



**MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM IMPLANTODONTIA**

GUILLERMO NELSON CASTRO CORTELLARI

**INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO E PROFUNDIDADE DE INSERÇÃO DO
IMPLANTE CONE MORSE NO REMODELAMENTO ÓSSEO PERI-
IMPLANTAR: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS.**

Guarulhos

2016

GUILLERMO NELSON CASTRO CORTELLARI

**INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO E PROFUNDIDADE DE INSERÇÃO DO
IMPLANTE CONE MORSE NO REMODELAMENTO ÓSSEO PERI-
IMPLANTAR: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS.**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos para
obtenção do título de Mestre em Odontologia

Área de Concentração: Implantodontia
Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli
Co-Orientador: Prof. Dr. Sergio Alexandre Gehrke

Guarulhos

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas Fernando Gay da Fonseca

C355i

Castro Cortellari, Guillermo Nelson

Influência do diâmetro e profundidade de inserção do implante conector no remodelamento ósseo periimplantar: um estudo experimental em coelhos. / Guillermo Nelson Castro Cortellari. -- 2016.

50 f.; 31 cm.

Orientadora: Profº. Dr. Jamil Awad Shibli

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Centro de Pós-Graduação e Pesquisa e Extensão, Universidade Guarulhos, Guarulhos, SP, 2016.

1. Nível da profundidade óssea. 2. Comportamento da crista óssea 3. Diâmetro do implante. 4. Estudo animal. I. Título II. Shibli, Jamil Awad (Orientador). III. Universidade Guarulhos

CDD. 617.6



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, intitulada “INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO E PROFUNDIDADE DE COLOCAÇÃO NO REMODELAMENTO ÓSSEO EM TORNO DOS IMPLANTES CONE-MORSE: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM COELHOS” em sessão pública realizada em 13 de dezembro de 2016, considerou o candidato GUILLERMO NELSON CASTRO CORTELLARI aprovado.

COMISSÃO EXAMINADORA:

1. Prof. Dr. Jamil Awad Shibli (UNG)

2. Profa. Dra. Micheline Sandini Trentin (UPF-RS)

3. Prof. Dr. Murilo Fernando Neuppmann Feres (UNG)

Guarulhos, 13 de dezembro de 2016.

Mis padres me enseñaron que la familia y los amigos son dos de las cosas máspreciadas en nuestras vidas, cosa que comparto y así se lo transmití a mis hijas y seguramente ellas lo harán con sus hijos.

Dedico éste trabajo a ellos, Nelson Castro y Alba Cortellari, impulsores de mis sueños, siempre preocupados por mi bienestar, fuente de buenos consejos, que me inculcaron a no rendirse jamás ante nuestras convicciones y que nada se logra sin esfuerzo. Mi recuerdo eterno y emocionado a mi querida madre que ya no me acompaña físicamente pero que sigue a mi lado más fuerte que nunca.

Y a mis hijas Florencia, Constanza y Sabrina, que sin su amor hubiera sido imposible alcanzar muchas de mis metas. Son las impulsoras de mis fuerzas y generadoras de todo lo bueno que hay en mí.

AGRADECIMIENTOS

A Beatriz, mi señora y compañera de todos los días, preocupada siempre por mis necesidades, fuente inagotable de amor incondicional, pilar fundamental en éstos dos años de maestría en Guarulhos y en mi vida.

A mi hermana Silvia, luchadora de la vida, siempre dispuesta a ayudar a quién lo necesita, ejemplo para muchos, sin dudas agradecido por tenerla siempre a mi lado.

A mis mentores, Dr. Juan Carlos Abarro y Gustavo Sales que me iniciaron en el mundo implantológico.

A mi amigo Aníbal Narvaja, compañero de ruta implantologica, desde el 2000 a la fecha, ejemplo de amistad sincera, siempre dispuesto con su ayuda incondicional.

A mi orientador, Prof. Dr. Jamil Shibli, un fuera de serie, con una capacidad notable y desinteresada para enseñar. Me hizo sentir desde el primer día de maestría, a pesar de la distancia, como si fuera mi casa.

Agradecer también a todos los profesores de las diferentes disciplinas en éstos 2 años, que nos dieron muestras de su gran compromiso con la enseñanza, siempre desde el afecto con la palabra justa.

A todos los queridos colegas compañeros de maestría, con quienes cultivamos una linda amistad.

Por último a mi amigo y co-orientador Prof. Dr. Sergio Gehrke, por su ayuda constante, y lindas charlas compartidas.

A todos eles ... muito obrigado !!!!

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de diferentes profundidades de instalação y diâmetro do implantes no comportamento da crista óssea peri-implantar na tibia de coelhos.

Material e Métodos: Sessenta implantes tipo cone Morse dentários (Implacil), inseridos em tibias de coelhos, foram divididos em três grupos de acordo com o diâmetro ($n = 20$ por grupo): implantes grupo G1, com 3,5 mm de diâmetro; implantes grupo G2 com 4,0 mm de diâmetro; e, os implantes grupo G3 com 4,5 mm de diâmetro. Todos os implantes apresentados tem tratamento de superfície completo e 8 mm do comprimento. Os implantes foram instalados nas tibias de coelho (2 por tibia) em 2 diferentes posições de profundidade em relação ao nível cortical ($n = 10$ por grupo): 1 mm (L1) e 2,0 mm (L2). Os implantes foram removidos após 8 semanas para análise histológica. As amostras histológicas foram preparadas e analisadas qualitativamente em relação ao novo osso na interface osso - pilar e quantitativamente, em relação à altura do osso a partir da base do implante. Estes dados foram calculados e comparados estatisticamente dentro dos grupos usando análise de variância e teste U entre os grupos para o mesmo nível do osso.

Resultados: Todos os grupos exibiram crescimento ósseo em direção e sobre a superfície dos pilares com boa cicatrização. Entretanto, o grupo G2 apresentou um aumento de altura da formação óssea na direção crestal e aumento significativo foi observado ($p<0.001$) entre os valores mensurados.

Conclusões: Dentro das limitações do presente estudo, as análises histológicas de 8 semanas mostraram que o diâmetro do implante e a posição intra-óssea são importantes fatores que influenciam na formação crestal e selamento tecidual peri-implantar.

PALAVRAS-CHAVES

Nível da profundidade óssea, comportamento da crista óssea, diâmetro do implante, estudo animal.

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study was to evaluate the influence of the diameter and implant installation depth in the behavior of peri-implant crestal bone in rabbit tibia. **Material and methods:** Sixty conical Morse taper dental implants were divided into three groups in accordance with the diameter ($n=20$ per group): Group G1 implants with 3.5-mm in diameter; Group G2 implants with 4.0-mm in diameter; and, Group G3 implants with 4.5-mm in diameter. All implants presented full surface treatment and 8-mm in length. The implants were installed in rabbit tibias (2 per tibia) in 2 different positions related to the cortical level ($n=10$ per group): 1-mm (I_1) and 2.0-mm (I_2). The implants were removed after 8 weeks for histological analysis. The histological slides were prepared and analyzed qualitatively in relation to the new bone at the interface bone/abutment and quantitatively, in relation to bone height from the base of the implant. These data were computed and statistically compared inside the groups using ANOVA and the *U*-test between groups for same bone level.

