogenesis. *Am J Stem Cells*. 2013 Mar 8;2(1):1-21. Print 2013

Maes C, Coenegrachts L, Stockmans I, et al. Placental growth factor mediates mesenchymal cell development, cartilage turnover, and bone remodeling during fracture repair. *J Clin Invest*. 2006;116(5):1230–1242.

Oshima A, Tanabe H, Yan T, Lowe GN, Glackin CA, Kudo A. A novel mechanism for the regulation of osteoblast differentiation: transcription of periostin, a member of the fasciclin I family, is regulated by the bHLH transcription factor, twist. *J Cell Biochem*. 2002;86(4):792-804. PubMed PMID: 12210745.

Spencer GJ, Utting JC, Etheridge SL, Arnett TR, Genever PG. Wnt signalling in osteoblasts regulates expression of the receptor activator of NF κ B ligand and inhibits osteoclastogenesis in vitro. *J Cell Sci*. 2006 Apr 1;119(Pt 7):1283-96. Epub 2006 Mar 7.

Tabassum A, Meijer GJ, Walboomers XF, Jansen JA. Evaluation of primary and secondary stability of titanium implants using different surgical techniques. *Clin Oral Implants Res*. 2014 Apr;25(4):487-92. doi: 10.1111/clr.12180. Epub 2013 May 3

Teitelbaum S. Bone resorption by osteoclasts. *Science*. 2000;289:1504–1508. doi: 10.1126/science.289.5484.1504.

Trisi P, Perfetti G, Baldoni E, Berardi D, Colagiovanni M, Scogna G. Implant micromotion is related to peak insertion torque and bone density. *Clin Oral Implants Res*. 2009 May;20(5):467-71. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01679.x.

Turkyilmaz I, Sennerby L, McGlumphy EA, Tözüm TF. Biomechanical aspects of primary implant stability: a human cadaver study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2009 Jun;11(2):113-9. doi: 10.1111/j.1708-8208.2008.00097.x. Epub 2008 Apr 16.