



CEPPE

Centro de Pós-Graduação e Pesquisa

DOUTORADO EM ODONTOLOGIA

DANIEL SANCHEZ FERRARI

**O EFEITO DE FORÇAS ESTÁTICAS LATERAIS EM IMPLANTES
CARREGADOS IMEDIATAMENTE EM CÃES: AVALIAÇÃO
HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA**

Guarulhos

2012

DANIEL SANCHEZ FERRARI

**O EFEITO DE FORÇAS ESTÁTICAS LATERAIS EM IMPLANTES
CARREGADOS IMEDIATAMENTE EM CÃES: AVALIAÇÃO
HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA**

Tese apresentada à Universidade Guarulhos para
obtenção do título de Doutor em Odontologia, Área
de concentração em Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

Co-Orientador: Prof. Dr. José Augusto Rodrigues

Guarulhos

2012

F374e

FERRARI, Daniel Sanchez Ferrari

O efeito de forças estáticas laterais em implantes carregados imediatamente em cães: avaliação histológica e radiográfica. / Daniel Sanchez Ferrari, 2012.
58 f. : il. ; 31 cm

Tese (Doutorado em Odontologia) - Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, 2012.
Orientador: Dra. Jamil Awad Shibli

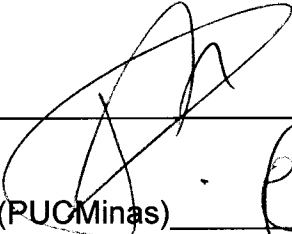
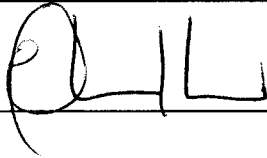
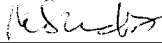
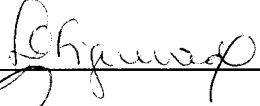
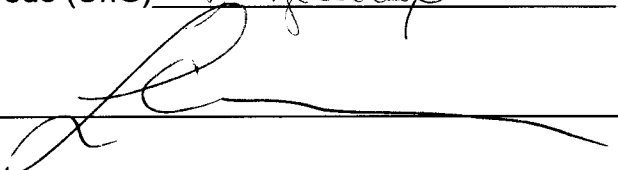
Bibliografia: f.

1. carga estática lateral. 2. implantes osseointegráveis. 3. restauração imediata. I. Título. II. Universidade Guarulhos.

CDD 22st 617.6

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, intitulada "O EFEITO DE FORÇAS ESTÁTICAS EM RESTAURAÇÕES IMEDIATAS EM CÃES: AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E RADIOGRÁFICA" em sessão pública realizada em 07 de Agosto de 2012 considerou o candidato Daniel Sanchez Ferrari aprovado.

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. Prof. Dr. Jamil Awad Shibli (UnG) _____ 
2. Prof. Dr. Elton Gonçalves Zenóbio (PUCMinas) _____ 
3. Profa. Dra. Maria Mônica Studart Mendes Moreira (UFC) _____ 
4. Profa. Dra. Luciene Cristina de Figueiredo (UnG) _____ 
5. Prof. Dr. Leandro Chambrone (UnG) _____ 

Guarulhos, 07 de Agosto de 2012.

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese aos meus pais Roberto Boschetti Ferrari e Isabela Maria Garcia Sanchez Ferrari, ao meu irmão Felipe Sanchez Ferrari e a minha avó Maria Garcia Sanchez, por todo o carinho e amor que me proporcionaram por toda a vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr Jamil Awad Shibli, que acreditou em mim e me apoiou desde a graduação ate os dias de hoje e que mais do que um orientador, se tornou parte da minha família;

Ao Prof. Dr. Jose Augusto Rodrigues, por todo empenho e dedicação para conclusão dessa tese;

A todos os professores do doutorado da UNG, que sem exceção, aceitaram dividir comigo seus conhecimentos e suas experiências;

Aos professores e funcionários da clinica veterinária da Universidade Guaruhos, que contribuíram de forma importante para essa pesquisa, em especial ao Prof. Luiz Arthur;

À Titanium Fix, pela cessão dos implantes para a realização da tese;

Ao amigo Eleuse Cardoso, pela confecção dos dispositivos protéticos;

Aos colegas de turma Adriana Mendonca, Stella Mendes, Ivan Borges, Glauca Zimerman, Fabio Chiareli, Paulo Kawakami e Tania Ribas, pelas experiências divididas;

As amigas Luciana Cardoso, Tatiana Onuma e Renata Mairink, por participarem ativamente dessa pesquisa;

A todos os funcionários do CEPPE, em especial a Cinthia Lobo, por seu comprometimento e dedicacao;

Ao CNPQ, pelo auxilio pesquisa processo 473282/2007-0;

Aos meus familiares, por todo o apoio e que colaboraram para eu me tornar a pessoa que sou hoje;

Aos meus grandes amigos Felipe Ormeni, Juan Vitor Maqueda, Julio Cesar Carmona e Renato Kehl Zima, pela ajuda nos momentos difíceis e pelos inúmeros momentos de descontração e lazer;

Aos colegas de profissão Leonardo Quadrado, Paulo Kawakami, Ulisses Tavares e Susana d'Ávila, que contribuíram para a minha formação profissional;

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito a força estática lateral em implantes restaurados imediatamente em mandíbula de cães. Em 7 cães sem raça definida, foram extraídos todos os pré-molares e os primeiros molares mandibulares bilateralmente. Dois meses após as extrações, 6 implantes (AS Technology Titanium-FIX, São José dos Campos, SP, Brasil) foram colocados em cada animal, sendo 3 de cada lado. Aleatoriamente, dois implantes de cada lado foram restaurados imediatamente com um dispositivo de expansão ortodôntico promotor da força estática lateral e o terceiro implante de cada lado permaneceu submerso. Esses dispositivos foram higienizados diariamente com digluconato de clorexidina (CHX) 0,12%, durante os 4 meses de estudo, quando os animais foram sacrificados e a biópsias removidas para o estudo histométrico. Avaliações radiográficas (Kodak, Eastman, CO, Estados Unidos da América) foram feitas através do uso de posicionadores no início e no fim do estudo. Radiograficamente, houve uma perda óssea marginal em mm de $3,68 \pm 0,74^{**}$ para o grupo teste; $1,63 \pm 0,2^*$ para o grupo controle e de $0,45 \pm 0,5$ para o grupo não carregado. Histométricamente, a porcentagem do contato osso implante (%BIC) foi de $35,52 \pm 7,32^*$, para o grupo teste; $63,16 \pm 5,16$ para o grupo controle e $42,33 \pm 2,14$ para o grupo não carregado. Conclusão: a força estática lateral influenciou negativamente o comportamento do tecido ósseo periimplantar, nos casos de ativação imediata com abertura de 6,5mm do expansor.

Palavras-chave: Carga estática lateral; Implantes osseointegráveis; Restauração Imediata

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of lateral static load in immediately restored implants in the mandible of dogs. In 7 mongrel dogs, all premolars and the first molars were extracted bilaterally in the mandible. Two months after the extractions, 6 implants (Titanium Technology AS-FIX, São José dos Campos, SP, Brazil) were placed in each animal, 3 on each side. Randomly, two implants per side were immediately restored with an orthodontic expansion device that promoted lateral static load and the third implant of each side, has remained submerged. These devices were hygienized daily with chlorhexidine (CHX) 0.12%, during the 4 months of study, when the animals were sacrificed and biopsies removed for histometric study. Radiographic evaluation (Kodak, Eastman, CO, USA) were made using positioners at the beginning and at the end of the study. Radiographically, there was a marginal bone loss of $3.68 \text{ mm} \pm 0.74$ ** for the test group, 1.63 ± 0.2 * for the control group and 0.45 ± 0.5 for the not loaded group. Histometrically, the percentage of bone implant/contact (BIC%) was 35.52 ± 7.32 *, for the test group, 63.16 ± 5.16 for the control group and 42.33 ± 2.14 for the not loaded group. Conclusion: The lateral static load negatively affected the behavior of peri-implant bone tissue in cases of immediate restoration with a 6,5mm expansion.

Keywords: Lateral Static Load; Osseointegrated Implants; Immediate Restoration

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
3. PROPOSIÇÃO.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
4.1 Desenho Experimental.....	24
4.2 Extração Dental.....	24
4.3 Desenho e Superfície dos Implantes.....	24
4.4 Colocação dos Implantes e Carga Estática Lateral.....	25
4.5 Distribuição dos Implantes no Arco e Distribuição nos Grupos.....	25
4.6 Remoção dos Implantes e Obtenção dos Cortes Histológicos.....	26
4.7 Avaliação dos Cortes Histológicos.....	26
4.8 Calibração do Avaliador.....	26
4.9 Avaliação Histométrica.....	27
4.10 Avaliação Radiográfica.....	27
5. ARTIGO.....	28
6. DISCUSSÃO.....	48
7. CONCLUSÃO.....	49
8. REFERÊNCIAS.....	50

1. Introdução

O uso de implantes osseointegráveis para a sustentação de restaurações dentárias revolucionou a clínica odontológica diária. Os resultados de tais procedimentos tem se mostrado bastante confiáveis, por meio da confirmação da osseointegração definida como o íntimo contato funcional da superfície do implante e o tecido ósseo, visto por microscopia óptica (Branemark *et al*, 1977).

A interface osso-implante, só pode ser mantida ao longo do tempo, por um dinâmico processo de modelamento e remodelamento. Esse processo adaptativo, permite que o tecido ósseo resista a variações nas condições clínicas, como a carga mastigatória (Stanford, Brand, 1999).

Para alcançar a osseointegração, a estabilidade primária e a ausência de movimentação são considerados fatores primordiais (Albrektsson *et al* 1981; Esposito *et al* 2007). Em casos em que há ausência desses fatores, uma interface entre implante e tecido fibroso pode se desenvolver, levando a falência da osseointegração (Brunski *et al* 1979).

Diante disso, é recomendado que os implantes colocados na mandíbula recebam um período de cicatrização em torno de 3 a 4 meses e os implantes colocados em maxila, recebam um período de cicatrização entre 6 e 8 meses (Branemark *et al* 1977). No entanto, desde a publicação de diversos estudos clínicos longitudinais, que demonstraram que o carregamento imediato ou precoce de implantes é possível em situações selecionadas, esse protocolo tradicional vem sendo questionado (Schinitman *et al* 1990).