Results: All groups exhibited bone growth in the direction and over the surface of the abutments, with good healing. However, the EG group (G2) showed an increased height of bone formation in the crestal direction, and highly significant differences were observed ($p<0.001$) between these measured values. **Conclusions:** Under the limitations of the present study, histological follow-up at 8 weeks showed that implant diameter and intra-bone position are an important factor in the crestal bone formation and peri-implant tissue sealing.

Keywords: bone level depth, crestal bone behavior, implant diameter, animal study.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	
2a – Platform switching.....	9
2b - Conexão cone Morse.....	12
2c - Profundidade de inserção do Implante.....	13
2d - Diâmetro do implante.....	16
3. OBJETIVO.....	18
4. ARTIGO CIENTÍFICO.....	19
5. CONCLUSÕES.....	42
6. REFERÊNCIASBIBLIOGRAFICAS.....	43
7. ANEXOS.....	49

1. INTRODUÇÃO

As reabilitações orais com implantes dentais têm sido amplamente demonstradas como um tratamento previsível e com uma alta margem de êxito. Estudos clínicos revelam que falhas biológicas e técnicas ocorrem. Um dos fatores do êxito é conseguir a estabilidade do osso peri-implantar.

Faz já três décadas, Albrektsson et al. (1) sugeriram que a perda óssea peri-implantar é de 1 a 2 mm no primeiro ano e de 0.1 a 0.2 mm nos anos subsequentes, logo que o implante entra em contato com o meio bucal e que este fenômeno de remodelamento ósseo é normal. Esta precoce perda da estrutura óssea se vê facilitada pela colonização e proliferação de bactérias anaeróbias nas superfícies expostas dos implantes.

O êxito dos implantes dentais recai na presença de uma boa quantidade e qualidade óssea ao redor dos mesmos. Existem outros mecanismos mecânicos e biológicos, além da contaminação bacteriana, como o biótipo periodontal, a densidade óssea e a formação do espaço biológico, a distância inter-implantar, o desenho micro e macro implantar, as cargas oclusais, o trauma cirúrgico, a profundidade de colocação do mesmo e os micromovimentos entre o pilar e o implante.

Alguns dos primeiros autores que fizeram estudos em animais, estudando a resposta biológica do osso alveolar em relação à união implante-pilar foram Hermann et al, (2)(1997), (3)(2001) quem descreve que o remodelado ósseo se produz a um nível aproximado de 2 mm para apical da união implante-pilar, em forma constante sem levar em conta a posição vertical da união implante-pilar sem ter em conta a posição original do osso alveolar.

Todescan et al, (6)(2002), Piatelli et al, (7)(2003) demonstraram que quando a união implante pilar é mais profunda no osso, a perda óssea vertical é maior, entretanto, a nova posição da crista se mantém a 2 mm a apical da união implante-pilar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2a – PLATFORM SWITCHING

Em 1991, ImplantInnovation, Inc. introduz os implantes de 5 e 6 mm de diâmetro. No momento de restaurá-los, os componentes dessas dimensões não estavam disponíveis, por isso se utilizaram pilares standard de 4.1 de diâmetro, resultando uma diferença de 0.45-0.95 mm em sentido horizontal entre a plataforma do implante e o pilar. Depois de um período de 5 anos, o típico padrão de reabsorção cristal não se observavam estes casos, surgindo o conceito de “platformswitching” (PS) ou redução de plataforma, descoberto de forma casual e descrito por Lazzara & Porter em 2006. (8)

O conceito de *platform switching* baseia-se no uso de um pilar de menor diâmetro que a plataforma do implante. Este tipo de conexão translada o perímetro da união implante-pilar para o centro do eixo do implante, movendo para dentro as bactérias e, por conseguinte, distanciando-as do osso alveolar. Ao ser o pilar mais fino favorece a formação de uma alça de tecido conjuntivo mais consistente, produzindo um selamento mucoso; localiza o eixo das forças recebidas para o centro do implante, produzindo vantagens biomecânicas; melhora o espaço restaurativo ao ser este maior; melhora a estética, e minimiza o efeito da distância interi-implantar, já que precisamos um mínimo de 3 mm para preservar o osso marginal.

Da revisão da literatura, encontramos resultados controversos. Aproximadamente 50% dos estudos reportaram uma diferença não significativa nos níveis de perda da crista óssea entre os implantes com PS e não platform switching (NPS). (9, 10-11, 12).

Canulo et al em 2012 (9) estudando dois grupos de implantes: um usando implantes de 4,3mm de diâmetro e pilar de 3,8mm e o outro implante de 4,8mm e pilar de 4,3mm não mostraram diferenças significativas em relação à perda óssea. Sugerindo assim que a reabsorção óssea está mais provavelmente relacionada a fatores biológicos, como o restabelecimento do espaço biológico, mais que a fatores biomecânicos, como o diâmetro da plataforma do implante.

Outro parâmetro crítico, ao qual não se referem a maioria dos estudos (8,13-14, 15, 16, 17,12), é a espessura transversal do rebordo alveolar. Quando o rebordo é muito fino, é muito provável que o implante exerça pressão sobre a parede óssea vestibular, provocando uma constrição dos vasos sanguíneos da zona, comprometendo o suporte vascular da região, comparando-o com implantes situados em arcos com espessura transversais maiores. Isto está associado com o aumento da perda óssea alveolar e o compromisso da arquitetura dos tecidos moles.

Vale a pena destacar que estudos de Enkling et al (10), Romanos et al (18) e Crespi et al (12), os implantes com diâmetro entre 3,3 e 5,5 mm foram colocados em rebordos com largura de 7 a 9 mm, não se encontrando diferenças entre os implantes com PS e NPS em termos de preservação de nível de osso alveolar.

Canulo et al (19) reportaram maior perda óssea ao redor dos NPS comparado com os PS situados em um rebordo de 7 mm de largura, entretanto, uma limitação deste estudo foi que a avaliação radiográfica só availava o nível ósseo Mesial (M) e Distal (D) e não Vestibular (V), e Lingual (L) ou Palatino (P).

Abrahamsson et al (20), em um estudo em cães investigaram o efeito da repetida remoção e reconexão do pilar sobre os tecidos conectivos marginais peri-implantares, comparando-o com outro grupo onde não se remove o pilar. Demonstrou-se que há uma recessão do tecido mole significativamente maior aproximadamente 1,5 mm no grupo estudo em relação a 0,7 mm no grupo controle. A repetida remoção e reconexão do pilar induzem a micromovimentos no nível da união do implante pilar, permitindo microfiltrações e formação de um *microgap* (21).