Fatores como comprimento, diâmetro, desenho e superfície do implante; quantidade e tipo de densidade do osso e condições sistêmicas do hospedeiro; desenho da restauração protética e cargas oclusais, assim como a técnica cirúrgica e fatores biomecânicos, vem sendo amplamente estudados para melhorar a osseointegração e diminuir o tempo de cicatrização e acelerar o processo de confecção do elemento protético (Buser *et al* 1991; Glauser *et al* 2005).

Biomecanicamente falando, um implante só pode ser carregado imediatamente ou precocemente, se alcançar um torque de inserção de 35N/cm (Calandriello *et al*, 2003). Outros artigos utilizaram a análise de frequência de ressonância para avaliar a estabilidade primária dos implantes e verificaram que o

Quociente da Estabilidade do Implante (ISQ) deve ser acima de 60 para a instalação de carga imediata ou precoce (Corneli et al 2004; Norton 2004).

Forças oclusais afetam o tecido ósseo ao redor de implantes osseointegrados. O estresse mecânico apresenta fatores negativos e positivos, inclusive para a manutenção da osseointegração. Na maioria dos casos é comum ocorrer uma pequena perda óssea ao redor dos implantes em função após 1 ano (Branemark et al 1977; Adell et al, 1981). No entanto, uma pequena parte dos casos apresenta perda óssea mais severa (Quirynen et al, 1992^a; Isidor et al, 1997).

Estudos recentes indicam que pressões aplicadas em excesso sobre o tecido ósseo ao redor de implantes, podem provocar a perda óssea ao redor do pescoço do implante e até mesmo a total perda de osseointegração (Kitamura et al 2004; Boudras et al, 2007).

Diferentes cargas oclusais dentro da cavidade oral, baseado no tipo de dieta do paciente, posição do implante no arco dental (infra ou supra ósseo; angulado ou não) e no tipo de restauração (múltipla ou unitária), induzem a diferentes respostas do tecido periimplantar de suporte e de proteção (Kim et al, 2005; Boudras et al, 2007).

O carregamento dos implantes com os elementos protéticos, são divididos em carga imediata ou restauração imediata, quando o carregamento ocorre em até 1 semana após a colocação do implante; carga precoce, quando o carregamento ocorre em até 1 ou 2 meses da instalação e carga tardia quando o elemento dental é confeccionado após 2 meses de inserção do implante (Esposito et al 2009).

Schnitman et al, 1997, mostraram que em 10 anos, as taxas de sobrevivência de implantes carregados imediatamente em mandíbula foi de 84,7%, resultado que se aproxima dos índices alcançados em carga tardia. Outros estudos com carga imediata, mostraram um sucesso de 97,5% em implantes colocados na mandíbula para fixação de overdentures (Chiapasco et al, 1997) e 99,2% em implantes também colocados em mandíbula para fixação de overdentures ou próteses fixas (Degidi et al, 2009). Em mandíbulas parcialmente edêntulas, Corneli e colaboradores (2004) apresentaram um índice de sucesso de 96,7% em próteses unitárias.

Visto isso, estudos em modelos animais tem sido desenvolvidos para avaliar e compreender melhor a segurança, eficácia, efeitos deletérios e os mecanismos de ação dos procedimentos que envolvem as cargas oclusais e os implantes colocados

no tecido ósseo do hospedeiro (Miyata 1997,1998,2000; Heitz-Mayfield *et al*, 2004; Fagion *et al* 2010; Vandamme *et al*, 2012).

2. Revisão da Literatura

Isidor, 1997, realizou um experimento na mandíbula de 4 macacos (*Macaca Fascicularis*), onde foram extraídos os primeiros molares, pré-molares e incisivos de cada animal e após oito meses de cicatrização, foram inseridos 5 implantes (Astra, Astra Tech AB, Mölndal, Sweden). Um na região de centrais e dois de cada lado da mandíbula, sendo um implante com superfície jateada por óxido de titânio e o outro usinado. Todos os implantes na região dos incisivos eram de superfície tratada. Passados 6 meses, os implantes receberam próteses parciais fixas, em supra-oclusão, sobre os dois implantes em um dos segmentos laterais. Os implantes que serviam de apoio para as próteses, foram escovados uma vez por semana e recebiam limpeza subgengival uma vez no mês. Nos implantes sem carga, uma ligadura com fio de algodão foi feita, para induzir o acúmulo de biofilme. Após 18 meses, os macacos foram sacrificados. Todos os implantes com ligadura, permaneceram osseointegrados, mas com uma média da perda óssea marginal histológica de 2,4 mm (variando de 0,8 - 4,0 mm). Dos 6 implantes com sobrecarga oclusal disponíveis para análise histológica, dois implantes no mesmo macaco haviam perdido completamente a osseointegração e dois outros implantes, estavam apenas osseointegrados na região apical, enquanto que os outros 2 restantes, embora osseointegrados, exibiam uma perda de óssea de 1,8 - 1,9 mm. O autor concluiu, que histologicamente, a sobrecarga oclusal nos implantes pode resultar em perda total ou parcial da osseointegração. Os implantes que acumularam biofilme, da mesma forma, exibiram sinais de periimplantite, com perda do osso marginal, porém todos os implantes tinham pelo menos 47% da sua área em contato com o osso.

Gotfredsen et al, 2001, avaliaram o efeito da carga lateral estática induzida por uma força de expansão na interface osso/implante e no osso periimplantar adjacente, em três cães da raça beagle, onde foram removidos bilateralmente os 3 últimos pré-molares. Após 8 semanas, foram colocados 4 implantes (TPS) de plasma spray de titânio (Straumann Dental Implant System (Institute Straumann, Basel, Switzerland) em cada lado da mandíbula e depois de 12 semanas da inserção dos implantes, foram inseridas as coroas conectadas aos expansores ortodônticos sem contato com os dentes antagonistas. Cada dispositivo ortodôntico, apresentava uma ativação diferente, sendo 0,2mm no teste 1; 0,4 mm no teste 2; 0,6 mm no teste 3 e 0,0 mm no controle a cada 4 semanas. Todos os implantes cicatrizaram e

mantiveram-se estáveis durante o experimento, as distâncias entre os elementos não mudaram, a mucosa peri-implantar estava rosa e aparentava estar firmemente adaptada a superfície do implante. As radiografias de ambos os grupos não sofreram alterações quanto a perda óssea marginal, com a presença da força lateral estática durante o período de carga. Histologicamente o osso periimplantar possuía uma alta densidade, sem sinais de fratura, ou outro tipo de dano. Não foram observadas uma evidente perda óssea marginal entre os grupos teste e controle. A densidade óssea e a mineralização do contato osso-implante, foram maiores na região adjacente aos implantes laterais carregados, do que nas regiões sem ativação, sugerindo que a carga estática aplicada lateralmente aos implantes resultou numa adaptação estrutural do osso peri-implantar.

Gotfredsen et al., 2001 (2), compararam as reações ósseas adjacentes aos implantes de superfície de plasma spray de titânio com o usinado, durante uma carga lateral estática, através de expansores, em três cães da raça labrador, onde novamente foram removidos bilateralmente os 3 pré-molares e após 12 semanas foram colocados 2 implantes de cada tipo e após mais 12 semanas, foram inseridos nos implantes, as coroas conectadas aos expansores ortodônticos, sem nenhum tipo de toque com o dente antagonista. Todos os implantes cicatrizaram e mantiveram-se estáveis durante o experimento. Através dos exames radiográficos, os implantes usinados perderam osso, já os de plasma spray de titânio ganharam osso durante as 24 semanas de carga. A remodelação do osso periimplantar que ocorreu durante a carga lateral estática, diferiu entre os implantes com superfície de plasma spray de titânio, da usinada, onde a usinada, frequentemente apresentou um defeito ósseo angular, o que não ocorreu com a superfície de plasma spray de titânio. A quantidade de contato osso/implante e da interface osso/implante, bem como a densidade de osso periimplantar, foram menores no usinado do que nos de plasma spray de titânio. Sugeriram que a transferência de estresse ao osso é mais favorável a partir de uma superfície tratada, do que a partir de uma superfície usinada, o que pode explicar a diferença das reações do osso marginal, observadas entre os dois tipos de implantes do presente estudo.

Gotfredsen et al, 2001 (3), estudaram o efeito de uma carga lateral estática por um longo tempo, no osso peri-implantar em três cães beagle, onde foram extraídos os pré-molares inferiores e após 12 semanas, foram instalados três implantes de titânio (ITI[®] Dental Implant System), em cada quadrante. E depois de

mais 12 semanas, as coroas foram ajustadas aos implantes. As coroas anterior e central foram fundidas e ligadas a coroa posterior por um parafuso de expansão, que do lado direito da mandíbula, esses parafusos foram ativados a cada 2 semanas, durante um período de 46 semanas. Passado 10 semanas deste período, a mesma força de expansão do lado direito, foi aplicada no lado esquerdo. Todos os implantes cicatrizaram e mantiveram-se estáveis durante o experimento. Durante o período de ativação 46 semanas do lado direito, o supraconstrução fraturou uma vez em dois cães e duas vezes no mesmo cão, todas as fraturas ocorreram na junção da solda entre o parafuso de expansão e as coroas e ocorreram entre a 38 e 56 semanas, e as coroas foram trocadas. As regiões submetidas a 10 semanas ou 46 semanas de carga lateral, foram semelhantes (i) distribuição dos marcadores ósseos (ii) a proporção da densidade óssea e (iii) o grau do contato osso-implante. A proporção de fluorocromos foi superior nas regiões submetida a 10 semanas de carregamento, do que nos locais com 46 semanas de carregamento. Em conclusão, o presente estudo indicou que as reações do tecido ósseo para uma extensa força de expansão lateral, foram quase similares nos locais que receberam 10 e 46 semanas de carga.

Gotfredsen et al., 2001 (4), estudaram as reações do tecido periimplantar sobre o efeito de uma carga lateral estática nos implantes submetidos a mucosite ou periimplantite experimental, em cinco cães beagle, onde foram extraídos os pré-molares e após 12 semanas, foram instalados três implantes em cada quadrante da mandíbula, tendo superfície jateada por areia e ácido condicionada (SLA) e do outro lado superfície usinada. Os implantes foram divididos em 3 grupos: grupo MC (mucosite/carga); grupo P (periimplantite); grupo PC (periimplantite/carga). Assim, foi possível notar que, a carga lateral estática falhou na indução da perda óssea periimplantar, nos implantes com mucosite, e não aumentou a perda da óssea nos implantes com periimplantite experimental.

Nkenker et al., 2003, instalaram um total de 35 implantes, em sete mini porcos fêmeas, onde determinaram a taxa de aposição mineral óssea e a densidade do osso peri-implantar, durante a fase precoce de cicatrização dos implantes imediatamente carregados. Inicialmente removeram os três pré-molares e primeiro molar, e após um período de cicatrização de três meses, os implantes foram inseridos, onde cada mandíbula recebeu cinco implantes com superfície rugosa, autocortante e cilíndrico (XIVE, Friadent GmbH). O implante anterior permaneceu sem carga e submerso, já os quatro implantes distais receberam uma prótese fixa

provisória, que foi cimentada e ajustada para que ficasse sem o contato oclusal direto. Um dos principais fatores já mencionados contra a carga imediata, tem sido a zona necrótica em torno da superfície do implante, que pode ocorrer devido a trauma cirúrgico (Albrektsson *et al.* 1981), esta camada morta, deve ser substituída por uma nova camada óssea antes que o implante receba a carga (Sagara *et al.* 1993). Contudo, a remodelação óssea não ocorre de uma vez, em torno do implante, caso contrário, seria esperada a mobilidade durante o processo de remodelação óssea. Parece que a remodelação é variável, com atividade osteoclástica e osteoblástica equilibrada, mantendo o implante estável durante a osteointegração, parece que, na maioria dos casos, a redução do contato osso-implante pode ser compensada eficazmente pela esplintagem rígida, este tipo de fixação foi utilizado neste estudo. Outros pré requisitos para a carga imediata está na estabilidade primária, exclusão da parafunção, adequada higienização e controle de placa, e acreditam que a higiene oral é menos importante para o sucesso do implante do que se diz ser. Independentemente da razão para a falha, a mobilidade do implante não integrado que é afetada pela forças de mastigação descontrolada, pode resultar em uma maior perda óssea, quando comparado com um implante não integrado mas sem carga. Por conseguinte, os implantes carregados com mobilidade notável, deve ser imediatamente removido, para evitar a perda óssea excessiva. Carga imediata de implantes não mostrou uma diferença na taxa de aposição óssea mineral em comparação com o implante controle sem carga. O contato osso-implante e a densidade óssea peri-implantar foram semelhantes também. Estabilização através da esplintagem rígida parece ser o fator crucial para o sucesso dos implantes imediatos e carregados. Caso for perdido, a falha do implante provável ocorreu pelas forças da mastigação descontrolada. Mostraram que a taxa de aposição óssea mineral não foi diferente para os implantes com e sem carga, durante o período de acompanhamento. Parece que a carga imediata não tem efeitos adversos sobre a neo formação de óssea. O mesmo é verdadeiro para o contato osso-implante.

Heitz-Mayfield *et al.*, 2004, avaliaram o efeito da sobrecarga oclusal sobre os implantes em 6 cães. Os primeiros e segundos molares superiores, assim como todos os molares mandibulares foram extraídos. Após 3 meses de cicatrização dos alvéolos, o lado teste recebeu 4 implantes, sendo dois jateados (TPS) e dois jateados associado com banho ácido (SLA) Straumann Dental Implant System (Institute Straumann, Basel, Switzerland), totalizando 8 implantes por animal. Os

implantes ficaram submerses por 6 meses e após esse período, um lado, recebeu coroas de ouro em supra oclusão e o lado controle em infra oclusão. As próteses foram escovadas todos os dias e receberam spray de clorexedina 0,12% durante toda a duração do estudo. Aos 8 meses, todos os implantes estavam osseointegrados. A média da profundidade de sondagem foi de $2,5 \pm 0,3$ e $2,6 \pm 0,3$ mm para os implantes com e sem carga, respectivamente. Radiograficamente, a média da distância do ombro do implante ao osso marginal foi de $3,6 \pm 0,4$ mm no grupo controle e de $3,7 \pm 0,2$ mm para o grupo teste. Não foram encontradas alterações estatisticamente significantes nos parâmetros, desde o baseline até os 8 meses. A avaliação histológica demonstrou uma média da mineralização do contato osso-implante de 73% nos implantes controle e de 74% para os implantes teste, sem diferença estatisticamente significativa entre eles e concluíram que na presença de uma mucosa periimplantar saudável, após um período de 8 meses de sobrecarga oclusal, não gera a perda da osseointegração ou do osso marginal, quando comparados com os implantes sem carga.

Hsieh et al., 2007 avaliaram o movimento dos implantes de titânio puro com diferentes tipos de forças contínuas na crista alveolar edêntula de cães da raça beagle, inicialmente foram removidos os pré-molares e molares, superior e inferior. Após cicatrização de 3 meses, oito implantes (quatro pares) ITI *Straumann*, foram inseridos, e três pares de implantes com os pilares, foram carregados com três diferentes níveis de força contínua (100, 200 e 500 g), através de uma mola helicoidal com memória de Ni-Ti, por um máximo de 6 meses e dois implantes do grupo controle não receberam carga. Os implantes osseointegrados permaneceram estável e rígido, depois de 6 meses de carregamento, com uma força de tração de 100 e 200g. No entanto, quando a força atingiu 500g e 3 meses de carga, os implantes tombaram, movendo-se para dentro, a extensão de movimento aumentou quando a força aplicada completou 6 meses. Contudo, os implantes não devem ser considerados como uma ancoragem absolutamente rígida e estável em todas as circunstâncias, porém outras investigações com análise histomorfológica, são necessárias para estudar as respostas e mudanças da interface do osso/implante submetidas a uma carga ortodôntica pesada.

Kozlovsky et al 2007, avaliaram histologicamente o carregamento de implantes em mucosas saudáveis e inflamadas em 4 cães. Foram colocados 8 implantes em cada cão, sendo 4 de cada lado da mandíbula. Após 3 meses de

cicatrização, foram colocados os pilares de prótese, sendo que dois implantes de cada lado foram deixados em infra oclusão e os outros dois em supra oclusão com os dentes antagonistas. Um lado recebeu ligadura para acelerar o acúmulo de placa e os demais implantes eram escovados 3 vezes por semana com clorexidina 0,2%. As próteses em supra oclusão eram checadas constantemente e se necessário material restaurador era acrescentado nos dentes antagonistas. Após 12 meses os animais foram sacrificados e os autores verificaram que os implantes sobrecarregados apresentaram uma tendência no aumento do contato osso implante e que a ligadura induz um contato osso implante menor do que os implantes em saúde. Os valores apresentados foram de $12,68 \pm 3,11$ e $16,38 \pm 1,85$ mm para implantes sem ligadura não carregados e carregados respectivamente. Já os implantes com ligadura apresentaram menores valores para o contato osso implante sendo $9,74 \pm 1,93$ e $9,31 \pm 1,46$ para implantes com ligadura não carregados e com ligadura carregados respectivamente.

Blanco et al., 2010 colocaram um total de 24 implantes em seis cães, 12 deles foram imediatamente carregados e os outros 12 permaneceram sem carga, não submerso, todos com oito mm de diâmetro e com pescoço padrão (2,8 mm), Straumann Dental Implant System (Institute Straumann, Basel, Switzerland). Todos os implantes tinham uma superfície jateada e condicionada por ácido (SLA). Cada cão recebeu quatro implantes, sendo dois em cada hemi-mandíbula. Os implantes foram inseridos nos alvéolos de extração imediata, sem procedimentos de aumento ósseo. Após 3 meses de cicatrização, os animais foram sacrificados. Não foi perdido nenhum implante, e todas as restaurações estavam em função e os contatos oclusais permaneceram na prótese provisória, no entanto, todas as restaurações apresentaram abrasão na oclusal. No momento da cirurgia, todos os implantes apresentaram valor de quociente de estabilidade do implante (ISQ), maior que 60, em média 69,41 (variando de 62-75), e 68,33 (variando de 60-73), para o grupo imediatamente carregado e sem carga, respectivamente. Não existiu diferenças estatisticamente significativas e após 3 meses de cicatrização, os valores ISQ aumentaram em ambos os grupos. O estudo histológico mostrou que o contato osso implante (BIC%) foi maior na carga imediata (média de 82,72%, DP 9,54, variando de 61,37-93,47%) do que no grupo sem carga (média de 76,96%, DP 10,63, variando de 59,67-92,51%). A diferença contudo, não foi estatisticamente significativa. A região

óssea entre as roscas não diferiram nos grupo com carga (media de 83,45%, variando de 51,39-96,82%) e no grupo sem carga (media de 80,65%, variando de 48,95-97,02%). A área de osso peri-implantar não mostrou diferenças relevantes entre os grupos (com carga, 94,37%; sem carga, 94,81%). A osseointegracao pode ser obtida após a inserção do implante imediato sem retalho, com ou sem carga imediata . A quantidade de osseointegracao medida através da percentagem do BIC, foi semelhante em ambos os grupos, e não foi influenciada pelo protocolo de carga, podendo ser um protocolo seguro, se a estabilidade primaria obtida no momento da instalação do implante for suficiente.

Ainda nesse mesmo desenho experimental, Blanco et al., em 2011, avaliaram o efeito da carga imediata nos rebordos dos implantes inseridos nos alvéolos de extração imediata. O estudo histológico mostrou que a mucosa vestibular e lingual de cada implante em ambos os grupos, estavam cobertos por um epitélio oral queratinizado até a mucosa periimplantar marginal com uma barreira de epitélio na frente dos implantes. Apical a este epitélio, havia uma área rica em tecido conjuntivo fibroso, com as fibras em direção paralela a superfície do implante. Os resultados histometricos demonstraram que a distancia entre o ombro do implante e crista óssea não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Considerando que o pescoço do implante é 2,8 mm de comprimento, a crista óssea na parede vestibular foi de aproximadamente 0,86 mm apical a borda do SLA e 0,50 mm na parte coronal na lingual do grupo de teste. No grupo de controle, a crista óssea foi localizada a 1,3 mm apical para a borda do SLA na vestibular e ao mesmo nível que a borda do SLA na lingual. Distancia entre o ombro do implante e a região óssea mais coronal ao implante também não apresentou diferenças significativas entre os grupos. O contato osso-implante mais coronal foi localizado a 1,27 mm apical a superfície SLA e 0,30 mm na lingual. Mais uma vez, estas distancias foram semelhantes no grupo sem carga: 1,70 mm na a vestibular e 0,37 mm na lingual. Distancia vertical entre as paredes ósseas vestibular e lingual nos implantes - A media da distancia vertical entre a crista óssea vestibular e lingual foi similar em ambos os grupos. A diferença não foi estatisticamente significativa. A crista óssea vestibular estava sempre localizada apicalmente a lingual. A partir dos resultados, pode ser concluído que a inserção dos implantes imediatamente carregados nos alvéolos de extração recente, não impede a reabsorção óssea que ocorre principalmente na parede vestibular durante o processo de remodelação normal.