Em um estudo de Romanos et al (18), avaliaram a perda da crista óssea peri-implantar comparando dois sistemas de implantes diferentes com PS (AnkyloseCertainPrevail) com um seguimento de 24 meses onde se comprovou que em ambos os sistemas há uma perda da crista óssea de pelo menos 2mm (11% e 70% Ankylose Certainprevail respectivamente) sem diferenças significativas na recessão gengival.

A diferença entre o estudo de Abrahamsson e de Romanos é que neste último os pilares se conectaram todos juntos e não se removeram.

Entretanto, de acordo com estudos prévios (22), a mecânica superior da conexão cone Morse ajuda a explicar estabilidade a longo prazo significativamente melhora aplicação clínica.

Seguindo os critérios de Albrektsson (1) temos uma perda óssea de 0.1-0.2 mm por ano logo de conectado o pilar e que este fenômeno de remodelado ósseo é considerado normal. Assim como a colocação do implante no nível da crista óssea é mais provável que esteja associado a um maior risco de exposição do implante depois de um período de tempo, comparado com um colocado a nível subcrestal.

O estudo de Veis et al, 2010, (23) mostra que a localização da crista IAC (Implant-abutment connectoion) resulta em uma maior perda óssea marginal em pilares retos e PS. Conclui-se que a colocação subcrestal da conexão do pilar é um fator vital que ajuda a minimizar a perda da crista óssea. Isto sugere que a colocação subcrestal dos implantes minimiza o risco da exposição do implante e o PS permite a estabilidade óssea ou o crescimento sobre o ombro do implante.

Estudos com no máximo de 3 anos de seguimento (13-14-17, 19,24) reportaram que o PS é efetivo para a manutenção dos níveis do osso alveolar. A perda óssea ao redor dos implantes parece estar governada por vários fatores como as características cervicais do implante, posicionamento 3D do mesmo, conceito protético e o IAC, largura do rebordo alveolar e prevenção do micromovimentos na interface implante pilar e não somente guiar-nos pelo conceito de PS.

Os critérios para manter o contorno saudável dos tecidos moles peri-implantares é uma prótese que fornece força mecânica e que se mantenha esteticamente aceitável (25). Entretanto, muitos espaços edêntulos têm limitações estéticas e mecânicas ligadas à qualidade do osso pobre e o remodelado anatômico dos tecidos duros e moles remanescentes. Devido a estas limitações a posição estética ideal não é viável.

2b - CONEXÃO CONE MORSE

As conexões internas têm melhorado os resultados quanto a logros estéticos e estabilidade mecânica (26).

A característica da conexão Cone Morse é o desenho da união interna entre duas estruturas cônicas. Esta conexão foi desenvolvida por Stephen Morse em 1864, e tem sido amplamente usada em distintas disciplinas. Na implantodontia, o cone macho cônico se conecta dentro de um desenho cônico fêmea no implante. Este desenho cônico cria uma fricção significante entre ambas superfícies que vai depender da inclinação das mesmas. Este ângulo é determinado de acordo com às propriedades mecânicas de cada material. Por exemplo, as estruturas de titânio têm uma relação ideal entre os ângulos das superfícies de contato e o coeficiente de fricção (26,27).

Além disso, este desenho interno estável permite a colocação de um pilar de plataforma mais estreita, fazendo um desenho de PS, reduzindo assim a perda de osso marginal e permitindo espaço adicional para o desenvolvimento e manutenção dos tecidos moles peri-implantares (28,29).

A partir de uma revisão científica os benefícios dos implantes cone Morse e os pilares PS são:

- Marcado diminuição do *microgap* da união implante pilar, dando uma redução da acumulação do biofilme (28).
- Reduzem a reabsorção da crista óssea (19,30,31).
- A formação do espaço biológico tem lugar para apical e lateralmente ao redor do pilar e da plataforma horizontal do implante (30, 32, 33, 34,35).
- O diâmetro menor do pilar em proporção ao diâmetro do implante aumenta a espessura do tecido conectivo ao redor do pilar (33,34).
- A estabilidade do torque e a manutenção das superfícies de contato carregadas é mais alta, devido a este sistema bi-cônico entre o implante e o parafuso intermediário (36).
- O desenho da conexão maquinada do Cone Morse foi associado com a diminuição dos micromovimentos durante a distribuição das forças oclusais sobre o implante (37).

2c - PROFUNDIDADE DE INSERÇÃO DO IMPLANTE

A quantidade da perda de osso marginal é influenciada pela localização da união implante pilar, em relação à crista óssea, assim como também pela relação pilar e diâmetro do ombro do implante (PS). Alguns autores sugerem que existe outra variável a considerar para a manutenção deste osso alveolar, que é a profundidade de inserção do implante. Quer dizer, levar o ombro ou plataforma do implante 1 ou 2 mm por debaixo da crista óssea (38-39).

Aimetti et al (39) demonstram em um estudo em humanos com um seguimento de 2 anos que a colocação de implantes subcrestais com PS é uma opção viável no tratamento protético reabilitador. Em todos os casos, com exceção de dois, a perda óssea não superou os 0,32 mm e em um 30% dos mesmos apresentavam tecido ósseo por em cima do ombro do implante. Devemos enfatizar que os resultados marcados também se devam a que as condições nos critérios de inclusão dos pacientes eram muito favoráveis, rebordos alveolares maiores de 5 mm e espessura da mucosa também maior que 2 mm.

Está demonstrado que a perda de osso peri-implantar marginal está condicionada à localização da união implante-pilar relativa à crista alveolar, tanto no sentido vertical como horizontal. Com o PS esta união é deslocada em direção ao eixo do implante, distanciando do osso vizinho. Assim como a infiltração bacteriana, os micromovimentos e o estresse gerado pelas forças da mastigação distanciam-se da união implante-osso, dando lugar a uma menor migração apical do espaço biológico (19).

Também tem sido relatada uma estreita relação entre o grau de reabsorção da crista óssea e a extensão do infiltrado inflamatório peri-implantar. A localização e intensidade deste infiltrado inflamatório estão relacionadas à profundidade vertical de inserção do IAJ (implant-abutment joint) com relação à crista alveolar (40). Alguns estudos em animais demonstram que a maior medida de perda crista óssea ao redor de implantes de 2 peças colocados com a IAJ, 1 ou 2 mm por abaixo da crista, comparados com outros colocados 1 mm acima do nível da crista óssea (6-41). Estas investigações usaram implantes com pilares maquinados.

É importante destacar que esta informação é limitada e não conclusiva em relação a implantes de duas peças e configuração PS, colocados em uma posição subcrestal. Alguns estudos reportaram que esta posição subcrestal tinha efeitos negativos nas mudanças do osso marginal, enquanto que outros não puderam confirmar (42).