Zambon et al., 2012, avaliaram histologicamente o efeito da carga funcional sobre o osso regenerado e o contato osso-implante nos defeitos do tipo deiscência ao redor de implantes com superfície hidrofílica, tratados com uma combinação de enxerto ósseo e regeneração óssea guiada (ROG). Utilizaram 12 mini-porcões Gottingen, onde foram extraídos os pré-molares, os primeiros molares inferiores e o processo alveolar foi reduzido em largura. Após 3 meses, dois implantes Straumann SLActive® (Straumann AG, Basel, Suíça), foram inseridos em cada uma das hemimandíbulas, num total de 48 implantes, em 12 animais (quatro implantes/animal), foram distribuídos ao grupo controle (intacto), grupo (grupo P), e controle negativo (grupo N), ou em um dos dois grupos teste (grupo T1, T2). Doze implantes foram colocados no interior da crista óssea alveolar reduzida (grupo P), sem defeito ou tratamento no local, enquanto que em 36 implantes, foram criados defeitos de deiscência vestibular que receberam: Grupo T1: substituto ósseo sintético (Straumann Bone Ceramic®, SBC, Straumann AG). Grupo T2: SBC com uma membrana de polietileno glicol (Straumann MembraGel®, Straumann AG), Grupo N: a deiscência permaneceu sem tratamento. Os defeitos foram padronizados e criados após a preparação da osteotomia para o implante, em torno do mesmo, através da remoção de parte do osso vestibular com uma broca. Três meses após a implantação, foram colocados pilares personalizados e longos, em uma hemimandíbula cicatrizada, para obtenção da carga funcional. Após 2 meses, a análise histológica foi realizada. Houve tendência para a menor altura do defeito residual e maior contato osso-implante foi observado nos locais com carga em comparação com os sem carga nos grupos P, T1 e N. No grupo T2, foi observado o efeito oposto. Em termos de formação óssea, os locais tratados com enxerto com SBC e ROG (grupo T2) exibiu a maior área de osso regenerado, seguido por T1 e N. A reabsorção significativa das partículas do enxerto foi observado no grupo T2 e a área ocupada pelo enxerto com SBC foi significativamente maior no grupo T1 em comparação com o grupo T2 ($P < 0,05$). O presente estudo demonstrou que a regeneração óssea e osseointegração dos defeitos tipo deiscência nos implantes com superfície hidrofílica, com ou sem ROG e enxerto, pode ser alcançado, e não é afetado negativamente pela carga funcional. Quando o enxerto ósseo sintético foi utilizado sozinho, observou-se a osseointegração ao longo da superfície do implante. No entanto, a formação óssea em torno das partículas de enxerto pode ser observada na parte apical, num certo número de amostras, um volume variável de

partículas estava encapsulado por tecido mole, na parte coronária do defeito. Os autores concluíram que o processo pode ter um efeito positivo sobre o contato osso-implante nos implantes inseridos no osso intocado, ou inseridos nas regiões com deiscência e tratada por enxerto/não enxerto. O estudo indicou ainda que o curto prazo de carregamento dos implantes com uma superfície hidrofílica SLActive, inserido em defeitos do tipo deiscência, pode ter uma influencia positiva sobre a osseointegracao e membranas de polietileno glicol (PEG), mostraram propriedades oclusivas adequadas, e são eficazes para a formação óssea.

Ezaki et al., 2012, investigaram a influencia da magnitude da carga imediata sobre o osso. Oito semanas após a extração dos pré-molares superiores e inferiores, três implantes (Nobel Speedy Groovy®, 3.3 9 10 mm, Nobel Biocare, Gothenburg, Sweden), foram inseridos bilateralmente em mandíbulas de seis cães. Assim, cada animal recebeu seis implantes, com um total de 36 implantes. No momento da implantação, a área desdentada mostrou uma boa regeneração óssea. O pico do torque de inserção de todos os implantes atingiram mais de 35 N/cm, e ISQ maior que 60, sem diferença significativa entre os três grupos. O mais posterior dos três implantes, foi sem carga (UL) e foi considerado como controle. Os outros dois implantes foram carregados com uma carga lateral, utilizando um dispositivo de carga cíclica, assim a carga lateral aplicada pode ser controlada. Um dos dois implantes foi carregado imediatamente com 10 N (carga leve: ML) e o outro com 50 N (carga excessiva: EL) e receberam carga lateralmente duas vezes por semana, durante 3 semanas. Os animais foram sacrificados três semanas após a implantação. Os grupos UL e ML não tinham infecção peri-implantar e osso recém formado foi observado ao longo de uma grande área na região do pescoço do implante para a ponta e em contato direto com a superfície do implante. Em contraste, no grupo EL, osso neo formado, foi raramente observado em torno do pescoço do implante e não havia sinais de infecção. Ambos COI e DO no grupo ML foram significativamente maiores do que os dos outros grupos. COI e DO no grupo EL foram significativamente mais baixos do que os dos outros grupos. Com isso, os autores concluíram que uma carga com magnitude adequada aplicada imediatamente após a inserção do implante dental, promove osteogenese peri-implantar.

Mehl et al., 2012 avaliaram o impacto da carga vertical, que ocorre durante a remoção das restaurações cimentadas na interface osso-implante. Trinta e seis

implantes de titânio (Camlog 4,3 x 9 mm) foram colocados um mm supra-ósseo no crânio frontal de quatro miniporcos . Depois de 13 semanas os implantes foram expostos e foi medido a estabilidade do implante. Três implantes em cada miniporcos, foram verticalmente carregados com 20 ou 100 impulsos, respectivamente, com um impulso 18 Ns imitando uma remoção coroa. Três implantes foram deixados como controle, sem carga. Os animais foram sacrificados após 13 ou 18 semanas e as amostras foram colhidas e analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia por luz e fluorescência. Não ocorreu nenhuma complicação no pós-operatório ou morte dos miniporcos, todos os implantes osseointegraram e média do contato osso-implante (BIC), foi de $78 \pm 5,1\%$. Não foram encontrada diferenças estatisticamente significantes na comparação as áreas do contato osso-implante entre os grupos e dos subgrupos ($P > 0,05$). Não foi observado nenhum implante sem rachaduras devido à carga vertical através da microscopia eletrônica de varredura. A microscopia de fluorescência revelou uma atividade significativamente maior de remodelação óssea nos grupos carregados verticalmente. E concluíram que a remoção das restaurações cimentadas sobre os implantes, não parece ter um impacto mecânico sobre a estabilidade do implante, mas parece aumentar a atividade de remodelação óssea e deve-se tomar cuidado na presença de peri-implantite avançada, pois a carga vertical pode resultar na perda dos implantes.

3. Proposição

Esse estudo longitudinal, boca dividida, controlado, randomizado, avaliou histologicamente e radiograficamente, a ação da força estática lateral em implantes restaurados imediatamente em mandíbula de cães.

4. Materiais e Métodos

Sete cães machos sem raça definida, com médias de idade de 2 anos e de peso de 18 kg, foram incluídos nesse estudo. A seleção dos animais, o tratamento e o protocolo cirúrgico seguiram os padrões aprovados pelo Instituto de Cuidados de Animais do Curso de Medicina Veterinária.

Todos os procedimentos clínicos e cirúrgicos, assim como as restaurações protéticas foram realizadas sob anestesia geral.

4.1 Desenho Experimental

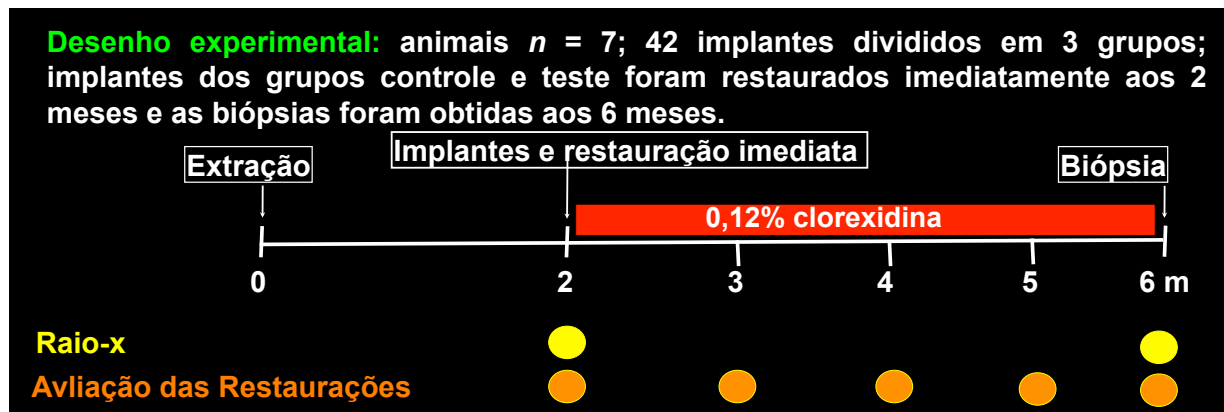


Fig.1 Desenho Experimental do Estudo

4.2 Extração Dental

Uma área edêntula foi criada através da extração de todos os pré-molares mandibulares e dos primeiros molares. Os alvéolos permaneceram cicatrizando por 2 meses e após esse período os implantes foram instalados e as restaurações confeccionadas. Os pré-molares superiores também foram extraídos para prevenir a sobrecarga oclusal durante o período do estudo.

4.3 Desenho e Superfície dos Implantes

Quarenta e dois implantes HE, cilíndricos de 3,75 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento, feitos de titânio Grau-4 (AS Technology Titanium-FIX, São José

dos Campos, SP, Brasil) foram utilizados. Os implantes tinham a superfície jateada com oxido de alumínio (Al_3O_2) e tratadas com um banho de ácido nítrico (HNO_3).

4.4 Colocação dos Implantes e Carga Estática Lateral

Os implantes foram colocados de acordo com as especificações do fabricante. Todas as cirúrgias foram realizadas por um unico cirurgião treinado. A posição dos implantes foi definida por um guia. Os implantes foram colocados em nível ósseo e após a coaptação dos bordos, foi realizado um index do posicionamento dos implantes. As coifas plasticas do tipo UCLA eram previamente fundidas no laboratorio e imediatamente após o termino da cirurgia, foram aparafusadas sobre a plataforma do implante. As coifas fundidas eram unidas por fio dental e recobertas com resina (Resina Pattern, GC, IL, Estados Unidos da América).

Após a polimerização, o index era removido e aparafusado sobre os analogos dos implantes e posicionados sobre gesso pedra. A partir desse momento, dispositivos ortodonticos para expansão de maxilla, foram adaptados e fundidos a essas coifas para simular a carga estática lateral. Após as peças serem polidas, foram aparafusadas sobre os implantes.