Em um estudo histológico em humanos, Degidi et al. (43) implantes colocados todos subcrestalmente mostraram nova formação óssea por em cima dos ombros dos implantes, enquanto que os que se colocaram a nível cristal experimentaram uma perda de crista óssea de 0.5 a 1.5 mm.

Uma revisão sistemática de 2012 (44) reportou uma médio de perda da crista óssea em implantes colocados subcrestalmente de 0,05 mm a 1,40 mm depois de um seguimento de 6 a 60 meses. Algumas diferenças são atribuídas pelo tipo de conexão implante-pilar, a técnica cirúrgica, o tipo de superfície da plataforma, distância inter-implantar, quantidade de vezes de conexão e desconexão do pilar e a espessura inicial da mucosa. A união implante-pilar está associada a um infiltrado inflamatório que é em parte responsável da perda da crista óssea. Estudos em cães (40) demonstrou que a magnitude do infiltrado inflamatório pode depender da profundidade de inserção da união implante-pilar (crestal, subcrestal ou supra-crestal). Como resultado deste estudo (44), nos implantes colocados supra-crestalmente se notou uma apenas menor reabsorção óssea que os colocados subcrestalmente, embora não mostraram diferenças estatisticamente significantes. Diferenças nos resultados em diferentes estudos e a existência de fatores de confusão, explicam a ausência de acordo entre os diferentes autores no que respeita à profundidade ideal de inserção.

Koutouzis et al. (45) fazem um estudo prospectivo clínico randomizado onde avaliam as mudanças nos níveis ósseos do osso marginal e as dimensões dos tecidos moles peri-implantares ao redor de implantes de cone Morse com PS com a IAJ a diferentes níveis em relação à crista óssea. Fizeram 3 grupos de pacientes com 10 implantes colocados em cada grupo. Um em posição cristal e os outros dois a 1 e 2 mm de profundidade respectivamente. Esperou-se 4 meses, se restauraram com coroas. Fizeram medições da altura da crista óssea com Rx, no momento da colocação, aos 4 meses e 12 meses. Os resultados foram os seguintes: no grupo

que se colocaram a nível crestal la perda óssea foi de 0.18 ± 0.27 mm aos 4 meses e 0.27 ± 0.45 mm aos 12 meses, enquanto os outros dois grupos não exibiam perda óssea por debaixo da plataforma. Os grupos que se colocaram subcristal também exibiam uma maior porcentagem de contato ósseo sobre a plataforma do implante (90% vs 35%).

Podemos destacar como conclusão que existem diferenças significativas na resposta do osso peri-implantar com implantes com PS e conexão cone Morse com a IAJ a diferentes níveis em relação à crista alveolar. Implantes colocados a 1 ou 2 mm debaixo da crista alveolar demonstraram menos perda de osso marginal e uma maior porcentagem da superfície do implante com tecido ósseo sobre a plataforma do implante comparado com os implantes colocados a nível da crista alveolar.

Neiva et al (46) realizaram um estudo em cães para determinar as mudanças do osso peri-implantar colocando os implantes a diferentes profundidades. Um grupo a nível cristal, outro a 1,5 mm e 3 mm de profundidade respectivamente. Colocaram-se implantes de conexão cone Morse e aos 3 meses se parafusaram os pilares e aos 6 meses fizeram as biópsias. Realizaram-se análises de micro-tomografias das amostras e se notou que as que tinham os implantes subcrestais perdiam menos osso que os que se colocaram a nível crestal. Parece vantajoso a colocação dos implantes de cone Morse subcrestais para manter os níveis ósseos crestais peri-implantares.

2d - DIÂMETRO DO IMPLANTE

A prevenção da reabsorção vertical e horizontal do osso marginal peri-implantar é de fundamental importância para poder manter os níveis gengivais a longo prazo. Esta perda óssea está relacionada a diversos fatores, como o biótipo periodontal (47, 48), a formação do espaço biológico (3), densidade óssea, distância entre implantes, trauma cirúrgico, características macro e microscópicas do implante (49) e o conceito de *platform switching*.

Alguns autores, como Petrie & Williams 2005 (50); Baggi et al. 2008 (51); Ding et al. 2009 (52) relatam que aumentando o diâmetro do implante logramos uma redução do estresse no osso alveolar peri-implantar. Para provar esta hipótese Canullo et al em 2012 (9) avaliaram em um estudo clínico prospectivo randomizado, desde o ponto de vista radiográfico, a resposta do tecido duro ao redor de implantes com diferentes diâmetros de plataforma, restaurados com o conceito de *platform switching* com a mesma discrepância implante-pilar. Os pacientes receberam dois implantes cada um. De 4,3 e 4,8mm de diâmetro e se reabilitaram com pilares de 3,8 e 4,3 mm respectivamente, mantendo-se a mesma discrepância tanto no grupo controle como no grupo teste. Ao final do estudo, depois de 18 meses não se encontraram diferenças estatisticamente significantes usando diferentes diâmetros de plataforma, concluindo que os fatores biológicos e microbiológicos (restabelecimento do espaço biológico) são prevalentes na formação do remodelado ósseo, comparado com os fatores biomecânicos.

Em outro estudo experimental em cães, Baffone et al em 2012, (53) avaliam o efeito da discrepância entre o pilar e o uso de implantes de diâmetro largo no remodelado do tecido duro peri-implantares e as dimensões do tecido mole. Colocaram-se implantes de 5,5 mm de diâmetro e pilares de cicatrização de 3,8 mm no grupo teste, enquanto no grupo controle se utilizaram pilares do mesmo diâmetro do implante, gerando no grupo teste uma discrepância de 0,85 mm entre o pilar e a plataforma do implante. Os níveis mais coronais de contato osso implante e se reduz a altura do espaço biológico, especialmente no aspecto bucal, si se coloca o ombro do implante no nível da crista óssea bucal.

Montaser N Al-Qutub em 2011 realizaram um estudo clínico radiográfico para avaliar a perda óssea marginal ao redor dos implantes utilizando três diâmetros diferentes: 3,5, 4,3 e 5 mm de diâmetro. Fizeram-se medições da altura do osso cristal ao ano, 2 e 3 anos subsequentes, avaliando suas variações nos três diferentes diâmetros. Todos os grupos mostraram uma perda de osso cristal ao final do primeiro, segundo e terceiro ano, mas os implantes de diâmetro reduzido foram os que mostraram menor perda óssea. A gama de perda óssea foi de 0,9 a 1,86 mm embora sofresse uma redução drástica no segundo e terceiro ano. Os implantes de diâmetro largo foram os que apresentaram maior perda no primeiro ano e logo a perda foi insignificante. Isto se explica devido ao comportamento biomecânico destes implantes na distribuição de forças ao longo da crista óssea depois que começam a receber cargas (52). Pelo contrário, nas etapas iniciais as forças sobre a crista óssea peri-implantar produzem um aumento do remodelado de mencionado osso. Portanto, devemos entender o comportamento biomecânico da crista óssea peri-implantar para poder predizer o grau da perda óssea e assim poder evitar a disfunção funcional e estética.

3. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da profundidade de instalação e diâmetro do implante no comportamento da crista óssea peri-implantar na tíbia de coelhos.

4. ARTIGO CIENTIFICO

INFLUENCE OF DIAMETER AND PLACEMENT DEPTH ON BONE REMODELING AROUND MORSE-TAPER IMPLANTS: AN EXPERIMENTAL STUDY IN RABBITS

(submitted to *Clinical Implant Dentistry and Related Research*)

Guillermo Nelson Castro Cortellari^{1,2}, DDS; Sergio Alexandre Gehrke^{3,4}, DDS, PhD; José Luis Calvo Guirado⁴, DDS, PhD; Jaime SardáAramburú Júnior⁵, DDS, PhD; Juan Carlos Abarno¹, DDS; Jamil Awad Shibli^{2,4}, DDS, PhD.

1. Professor of the Catholic University of Uruguay, Montevideo, Uruguay;
2. Department of Periodontology and Oral Implantology, Dental Research Division, University of Guarulhos, Guarulhos, SP, Brazil.
3. Director of Biotecnos Research Center, Santa Maria, Brazil.
4. International Dentistry Research Cathedra, Universidad Católica San Antonio de Murcia (UCAM), Murcia, Spain.
5. Department of Medicine Veterinary, Faculty of Itapiranga, Itapiranga, SC, Brazil.

Running head:Influence of diameter and implant installation depth.

Corresponding Author:

Prof. Sergio AlexandreGehrke, DDS, PhD.

Department of Research, Biotecnos

Rua Dr. Bozano 571, CP 97015-001

Santa Maria, RS, Brazil

Phone / Fax: +55 55 32227253

E-mail: sergio.gehrke@hotmail.com

Authors contribution:

Guillermo Nelson Castro Cortellari: *Study planning and execution.*

Sergio Alexandre Gehrke: *Study planning, execution and drafting the manuscript.*

José Luis Calvo Guirado: *Study guidelines and review of the manuscript.*

Jaime Sardá Aramburú Júnior: *Surgeries execution and drafting the manuscript.*

Juan Carlos Abarno: *Statistics and data analysis.*

Jamil Awad |Shibli: *Study planning, guidelines and drafting the manuscript.*

Abstract

Objective: The purpose of this study was to evaluate the influence of diameter and implant installation depth in the behavior of periimplant crestal bone in rabbit tibia.

Material and methods: Sixty conical Morse taper dental implants were divided into three groups in accordance with the diameter (n=20 per group): Group G1 implants with 3.5-mm in diameter; Group G2 implants with 4.0-mm in diameter; and, Group G3 implants with 4.5-mm in diameter. All implants presented full surface treatment and 8-mm in length. The implants were installed in the rabbit tibias (2 per tibia) in 2 different positions related to the cortical level (n=10 per group): 1-mm (I_1) and 2.0-mm (I_2). The implants were removed after 8 weeks for histological analysis. The histological slides were prepared and analyzed quantitatively in relation to the total area of new bone in relation of the space generated after the osteotomy and, in relation to bone height from the base of the implant. These data were computed and statistically compared inside the groups using ANOVA and the T-test between groups for same bone level.

Results: All groups exhibited bone growth in the direction and of the healing abutments over the implant platform. However, statistical differences of percentage area on the implant platform and height of bone formation in the crestal direction, and highly significant differences were observed ($p<0.001$) between these measured values. **Conclusions:** Under the limitations of the present study, histological follow-up at 8 weeks showed that implant diameter and intra-bone position are an important factor in the crestal bone formation and preimplant tissue sealing.

Keywords: bone level depth, crestal bone behavior, implant diameter, animal study.

ESQUEMA: MATERIAIS E MÉTODOS

10 → G1 – L1

10 → G1 – L2

10 → G2 – L1

10 → G2 – L2

10 → G3 – L1

10 → G3 – L2

Introduction

The treatment of partial or complete edentulism using dental implants for the substitution the lost teeth has become an effective alternative in recent decades.^{1,2}

The maintenance dimension and function of the soft tissue seal around dental implants can determinate better long term condition,^{3,4} and the bone level, is related with the resistance level for dental implants.⁵ After the tooth loss, there is a progressive involution of the alveolar bone both in the horizontal and the vertical dimension.^{6,7} Moreover, the most rapid reduction in the alveolar bone after tooth extraction occurs during the first three months.^{7,8} Implants immediately positioned in alveolus after the surgical extraction of the tooth exhibit a success ranging from 92.7% to 98.0%.⁹ Some authors suggested that immediate implant placement may counteract the bone remodeling process and preserve the dimension of the alveolar ridge.¹⁰⁻¹² However, multiple animal investigations have failed to support this hypothesis.^{7,13} In this sense, Araújo *et al.* (2005, 2006)^{7,14} found a pronounced resorption of the buccal and lingual bony walls after immediate placement in fresh extraction sockets. In long-term observations, no significant differences in the success and aesthetic outcomes have been reported between immediate and delayed implants.^{16,17}

Load transfer depends on successful healing of the osteotomy and osseointegration, which is characterized as a direct structural and functional connection between the bone and the implant surface.¹⁷⁻²⁰ Thus, increasing the implant surface area (increasing the implant diameter or implant length) could be anticipated to improve the osseointegration and increase the implant stability.

Clinically, a narrow implant might be an option when the existing bone space in the alveolar ridge, in both buccal-lingual (BL) and mesial-distal (MD) directions, is narrow.²¹ However, a wide-diameter implant has been suggested to restore tooth loss in the posterior region, where the dimension of the alveolus is greater than the diameter of a standard implant,^{22,23} or when the jaw anatomy limits the choice of implant length.

Studies have also shown that stress in the crestal bone is susceptible not only to features of implant design,²⁴⁻²⁷ such as diameter, crestal module, and thread profile, but also to quality and quantity of alveolar bone.^{25,28-30}

Histologically Piattelliet al.³¹ found that the microgap was moved coronally away from the alveolar crest, minimum bone loss and minimum inflammatory infiltration occurred. Supposedly, this problem could be resolved with the introduction of the Morse taper internal connections,^{32,33} another recent review concluded that, no

implant system can currently provide a complete seal,³⁴ occurring bacterial leakage irrespective of the type of connection. It also concluded that there is no evidence on the clinical significance of this microbial leakage. The Morse taper internal connection could reduce leakage to physiological and tolerable levels, which clinically constitutes success.³⁵

The purpose of this study was to investigate the behavior of surrounding crestal bone to three diameter of Morse taper implant placed in two placement depth related to the crestal level. The effects of clinical scenarios, including (1) implant insertion depth, and (2) new bone formation around implant-abutment.