4.5 Distribuição dos Implantes no Arco e Distribuição dos Grupos

Foram inseridos 3 implantes de cada lado da mandibula. Aleatoriamente, com utilização de uma moeda, os implantes foram divididos em 3 grupos:

Grupo Controle: dois implantes unidos pelo dispositivo ortodôntico sem carga estar ativado;

Grupo Teste: dois implantes unidos pelo dispositivo ortodôntico com carga total de 6,5 mm, do lado oposto ao grupo controle;

Grupo Não Carregado: um implante de cada lado da mandibula, que ficou submerso durante todo o periodo da pesquisa.

Ambos os grupos teste e controle, receberam escovação com clorexidina líquida 0,12% uma vez ao dia, durante todo o periodo do estudo. Os dispositivos ortodonticos eram avaliadas constantemente e reparados se fosse necessário.

4.6 Remoção dos Implantes e Obtenção dos Cortes Histológicos

Após 4 meses os animais foram sacrificados e as biópsias removidas com um disco diamantado. As amostras foram imediatamente fixadas através de uma imersão em buffer de formalina 10%. As biópsias foram processadas e foram obtidas secções finas do bloco osso/implante (Precise 1 Automated System, Assing, Roma, Itália), como descrito por Piatelli e colaboradores em 1997. Foram ainda desidratadas por uma série de banhos ascendentes com álcool e embebidas em uma resina de glicol-metacrilato em concentrações ascendentes (Technovit 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Alemanha). Após a polimerização, as amostras foram seccionadas longitudinalmente no sentido do longo eixo dos implantes, com um disco diamantado, obtendo-se uma secção espessa de aproximadamente 150 μm . Através de uma politriz de água, essas secções foram afinadas até 30 μm . De 1 a 2 cortes histológicos foram obtidos de cada implante. Os cortes foram corados com fucsina básica e azul de toluidina. Os cortes foram avaliados através de um microscópio de luz.

4.7 Avaliação dos Cortes Histológicos

O % BIC foi mensurado ao redor de todo o perímetro do implante e calculado pelo contato direto entre osso e o implante, multiplicado por 100 e dividido pelo perímetro total do implante. As avaliações foram feitas através de um microscópio de luz, conectado a uma vídeo-câmera de alta resolução e interligada a um monitor e computador pessoal. (Image-Pro Plus® 4.5, Media Cybernetics Inc., Immagini & Computer Snc, Milão, Itália). Um examinador calibrado (JAS) avaliou os parâmetros histométricos.

4.8 Calibração do Avaliador

Um total de 10 lâminas foram utilizados para o exercício de calibração. Os cortes foram avaliados 2 vezes, com um intervalo de 1 semana entre as avaliações. O teste T-pareado não mostrou diferenças significantes ($p > 0,05$) na reprodutibilidade intra-examinador. Os erros médios padrão para análise histométrica foram de 4%.

4.9 Avaliação Histométrica

As médias e desvio padrão das variáveis histométricas foram calculadas para cada implante e depois para cada grupo. Os dados foram examinados primeiro para normalidade, com o teste de Kolgomorov-Smirnov e caso os dados não apresentassem normalidade, a análise era feita usando testes não paramétricos.

4.10 Avaliação Radiográfica

Os exames radiográficos foram realizados por meio de filmes do tipo Ektaspeed (Kodak, Eastman, CO, Estados Unidos da América) utilizando-se a técnica do paralelismo no início do estudo, quando os implantes foram colocados e a'pos 4 meses ao final do estudo. As radiografias obtidas foram processadas pelo método tempo-temperatura e logo após digitalizadas por meio de câmera digital (Canon EOS 300D, Tokyo, Japão). Em seguida, foram realizadas as mensurações da distância entre o conector protético e a crista óssea alveolar periimplantar, utilizando-se o software *Image Tool 3.0* (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Estas mensurações foram realizadas por um único examinador (JAS) previamente treinado e calibrado.

5. Artigo

Effect of lateral static overload on immediately restored implants: Histologic and radiographic evaluation in dogs

Daniel S. Ferrari¹, Adriano Piattelli², Roberto B. Ferrari¹, Giovanna Iezzi², Marcelo Favari¹, José A. Rodrigues¹, Jamil A. Shibli¹.

¹Department of Periodontology and Oral Implantology, Dental research Division, University of Guarulhos, Guarulhos, SP, Brazil

²Department of Oral Medicine and Pathology, University of Chieti-Pescara, Chieti, Italy.

Corresponding author:

Prof. Jamil Awad Shibli

University of Guarulhos (UnG)

Praça Tereza Crsitina, 01 – Centro

07023-070 Guarulhos, SP – Brazil

email: jashibli@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of lateral static overload in immediately restored implants in the mandible of dogs. In 7 mongrel dogs, all premolars and the first molars were extracted bilaterally in the mandible. Two months after the extractions, 6 implants with sandblasted acid-etched surfaces were placed in each animal, 3 on each side. Randomly, two implants per side were immediately restored with an orthodontic expansion device that promoted lateral static load and the third implant of each side, has remained submerged. These devices were cleaned daily with chlorhexidine 0.12%, during the 4 months of study, when the animals were sacrificed and biopsies removed for histometric study. Intra-oral periapicals were made using positioners at the beginning and at the end of the study. Radiographically, there was a marginal bone loss of 3.68 ± 0.74 mm for the test group, 1.63 ± 0.2 mm for the control group and 0.45 ± 0.5 mm for the unloaded group. Histometrically, the percentage of bone implant/contact (BIC%) was $35.52 \pm 7.32\%$, for the test group, $63.16 \pm 5.16\%$ for the control group and $42.33 \pm 2.14\%$ for the unloaded group. In conclusion, the excessive lateral static load negatively affected the behavior of peri-implant bone around immediate restored implants.

Keywords: Lateral Static Load; Osseointegrated Implants; Immediate Restoration

INTRODUCTION

Immediately restored implants have been shown to be a reliable treatment alternative for the replacement of missing teeth (Atieh et al. 2010). The high predictability of this technique is due to the development of new macro- and microstructures (Shibli et al. 2010, Coelho et al. 2009) as well as surgical technique. However, the losses of these implant-supported restorations may compromise rehabilitation treatment. These losses or failures can be classified into early and late. Early losses are more related to systemic and local factors of the subject (Quirynen et al. 2002, Alsaadi et al. 2008) while late losses are related to bacterial infection (Shibli et al. 2008) and occlusal overload (Esposito et al. 1998) or both.

Some previous studies (Isidor, 1997; Gotfredsen et al. 2001a, 2001b; 2001c; Heitz-Mayfield et al. 2004) have evaluated the effects of both occlusal and lateral excessive loading on peri-implant bone tissue. Although those studies presented controversial results, clinical evidences have shown that overloading may cause bone loss (Oh et al. 2002; Misch et al. 2005).

The effects of prosthetic components misfitting or static lateral loading on immediate loading protocols are currently under research. A recent meta-analysis (Esposito et al. 2009) have concluded that is unclear the effects and benefits of loading force on implant-supported restorations. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of lateral static load in immediately restored implants in the canine mandibles.

MATERIALS AND METHODS

Animals and anesthesia

The outline of the experiment is presented in **Figure 1**. Briefly, seven healthy male mongrel dogs, with an average age of 2 years and an average weight of 18 kg, were used in the study. Animal selection, management, and surgical protocol followed routines approved for this study by the Institutional Animal Care of University of Guarulhos. All surgical and clinical procedures, as well as prosthetic rehabilitation, were performed under general anesthesia accomplished with 0.05mg/kg of subcutaneous preanesthesia sedation, intravenous injection of chlorpromazine, and thiopental.

Teeth extraction

An edentulous ridge was created by the extraction of all mandibular premolars and first molars. The alveoli were allowed to heal for a period of 2 months. The upper premolars were also extracted to prevent occlusion trauma interference during the healing period around immediately restored implants. During the healing period, bacterial biofilm control was performed by scrubbing with 0.12% chlorhexidine daily, in addition to scaling and root planning once a month, until implants were placed.

Implant design, surface, and surgery

Forty-two screw-shaped dental implants, 3.75mm in diameter and 10mm long, made of grade-4 titanium (AS Technology Titanium-FIX, São José dos Campos, SP, Brazil) with sandblasted acid-etched surface were blasted with 100 μm Al_3O_2 particles. After sandblasting, the specimens were ultrasonically cleaned with an alkaline solution, washed in distilled water and pickled with HNO_3 (**Figure 2**). The

measured parameters, such as the arithmetic average of all profile point absolute values (Ra), the root-mean-square of all point values (Rq), and the average absolute height values of the five highest peaks and the depths of the five deepest valleys (Rz) were $0.74 \pm 0.07 \mu\text{m}$, $0.95 \pm 0.06 \mu\text{m}$ and $3.08 \pm 0.94 \mu\text{m}$ respectively.

Dental implants were placed after full thickness flap surgery under aseptic conditions. The recipient sites were prepared according to the surgical techniques indicated by implant manufacturer. After healing abutment connection, the flaps were sutured with single interrupted sutures. Potassic and sodic benzilpenicilin was given once a week for 2 weeks, in order to prevent postsurgical infection, pain was controlled with paracetamol, and the sutures were removed after 10 days.

Experimental design

A total of 42 dental implants were randomly distributed among the dogs as follow: *Test group* ($n = 14$ implants – 7 pairs/restorations) – crowns connected to a 6.5 mm opened expansion screw; *Control group* ($n = 14$ implants – 7 pairs/restorations) - crowns connected to a expansion screw without activation, and unloaded group ($n = 14$ implants) – implants that were left submerged.

Restorative procedures and radiographic examination

Immediately following implant surgery, the impression posts were tightened directly into the implants. An auto-polymerizing pattern resin was used to connect the impression posts to each other. Laboratory implant analogs were attached to the impression posts and a master cast was fabricated.

Pre-fabricated implant components of titanium (UCLA abutment, Titanium-Fix) were connected in pairs with a soldered appliance containing an expansion screw

(Orthodontic Expansion Screw - Mini - Expansion 6.5mm Morelli Ortodontia, Jundia, SP, Brazil) – **Figure 3**. All expansion screws (test and control groups) were placed at a distance of 15 mm between implants and fitted to the implants. Passive fit was obtained and verified using the one-screw test and visual observation. These restorations were delivered within 2 hours. The test group was only opened after carefully radiographic verification of the passive fit.

The restoration was placed over the implants. Screws were tightened according the manufacturer's instructions. The restorations reached no contact with their antagonist edentulous maxilla, avoiding occlusal interference. The screw access was then covered with light-cured provisional resin.

At the time of implant supported restoration delivery, periapical radiography was made to check implant position and the coupling between prosthetic components (**Figure 4**). In addition, during the experimental period, once a month, all restorations were checked to replace the loosing abutment screws and loss of the implants (**Figure 1**). If the implant-restoration presented mobility or loosening abutment-screw, the orthodontic device was closed, tightened into the implants, the abutment screws were checked and then, in test groups, the expansion screws opened again.

Standardized intra-oral periapical radiographs were obtained using a dental X-ray machine equipped with a 35-cm-long cone. Exposure parameters were 70 kV (peak), 15mA and 1/4 s at a focus-to-sensor distance of 30 cm. The radiographs were captured with a digital camera and transferred to a personal computer. Image processing software was used to store the digitized images. Subsequently, the images were displayed on a monitor and linear measurements were taken with software (Image J 1.4o/java 1.6.0_07 software - Wayne Rasband National Institutes of Health, USA <http://rsb.info.nih.gov/ij>). The linear distance in millimeters between

the implant shoulder and the first clear bone-to-implant contact, mesially and distally, were recorded. The mesial and distal surface values were averaged. A blinded trained examiner (DSF) performed all radiographic analysis twice.

Four months after treatment, the animals were sacrificed by induction of deep anesthesia followed by intravenous sodium pentobarbital euthanasia.

Histological procedures

The mandibles were removed and block biopsies were dissected fixed by immediate immersion at 10% buffered formalin and processed (Precise 1 Automated System: Assing, Rome, Italy) to obtain thin ground sections (Piattelli et al. 1992). The specimens were dehydrated in an ascending series of alcohol rinses and embedded in a glycolmethacrylate resin (Precise 1 Automated System: Assing, Rome, Italy). After polymerization, the specimens were sectioned longitudinally along the major axis of the implants with a high-precision diamond disc at about 150 μm and ground down to about 30 μm . One to two slides were obtained for each block. The slides were stained with basic fuchsin and toluidine blue. The slides were observed under a light microscope. BIC% was defined as the amount of mineralized bone in direct contact with the implant surface. The measurements were made throughout the entire extent of the implant. These evaluations were performed using a light microscope connected to a high-resolution video camera and interfaced to a monitor and personal computer. This optical system was associated with a digitizing pad and a histometry software package with image-capture functionalities (Image-Pro Plus® 4.5, Media Cybernetics Inc., Immagini & Computer Snc, Milan, Italy). A single calibrated examiner (JAS) performed the histometric parameters. A total of ten ground sections (5 of control and 5 of unloaded group) were used for the calibration exercise. The sections were

analyzed twice with a 1-week interval between measurements. Paired *t*-test statistics showed no significant differences ($p>0.05$) in intra-examiner reproducibility. The standard error of the mean differences of histometric analysis was 4%.

Statistical analysis

The Mean and standard deviation of histometric variables were calculated for each implant, then for each group. Data were first examined for normality by the Kolmogorov-Smirnov test (data not shown); as the data did not achieve normality, analysis was performed using non-parametric method. Kruskal Wallis test was used to compare the differences between groups and Dunn Post-hoc test was performed. The significance test was 2-tailed and conducted at a 0.05 level of significance.

RESULTS

Clinical observations

During all the period, all implant-supported restorations from the test group loose the abutment screws and were tightened at least once. None restoration of the control group, although checked monthly, needed of re-tighten. At the end of the study, five implants from test group were lost in 3 dogs. All the other implants were included in the evaluation. The dental implants from control and unloaded group successfully integrated to the bone and survived during the 4 months period evaluation.

Histological examinations and measurements

The peri-implant soft and hard tissues from all treatment groups generally appeared healthy, with the junctional epithelium extending a short distance apical to the implant shoulder in the control group. The connective tissue seemed to be

compromised primarily by dense collagenous fibers, which ran apically to implant surface in test group. The bone was mostly trabecular, and numerous osteocytes were presented in their lacunae, while the newly formed bone exhibited different stages of maturation and remodeling, mainly in the loaded groups. Evident differences were observed among the groups. The test group had a peri-implant bone loss and signs of enhanced soft tissue turnover at the implant neck. Bone-to-implant contacts were observed in a few areas of the implant. On the other hand, lost implant was immersed in a dense connective tissue with signs of chronic inflammation (**Figure 5**).

In the control group, all the implants were surrounded by peri-implant bone tissue in a varied degree. The thickness of the cortical layer increased adjacent to some implants, including some ground sections from remaining test group (**Figure 6**). In the unloaded group, no bone loss was observed and in some specimens bone was presented over the cover screw (**Figure 7**).

Bone-to-implant contact (BIC%) was presented in Table 1. The test group presented a BIC mean of 35.52% while the control and unloaded group presented higher means ($p < 0.0001$). Although the BIC% values of the control group (63.16 ± 5.16) were higher than unloaded group (42.33 ± 2.14), this difference was not significant ($p > 0.05$).

Radiographic evaluation

The radiographic evaluation presented an extended bone loss in the test group. Table 2 demonstrates the means of all groups. The linear distance (mm) between the implant shoulder and the first clear bone-to-implant contact were lower for unloaded and control groups ($p < 0.0001$). The bone loss of the test group was almost three

times higher when compared with control group.

DISCUSSION

The present study demonstrated that excessive lateral static load, i.e., static lateral overload, jeopardizes the bone healing around immediately restored implant. Relationship between implant failure and load conditions has been evaluated. An earlier experimental study conducted in monkeys (Isidor, 1994) shown that excessive occlusal contact resulted in a loss of five of eight placed implants. In addition, similar results were presented in a series of experimental studies also conducted in monkeys (Miyata et al. 1997, 1998, 2000). These studies concluded that occlusal overloading affects negatively the peri-implant bone tissues. Conversely, other study using dog model (Heitz-Mayfield et al. 2004) showed no histological and clinical differences between excessive overloaded and unloaded implant supported restorations. These different results obtained by the aforementioned studies could be attributed by different strategies to create the excessive load conditions.

The dissipation of the occlusal force could cause two distinct effects: 1) increase on bone density when there are controlled force or 2) peri-implant bone loss resulting in loss of osseointegration with overloading. However, the definition of occlusal overloading is still unclear. Several authors have discussed the mechanical behavior, stress, strain, and viscoelasticity of peri-implant bone under different load conditions (Lynch et al. 2012; Naert et al. 2012; Vandamme et al. 2012) trying to solve these questions. Clearly, the 5 dental implants losses in the test group presented in our study were resulted by the excessive lateral loading condition, which in the same time is a limitation of the model, as the spanion screws were totally opened. The model used in our study was very similar of Gotfredesen et al. (2001a),

however the authors evaluated several degrees of lateral force on non-submerged healed implants. We must point out that the present study evaluated the lateral static overloading on immediately restore implants, simulating a misfit of prosthetic abutments and not a direct occlusal overloading.

The mechanical performance of peri-implant bone that governs alveolar function is complex. The bone tissue properties are strongly shaped by the load conditions, mainly during growing and development (Lynch et al. 2012). The last condition was focused in our study. The implants were immediately restore and lateral forces were applied in varied degrees: in lower or incipient force in control group, in excessive forces for test group, and finally no force (unloaded group). Loading during peri-implant bone healing does not lead to fibrous encapsulation of dental implants as previously observed (Vandamme et al. 2012). The loading conditions possessing an osteogenic effect on peri-implant bone healing and may be also be enhanced by implant surface topography. This aspect could, in part, explain the tendency of the BIC% means observed in control group be higher than unloaded group. During the peri-implant bone repair, woven bone formation and collagen fiber orientation are responsible for the bone matrix organization. The long-term survival of the implant-supported restorations is more dependent on the ability of bone tissue to function effectively under the occlusal loads than to the simply quantity of the peri-implant tissue (Traini et al. 2009). Complementary, the mechanical properties of the bone and its spatial arrangement are considered to be very important factors.

An adaptive remodeling process of the peri-implant bone was observed in control group in agreement with earlier studies (Gotfredesen et al. 2001a; Berglundh et al. 2005; Heitz-Mayfield et al. 2004), despite extensive bone loss in test group. The expansion screw was totally opened, creating an excessive lateral force during all

study period. The restoration were checked once a month and re-tightened and this clinical situation could also enhance the peri-implant bone loss as previously demonstrated (Puterman et al. 2012; Jemt et al. 2000). In addition, the use of external hexagon in the present model has a detrimental effect on loading transfer as demonstrated before in clinical (Pozzi et al. 2012) and finite element analysis (Freitas-Junior et al. 2012) studies.

Finally, the radiographic analysis followed the histological results, demonstrating the peri-implant bone loss around test groups and the formation of biological width around controlled loaded implants presenting a peri-implant bone remodeling mean of 1.63mm, in agreement with previous study (Hermann et al. 2001).

In conclusion, within the limits of our study the excessive lateral static load negatively affected the behavior of peri-implant bone around immediate restored implants.

REFERENCES

- Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(7):670-6
- Atieh MA, Payne AG, Duncan WJ, de Silva RK, Cullinan MP Immediate placement or immediate restoration/loading of single implants for molar tooth replacement: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2010 Mar-Apr;25(2):401-15.

Berglundh T, Abrahamsson I, Lindhe J. Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2005 Sep;32(9):925-32

Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, Suzuki M, Silva NR, Cardaropoli G, Thompson VP, Lemons JE. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Feb;88(2):579-96

Duyck J, Vrielinck L, Lambrichts I, Abe Y, Schepers S, Politis C, Naert I. Biologic response of immediately versus delayed loaded implants supporting ill-fitting prostheses: an animal study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005;7(3):150-8

Esposito M, Grusovin MG, Achille H, Coulthard P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: different times for loading dental implants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jan 21;(1):CD003878.

Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci*. 1998;106(3):721-64

Freitas-Júnior AC, Rocha EP, Bonfante EA et al. Biomechanical evaluation of internal and external hexagon platform switched implant-abutment connections: An in vitro laboratory and three-dimensional finite element analysis. *Dent Mater*. 2012;28(10):e218-28.

Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load. A study in the dog (I). *Clin Oral Implants Res*. 2001a;12(1):1-8

Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. A study in the dog (II). *Clin Oral Implants Res*. 2001b;12(3):196-201

Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load of different duration. A study in the dog (III). *Clin Oral Implants Res.* 2001c ;12(6):552-8

Heitz-Mayfield LJ, Schmid B, Weigel C. et al. Does excessive occlusal load affect osseointegration? An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):259-68

Hermann JS, Schoolfield JD, Nummikoski PV, Buser D, Schenk RK, Cochran DL. Crestal bone changes around titanium implants: a methodologic study comparing linear radiographic with histometric measurements. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16(4):475-85.