Material and Methods

Sixty commercially pure titanium (CP-Ti grade 4) implants and healing abutments with a 3.3-mm diameter and 3.5-mm transmucosal height were used. The implants were used with 3 diameters and all in 8-mm of length, forming the groups: 3.5-mm (G1 group), 4-mm (G2 group) and 4.5-mm (G3 group). The image of sets (implants-abutments) used in this study are presented in the **Figure 1**. The implants presented a full surface treatment with blasting of 50-100 µm TiO₂ particles, followed by ultrasonic cleaning with an alkaline solution Riozyme IV-E Neutro Gold (Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda, São José do Rio Preto, Brazil), washing with distilled water and pickling with maleic acid (HO₂CCH₂CHOHCO₂H). All products used in the present study are available commercially and, are manufactured at ImplacilDeBortoli (São Paulo/SP, Brazil).

Animals and surgical procedure

Fifteen New Zealand white mature rabbits weighing approximately 4 kg were used in this study. This study was approved through the ethics committee of the Itapiranga Faculty, Itapiranga, Santa Catarina, Brazil. The rabbit represents a test system commonly used in orthopedics.³⁶ This animal model provides ideal conditions for the investigation of bone regeneration and implant osseointegration.^{37,38} The rabbits were anesthetized through the intramuscular injection of ketamine(35mg/kg; AgenerPharmaceutical, Brazil). Subsequently, a muscle relaxant(Rompum5mg/kg, Bayer, Brazil) and a tranquilizer(Acepran 0.75 mg/kg, Univet, Brazil) were intramuscularly injected. Additionally, 1 ml of local anesthetic(3% Prilocaine-

felypressin, Astra, Mexico) was subcutaneously injected at the site of surgery to improve analgesia and control bleeding. A skin incision with a periosteal flap was used to expose the bone of both proximal tibias. The bone site was prepared with burs under copious saline irrigation. Different positions intra-bone level with respect to the marginal border (**Fig. 2**), and fixed in the inferior cortical, were established: 1.0-mm (I_1), and 2.0-mm (I_2). Ten implants were placed per group for each level. Two implants were inserted per tibia, with the position distributed by randomization (www.randomization.com) prior to surgery. The tibia was selected as the implant site because of the simplicity of the surgical access.³⁹ The insertion torque of the implants was manually controlled by an experienced surgeon (SG), and subsequently, the healing abutment was positioned (**Fig. 3**). The periosteum and fascia were sutured with catgut sutures and the skin was sutured with silk sutures. Postoperatively, a single dose of 600,000 IU Benztacil was used. After surgery, the animals were placed in individual cages with 12-hour cycles of light, a controlled temperature (21°C) and the ad libitum diet typically used in the laboratory. No complications or deaths occurred during the postoperative period. All animals were sacrificed through an intravenous overdose of ketamine (2 ml) and xylazine (1 ml); all animals were sacrificed at 8 weeks after implantation. Both tibias were removed, placed in 10% formalin solution and immediately transported to the laboratory (Biotecnos, Santa Maria, Brazil) for analysis.

Histomorphological Analysis

Bone blocks of the tibiae, with inserted implants and healing abutments, were removed from each animal, fixed in 10% of formaldehyde solution for 7 days, and dehydrated in increasing ethanol solutions (60%, 70%, 80%, and 99%) for 24–56 h, as previously described.⁴⁰ Subsequently, the samples were embedded in Technovit 7200 VLC resin (Kultzer & Co., Wehrhein, Germany) and, after curing, the samples were sectioned using a metallographical cutter (Isomet 1000; Buehler, Germany), as previously described.³⁸ The disk samples were polished using an abrasive paper sequence (Metaserv 3000; Buehler, Germany) to a ~30-µm thickness and analyzed using light microscopy (Nikon E200, Japan). The new bone growth area was measured with respect to 2 lines, one from the implant platform and another from the external implant border, according to scheme shown in the **Figure 4** and, the values

measured in mm² were converted by percentage in relation to de space generate after the osteotomy in each group, in accordance to the scheme of the **Figure 5**. The height of the bone formation was measured from the implant platform to the top of the crestal bone, in accordance to the **Figure 6**. Both measurements were performed using *Image Tool* software, version 5.02 for *Microsoft Windows™*. The measurements were made by both authors at different times and a unique average of these values was computed. When the measured values were very different measures were repeated by both examiners. The measurements were adjusted for distortion using the total length of the implant. The mesial and distal values were averaged to obtain a mean value for each implant.

Statistical analyses

The outcomes were longitudinally analyzed within the same group using the one-way analysis of variance (ANOVA) test for repeated measures. The comparison between the three groups in the same bone level installation was performed using the Mann-Whitney *U*-test. These statistical analyses were performed using the software *GraphPad Prism 5.01* (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). The level of significance was set at $\alpha = 0.05$.

Results

The surgical sites healed uneventfully. All animals presented appropriate healing during the first week following the surgical procedure. Post-surgical inspections for two weeks post-operatively indicated the absence of infection or inflammation. All implants presented osseointegration in the period proposed and were available for histological analysis. Direct contact was observed between living bone and all implants without presence of soft tissues were observed in both groups.

The **Figures 7 and 8** showed a representative behavior of the peri-implant healing of each group in the 2 levels proposed in the study.

After evaluating all measurements, a mean of the right and left aspect measured of each group was performed and the distance from the implant platform to the crest top (dIC) is summarized in the **Table 1**, with no significant differences between the groups in the level I₁ ($p=0.139$) and, significant differences in the level I₂ ($p<0.0001$).

The values measured distribution, mean, standard deviation and significant differences between the groups are showed in the graphs A and B (**Fig. 9**), respectively for level I_1 and I_2 .

Regards to the measured areas of the new bone formation on the implant platform, the values are showed in the graph A and B of the **Figure 10**, respectively for level I_1 and I_2 . However, these values were transformed in percentage to evaluate the real quantity for each group of the bone formation in relation to the area, with the mean values summarized in the **Table 2**. In the comparison of the data in the inside the groups among the 2 levels, only the G3 group showed statistical difference ($p=0.0009$).

Discussion

The presence and/or conservancy of bone around the implant especially in the buccal plate plays a crucial role on esthetics, because the correction of this defects require, sometimes, a long period of time and many surgeries.⁴¹ Resorption of crestal bone may lead to exposed threads, thus affecting the esthetic of the treatment, even if prostheses are not still connected.^{41,42} In an effort to stabilize and/or control bone crest height relative to the apical portion of the implant, several new techniques and macro- and micro-designs of implants have been proposed,⁴³ such as the platform switching.^{44,45} Besides the aesthetic factor, the increase in the amount of peri-implant bone tissue in the crestal portion of the implants could prevent inflammatory phenomena and/or esthetic problems. Then, the aim of the present pilot study was to use histological analyses to determine the tissues behavior after 8-week healing period which affected (increases or reduces) the crestal bone height and quantity of bone formation in the portion corresponding to crestal bone in a rabbit tibia model.