Isidor F. Loss of osseointegration caused by occlusal load of oral implants. A clinical and radiographic study in monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(2):143-52

Lynch ME, van der Meulen MCH. Mechanical properties of bone tissue. In: Çehreli M. *Biomechanics of dental implants. Handbook for researchers.* Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. p. 1-20, 2012.

Misch CE, Suzuki JB, Misch-Dietsh FM, Bidez MW. A positive correlation between occlusal trauma and peri-implant bone loss: literature support. *Implant Dent.* 2005;14(2):108-16.

Miyata T, Kobayashi Y, Araki H, Motomura Y, Shin K The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue: a histologic study in monkeys. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998;13(5):677-83

Miyata T, Kobayashi Y, Araki H, Ohto T, Shin K. The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue. Part 3: A histologic study in monkeys. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(3):425-31

Miyata T, Kobayashi Y, Araki H, Ohto T, Shin K. The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue. part 4: a histologic study in monkeys. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002;17(3):384-90

Oh TJ, Yoon J, Misch CE, Wang HL. The causes of early implant bone loss: myth or science? *J Periodontol*. 2002;73(3):322-33

Pozzi A, Agliardi E, Tallarico M, Barlattani A. Clinical and Radiological Outcomes of Two Implants with Different Prosthetic Interfaces and Neck Configurations: Randomized, Controlled, Split-Mouth Clinical Trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012 Jun 1. doi: 10.1111/j.1708-8208.2012.00465.x

Puterman I, Kan JY, Rungcharassaeng K, Oyama K, Morimoto T, Lozada J. Biological adaptation to misfits of immediately loaded fixed prostheses following computer-guided surgery. *J Prosthodont*. 2012;21(3):185-90

Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Implants Res*. 2002;13(1):1-19

Shibli JA, Mangano C, D'avila S, et al. Influence of direct laser fabrication implant topography on type IV bone: a histomorphometric study in humans. *J Biomed Mater Res A*. 2010;93(2):607-14

Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(10):975-82

Traini T, Degidi M, Strocchi R, Caputi S, Piattelli A. Collagen fiber orientation near dental implants in human bone: do their organization reflect differences in loading? *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;74(1):538-46.

Vandamme K, Naert I, Duyck J. Animal experimental findings on the effect of mechanical load on peri-implant tissue differentiation and adaptation. In: Çehreli M.

Biomechanics of dental implants. Handbook for researchers. Nova Science Publishers, Inc. New York, USA. P. 97-126, 2012.

Table 1. Mean and standard deviation (range) of bone-to-implant contact (BIC%) around implants from control, test and unloaded groups - Animals ($n= 7$ dogs).
Kruskal-Wallis test ($*p<0.0001$) – Dunn post-hoc test $p<0.05$ Control=Unloaded > Test

Groups	Mean \pm SD	Range	95% CI
Control	63.16 \pm 5.16	53.46 – 70.98	60.20 – 66.16
Test	35.52 \pm 7.32*	23.46 – 44.80	29.88 – 41.15
Unloaded	42.33 \pm 2.14	39.11 – 46.40	41.09 – 43.57

Table 2. Mean and standard deviation (range) of peri-implant bone loss (mm) around implants from control, test and unloaded groups. around implants from control, test and unloaded groups - Animals ($n= 7$ dogs). Kruskal-Wallis test ($*p<0.0001$) – Dunn post-hoc test $p<0.05$ Unloaded>Control > Test

Groups*	Mean \pm SD	Range	95% CI
Control	1.63 \pm 0.20	1.30 – 1.90	1.51 – 1.75
Test	3.68 \pm 0.74	2.81 – 5.12	3.11 – 4.26
Unloaded	0.45 \pm 0.50	0 – 1,14	0.15 – 0.74

Figure legends

Figure 1. Outline of the experiment. Animals $n = 7$; dental implants $n = 42$. The implants were immediately restored at month 2 and biopsies taken at month 4.

Figure 2. Design of the external hexagon implant and surface topography used in the study: **a)** schematic view of the implant; **b)** scanning electron microscopy (SEM) of the implant surface topography at x2000, and **c)** atomic force microscopy (AFM) of the sandblasted acid etched surface.

Figure 3. Clinical view of the implant supported restoration in a test group: abutment connect in pairs with a spanner orthodontic screw and unloaded implant (arrow).

Figure 4. Intra-oral periapical showing the adaptation of the prosthetic abutment at delivery.

Figure 5. Ground section of the implants from test group depicted in **a)** the radiography. Note that the lost implant presented in a close view in a green frame (**b)** was immersed in a dense connective tissue and was kept in position by the orthodontic spanner screw. By the other hand, (**c)** the remaining implant presented in a close view in **a)** presents an extensive bone loss and apical extension of the junctional epithelium (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original x25 magnification).

Figure 6. a) Histologic view of the implant from test group with increased thickness of the cortical layer adjacent to implant body (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original x25 magnification); **b)** close view of the lateral frame demonstrated in **a)** (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original x100 magnification)

Figure 7. a) Some ground sections of the unloaded group presented bone formation

over the cover screw (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original x25 magnification); **b)** higher power view of the frame presented in **a)** (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original x100 magnification)

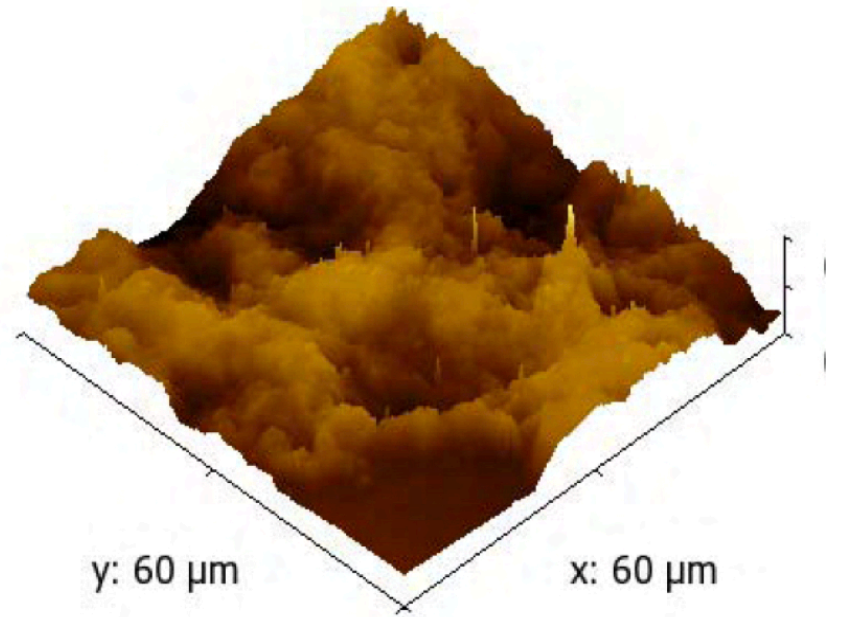
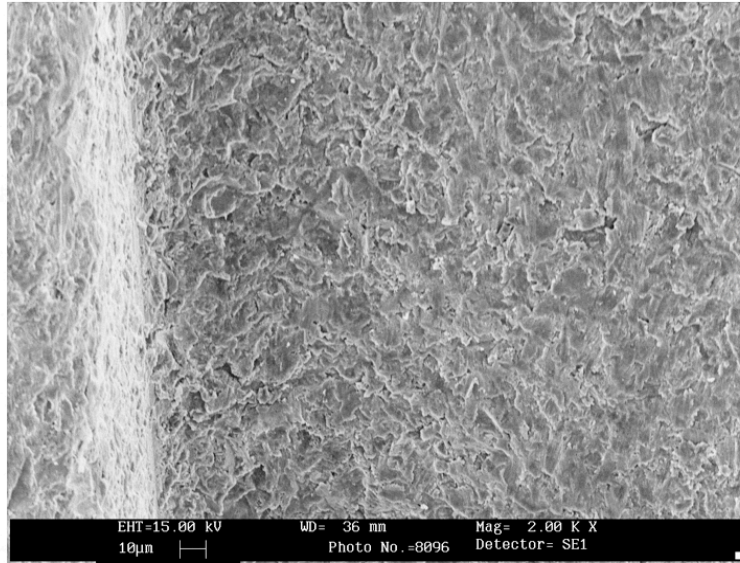


Figure 2



Figure 3

Figure 4

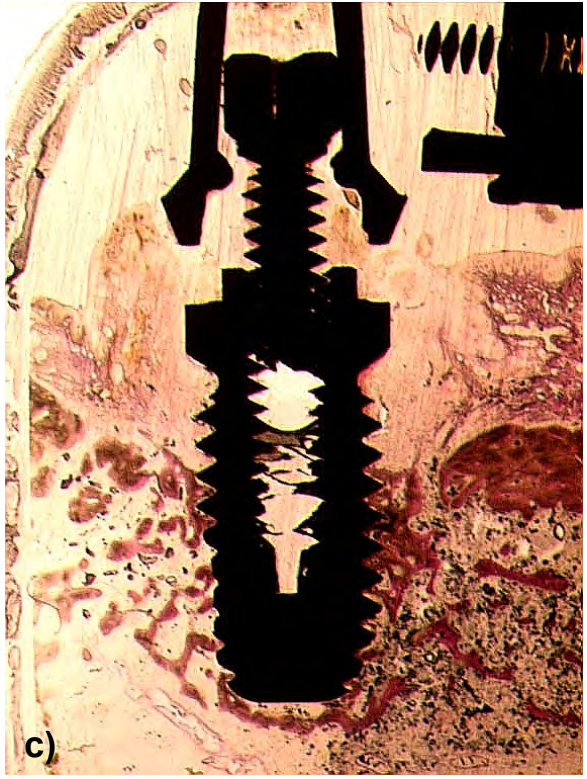


Figure 5

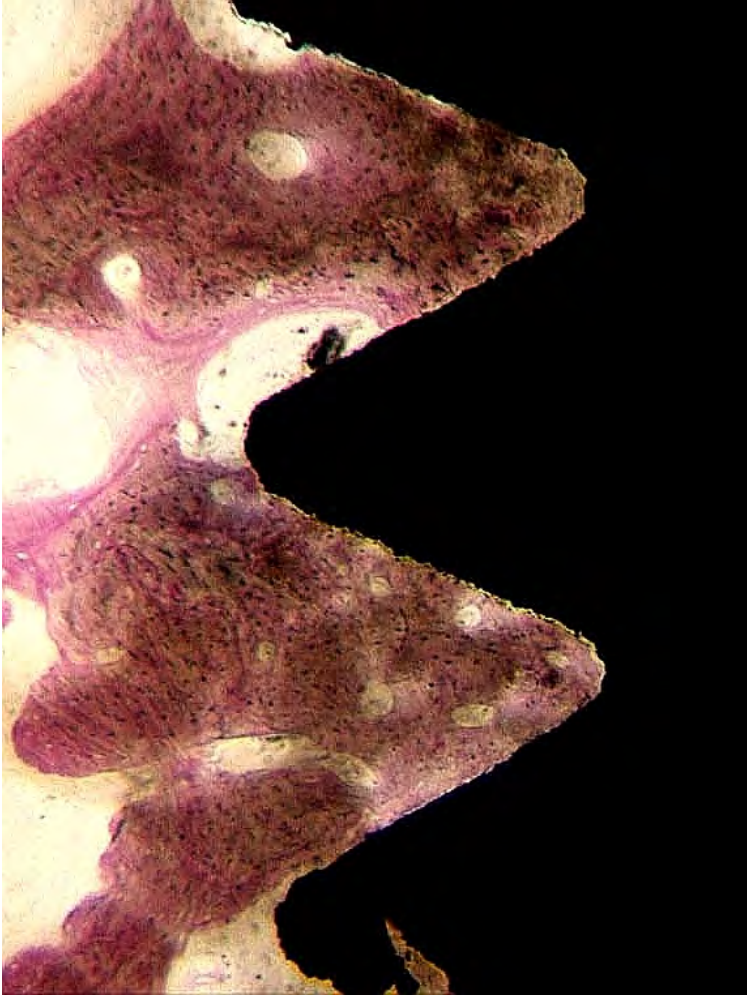


Figure 6

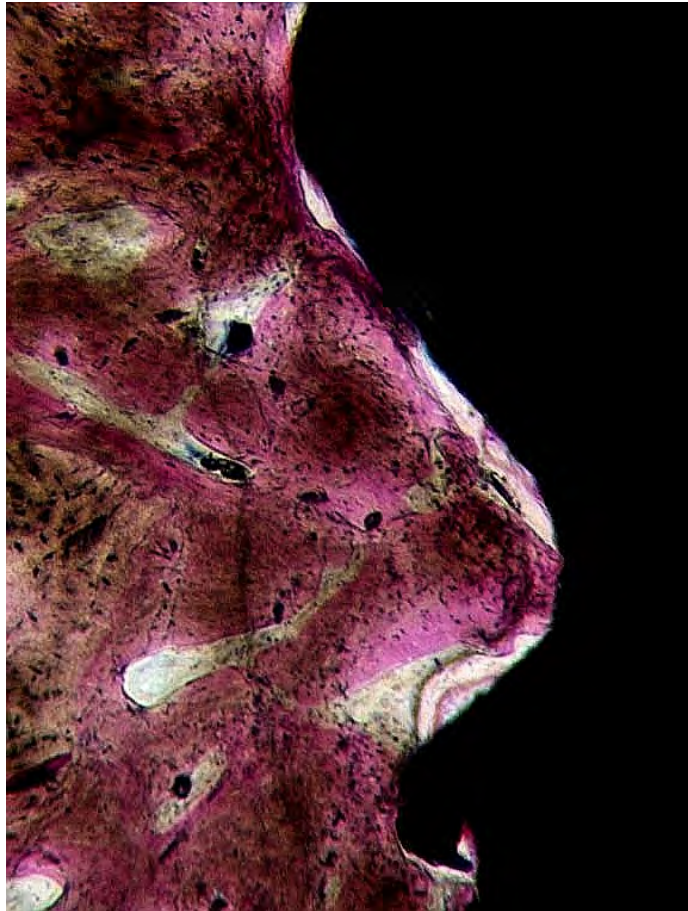


Figure 7

6. Discussão

Diversos estudos em modelos animais foram desenvolvidos ao longo dos anos para avaliar forças laterais e sobrecarga oclusal. (Isidor 1997; Gotfredssen et al 2001; Heitz-Mayfield et al 2004). Devido as diversas variáveis e limitações dos estudos, os resultados são controversos e difíceis de comparar. (Chambrone et al, 2010). Após a revisão de literatura, pudemos confirmar que muitos autores concluíram que a presença de biofilme associado a sobrecarga oclusal, pode causar perda óssea marginal. (Kozlovsky et al 2007). Porém a sobrecarga oclusal trabalhando isoladamente, não foi capaz de produzir perda óssea. (Gotfredssen et al 2001; Heitz-Mayfield et al 2004; Blanco et al, 2010)

No presente estudo, o grupo teste apresentou perda óssea radiograficamente, estatisticamente maior que no grupo controle e que no grupo não carregado. ($1,63 \pm 0,2$; $3,68 \pm 0,74$ e $0,45 \pm 0,50$ respectivamente. Histologicamente, os grupos controle e não carregado não apresentaram diferenças estatísticas, porém o grupo teste apresentou %BIC inferior aos demais grupos. ($63,18 \pm 5,16$; $42,33 \pm 2,14$ e $35,52 \pm 7,32$, respectivamente). Os resultados para os grupos controle e não carregado, condizem com os resultados obtidos por outros autores, porém os resultados para o grupo teste não condizem com os resultados obtidos pela maioria dos autores.

Tal resultado, pode ser explicado pelo fato de que a maior parte dos estudos esperaram um período de cicatrização mínimo de 3 meses para ativação dos implantes e confecção das restaurações. No presente estudo, as restaurações foram confeccionadas imediatamente após a instalação dos implantes e a ativação dos dispositivos ortodônticos foi de 6,5mm, o que é uma força excessiva se comparada com outros estudos. O número pequeno de animais, também é um fator a ser considerado na avaliação dos resultados.

Novos estudos devem ser realizados, para o melhor entendimento do papel das forças estáticas laterais em implantes restaurados imediatamente.

7. Conclusão

A força estática lateral influenciou negativamente o comportamento do tecido ósseo periimplantar, nos casos de ativação imediata com abertura de 6,5mm do expansor.

8. Referências Bibliográficas

- Berglundh T, Abrahamsson I, Lindhe J. Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *Journal Clinical Periodontology* 2005; 32: 925–932.
- Blanco J, Linares A, Villaverde G, Perez J, Munoz F: Flapless immediate implant placement with or without immediate loading. a histomorphometric study in beagle dog. *Journal Clinical Periodontology* 2010; 37: 937–942.
- Blanco J, Linares A, Perez J, Munoz F. Ridge alterations following flapless immediate implant placement with or without immediate loading. Part II: a histometric study in the Beagle dog. *Journal Clinical Periodontology* 2011; 38: 762–770.
- Buchter A, Wiechmann D, Gaertner C, Hendrik M, Vogeler M, Wiesmann HP, Piffko J, Meyer U. Load-related bone modelling at the interface of orthodontic micro-implants. *Clinical Oral Implants Research*. 17, 2006; 714–722
- Cehreli M, Duyck J, De Cooman M, Puers R, Naert I. Implant design and interface force transfer. A photo- elastic and strain-gauge analysis. *Clinical Oral Implants Research* 15, 2004; 249–257
- Duyck J, Rønold HJ, Van Oosterwyck H, Naert I, Vander Sloten J, Ellingsen JE. The influence of static and dynamic loading on marginal bone reactions around osseointegrated implants: an animal experimental study. *Clinical Oral Implants Research* 12, 2001; 207–218
- Duyck J, Slaets E, Sasaguri K, Vandamme K, Naert I. Effect of intermittent loading and surface roughness on peri-implant bone formation in a bone chamber model. *Journal Clinical Periodontology* 2007; 34: 998–1006.
- Esaki D, Matsushita Y, Ayukawa Y, Sakai N, Sawae Y, Koyano K. Relationship between magnitude of immediate loading and peri-implant osteogenesis in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 00, 2011, 1–7
- Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load. A study in the dog (I) *Clinical Oral Implants Research* **12**, 2001; 1–8
- Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. A study in the dog (II) *Clinical Oral Implants Research* **12**, 2001; 196–201
- Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load of different duration. A study in the dog (III) *Clinical Oral Implants Research* **12**, 2001; 552–558
- Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J: Bone reactions at implants subjected to experimental peri-implantitis and static load. A study in the dog. *Journal Clinical Periodontology* 2002; 29: 144–151.

Heitz-Mayfield LJ, Schmid B, Weigel C, Gerber S, Bosshardt DD, Johansson J, Lang NP. Does excessive occlusal load affect osseointegration? An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* 15, 2004; 259–268

Isidor F. Histological evaluation of peri-implant bone at implants subjected to occlusal overload or plaque accumulation. *Clinical Oral Implants Research* 1997; 8: 1-9

Junker R, Manders PJD, Wolke J, Borisov Y, Jansen JA. Bone reaction adjacent to microplasma-sprayed CaP-coated oral implants subjected to occlusal load, an experimental study in the dog. Part I: Short-term results. *Clinical Oral Implants Research* 21, 2010; 1251–1263.

Kong S. The evaluation on the movement of endosseous titanium implants under continuous orthodontic forces: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* 19, 2008; 618–623

Kozlovsky A, Tal H, Laufer B-Z, Leshem R, Rohrer M D, Weinreb M, Artzi Z. Impact of implant overloading on the peri-implant bone in inflamed and non-inflamed peri-implant mucosa. *Clinical Oral Implants Research* 18, 2007; 601–610

Mehl C, Becker ST, Acil Y, Harder S, Wiltfang J, Dabbagh-Afrouz AA, de Buhr W, Kern M. Impact of vertical loading on the implant-bone interface. *Clinical Oral Implants Research* 00, 2012, 1–8

Nkenke E, Lehner B, Weinzierl K, Thams U, Neugebauer J, Steveling H, Radespiel-Troger M, Neukam FW. Bone contact, growth, and density around immediately loaded implants in the mandible of mini pigs. *Clinical Oral Implants Research* 14, 2003: 312–321

Piattelli A, Scarano A, Quaranta M. High-precision, cost-effective system for producing thin sections of oral tissues containing dental implants. *Biomaterials*, 1997;18:577-579

Zambon R, Mardas N, Horvath A, Petrie A, Dard M, Donos N. The effect of loading in regenerated bone in dehiscence defects following a combined approach of bone grafting and GBR. *Clinical Oral Implants Research* 23, 2012, 591–601