It has been suggested that the following factors primarily influence early implant bone loss in the crestal portion: microgap, when placed at or below the bone crest; implant crest module; occlusal overload; and the reformation of the biological width around dental implants.^{11,21} The crest module is the region of the implant that receives the crestal stress to the implant after loading, and the implant design influences the intensity of stress on this area.²² After the implant is loaded, bone loss has been

observed down to the first thread in many submerged implant systems with different distances from the implant platform to the first thread.²³ It has been suggested that bone loss might be reduced at the first thread due to changes in the shear force of the crest module to a component of compressive force caused by the thread itself.^{22,23} The implant neck design has been developed to improve the integrity of the soft tissue integration, and microtextured and macrotextured surfaces have also been explored. These designs primarily enhance the stability of the interface for both soft and hard tissue and minimize the marginal bone reduction in the first year of implantation. Thus, in the present study, we evaluated the bone formation in the crestal area using 3 different implant diameter in 2 different intra-bone level and, the results showed an important amount of bone using narrow implants (3.5 mm).

Implants installed in regular-sized alveolar ridges showed higher horizontal, but lower vertical, buccal bony crest resorption compared with implants installed in reduced alveolar ridges. Narrow abutments in reduced ridges and wide abutments in regular-sized ridges yielded less soft tissue recession compared with their counterparts.⁴³ Therefore, we used Morse taper connection type implants in the present study. This system comprises abutments with a considerable reduction in diameter compared with the diameter of the implant.

The marginal defects around titanium implants regenerate in 20-30 days through distance osteogenesis, but, the bone fill of the defects is incomplete after 1 month.⁴⁴ Thus, we proposed sample collection times of 8 weeks, when the bone healing is completed.⁴⁶ However, the results showed no significant variation within groups at the proposed collection times, thereby strengthening the validity of the data collected, and because the implants did not receive loads at any point, the values could not be changed. On the other hand, when the data were compared between the groups at each level significantly larger difference was observed for the G1 group regards to the area of bone formation.

*Tomasi et al. (2010)*⁴⁷ in a clinical trial observed that the implant position conditioned the amount of buccal crest resorption. Moreover, the thickness of the buccal bone plate and the tridimensional positioning of the implant must be considered, because these are important factors that influence the response of hard tissues during healing. Then, in this study 2 intra-bone positions regards to the crestal bone level

were tested and, the results demonstrated that the use of implants with regular and wide diameter is necessary more depth to increase the quantity of bone around the implants.

Actually, implants with changed of platform (diameter of the abutment less to implant diameter) have demonstrated better crestal bone preservation. Then, in this study was carried out by the insertion of implants with a changed of platform and, presented a SLA surface. Previous studies had established that the use of implants with a rough surface may influence the amount of bone regeneration and the values of BIC during healing.⁴⁸⁻⁵⁰ Different studies have assessed that implants presenting a rough surface may influence the degree of bone regeneration and the percentages of BIC during healing.^{50,51} *Calvo-Guirado et al.* (2010, 2015)^{52,53} concluded that the surface treatment can reduce the crestal bone resorption. *Cooper* (2000)⁵⁴ found that an increased surface roughness improves bone integration of the implant, increases osteoconduction, and increases osteogenesis.

New studies are needed to define the influence of others necks configurations in different diameters and depth on the crestal bone healing and the behavior with/or without loading and the influence of abutment change on crestal bone stabilization. These would appear to be important factors for improving peri-implant bone and soft tissue stability and so clinical outcomes, including esthetics, which are of particular importance in the anterior zone.

Conclusions

Under the limitations of the present study, histological follow-up at 8 weeks showed that implant diameter and depth of installation is an important factor in the level of crestal bone formation and tissue seal around of the abutments.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Romeo E, Lops D, Margutti E, Ghisolfi M, Chiapasco M, Vogel G. Long-term survival and success of oral implants in the treatment of full and partial arches: a 7-year prospective study with the ITI dental implant system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:247-59.
2. Chiapasco M, Gatti C. Implant-retained mandibular overdentures with immediate loading: a 3- to 8-year prospective study on 328 implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:29-38.
3. Abrahamsson I, Berglundh T, Wennström J, Lindhe J. The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 1996;7:212-219.
4. Atsuta I, Ayukawa Y, Kondo R, Oshiro W, Matsuura Y, Furuhashi A, Tsukiyama Y, Koyano K. Soft tissue sealing around dental implants based on histological interpretation. *J Prosthodont Res*. 2016 Jan;60(1):3-11.
5. Gehrke SA, Souza Dos Santos Vianna M, Dedavid BA. Influence of bone insertion level of the implant on the fracture strength of different connection designs: an in vitro study. *Clin Oral Investig*. 2014 Apr;18(3):715-20.
6. Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* 31: 820–828.
7. Araújo, M.G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* 32: 212–218.
8. Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2009) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 23: 313–323.
9. Peñarrocha M, Uribe R, Balaguer J. Immediate implants after extraction. A review of the current situation. *Med Oral*. 2004 May-Jul;9(3):234-42.

10. Paolantonio, M., Dolci, M., Scarano, A., d'Archivio, D., di Placido, G., Tumini, V. &Piattelli, A. (2001) Immediate implantation in fresh extraction sockets. A controlled clinical and histological study in man. *Journal of Periodontology* 72:1560–1571.
11. Hermann, F., Lerner, H. &Palti, A. (2007) Factors influencing the preservation of the periimplant marginal bone. *Implant Dentistry* 16: 165–175.
12. Sisti A, Canullo L, Mottola MP, Covani U, Barone A, Botticelli D. Clinical evaluation of a ridge augmentation procedure for the severely resorbed alveolar socket: multicenter randomized controlled trial, preliminary results. *Clin Oral Implants Res.* 2012 May;23(5):526-35.
13. Botticelli, D., Berglundh, T., Persson, L.G. &Lindhe, J. (2005) Bone regeneration at implants with turned or rough surfaces in self-contained defects. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* 32: 448–455.
14. Araújo, M.G., Wennström, J.L. &Lindhe, J. (2006) Modeling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clinical Oral Implants Research* 17: 606-614.
15. Mangano, F., Mangano, C., Ricci, M., Sammons, R.L., Shibli, J.A. &Piattelli, A. (2012) Singletooth Morse taper connection implants placed in fresh extraction sockets of the anterior maxilla: an aesthetic evaluation. *Clinical Oral Implants Research* 23: 1302–1307.
16. Chen, S.T. &Buser, D. (2014) Esthetic outcomes following immediate and early implant placement in the anterior maxilla—a systematic review. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 29: 186–215.
17. Bränemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977;16:1-132.
18. Adell U, Lekholm U, Rockler B, Bränemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of endentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981;10:387-416.

19. Listgarten MA, Lang NP, Schroeder HE, Schroeder A. Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clin Oral Implants Res* 1991;2:1-19.
20. Schenk RK, Buser D. Osseointegration: a reality. *Periodontol* 2000;17:22-35.
21. Andersen E, Saxegaard E, Knutsen BM, Haanaes HR. A prospective clinical study evaluating the safety and effectiveness of narrow-diameter threaded implants in the anterior region of the maxilla. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:217-24.
22. Graves SL, Siddiqui AA, Jansen CE, Beaty KD. Wide diameter implants: indications, considerations and preliminary results over a two-year period. *AustProsthodont J* 1994;8:31-7.
23. Renouard F, Arnoux JP, Sarment DP. Five-mm-diameter implants without a smooth surface collar: report on 98 consecutive placements. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:101-7.
24. Bozkaya D, Müftü S, Müftü A. Evaluation of load transfer characteristics of five different implants in compact bone at different load levels by finite element analysis. *J Prosthet Dent* 2004;92:523-30.
25. Tada S, Stegaroiu R, Kitamura E, Miyakawa O, Kusakari H. Influence of implant design and bone quality on stress/strain distribution in bone around implants: a 3-dimensional finite element analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:357-68.
26. Petrie CS, Williams JL. Comparative evaluation of implant designs: Influence of diameter, length, and taper on strains in the alveolar crest. A three-dimensional finite element analysis. *Clin Oral Implants Res* 2005;16:486-94.
27. Hansson S, Werke M. The implant thread as a retention element in cortical bone: the effect of thread size and thread profile: a finite element study. *J Biomech* 2003;36:1247-58.
28. Holmes DC, Loftus JT. Influence of bone quality on stress distribution for endosseous implants. *J Oral Implantol* 1997;23:104-11.
29. Kitagawa T, Tanimoto Y, Nemoto K, Aida M. Influence of cortical bone quality on stress distribution in bone around dental implant. *Dent Mater J* 2005;24:219-24.

30. Sevimay M, Turhan F, Kılıçarslan MA, Eskitascioğlu G. Three-dimensional finite element analysis of the effect of different bone quality on stress distribution in an implant-supported crown. *J Prosthet Dent* 2005;93:227-34.
31. Piattelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezzi G, Annibali S, Scarano A. Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *J Periodontol*. 2003;74:346-52.
32. Schmitt CM, Nogueira-Filho G, Tenenbaum HC, Lai JY, Brito C, Döring H, et al. Performance of conical abutment (Morse Taper) connection implants: a systematic review. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102:552-74.
33. Larrucea Verdugo C, Jaramillo Núñez G, Acevedo Avila A, Larrucea San Martín C. Microleakage of the prosthetic abutment/implant interface with internal and external connection: in vitro study. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25:1078-83.
34. Passos SP, Gressler May L, Faria R, Özcan M, Bottino MA. Implant-abutment gap versus microbial colonization: Clinical significance based on a literature review. *J Biomed Mater Res B ApplBiomater*. 2013;101:1321-8.
35. Pellicer-Chover H, Peñarrocha-Diago M, David Peñarrocha-Oltra, Gomar-Vercher S, Agustín-Panadero R, Peñarrocha-Diago M. Impact of crestal and subcrestal implant placement in peri-implant bone: A prospective comparative study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2016; 21(1): e103–e110.
36. Wennerberg A, Ide-Ektessabi A, Hatkamata S, Sawase T, Johansson C, Albreksson T, Martinelli A, Sodervall U, Odelius H. Titanium Release From Implants Prepared With Different Surface Roughness- An in vitro and ex vivo study, Proceeding of 18th European Conference on Biomaterials, 2003.
37. Lopes CC, KönigJúnior B. Histological findings of bone remodeling around smooth dental titanium implants inserted in rabbit's tibias. *Ann Anat* 2002;184(4):359-62.
38. Novaes AB, Souz AD, Barro RM, Pereira KY, Iezzi G.A. Influence of Implant Surfaces on Osseointegration. *Braz Dent J* 2010;21(6):471-481.

39. Piattelli A, Degidi M, Paolantonio M, Mangano C, Scarano A. Residual aluminum oxide on the surface of titanium implants has no effect on osseointegration. *Biomaterials* 2003;24(22):4081-9.
40. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.
41. Gehrke SA. Correction of esthetic complications of a malpositioned implant: a case letter. *J Oral Implantol*. 2014;40(6):737-43.
42. Boquete-Castro, A., Gómez-Moreno, G., Aguilar-Salvatierra, A., Delgado-Ruiz, R.A., Romanos, G.E. & Calvo-Guirado, J.L. (2015) Influence of the implant design on osseointegration and crestal bone resorption of immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 26: 876–881.
43. Romanos GE, Javed F. Platform switching minimises crestal bone loss around dental implants: truth or myth? *J Oral Rehabil*. 2014;41(9):700-8.
44. Annibali S, Bignozzi I, Cristalli MP, Graziani F, La Monaca G, Polimeni A. Peri-implant marginal bone level: a systematic review and meta-analysis of studies comparing platform switching versus conventionally restored implants. *J Clin Periodontol*. 2012 Nov;39(11):1097-113.
45. Hermann, J.S., Schoolfield, J.D., Schenk, R.K., Buser, D. & Cochran, D.L. (2001) Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology* 72:1372–1383.
46. Gehrke SA, Marin GW. Biomechanical evaluation of dental implants with three different designs: Removal torque and resonance frequency analysis in rabbits. *Ann Anat*. 2015;199:30-5.
47. Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevel multivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* 21:30-36.

48. Abrahamsson, I. &Cardaropoli, G. (2007) Periimplant hard and soft tissue integration to dental implants made of titanium and gold. *Clinical Oral Implants Research* 18: 269–274.
49. Abuhussein, H., Pagni, G., Rebaudi, A. & Wang, H.L. (2010) The effect of thread pattern upon implant osseointegration. *Clinical Oral Implant Research* 21: 129–136.
50. Botticelli, D., Berglundh, T., Persson, L.G. &Lindhe, J. (2005) Bone regeneration at implants with turned or rough surfaces in self-contained defects. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* 32: 448–455.
51. Trisi, P., Lazzara, R., Rao, W. &Rebaudi, A. (2002) Bone-implant contact and bone quality: evaluation of expected and actual bone contact on machined and osseotite implant surfaces. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 22: 535–545.
52. Calvo-Guirado, J.L., Ortiz-Ruiz, A.J., Negri, B., Lopez-Mari, L., Rodriguez-Barba, C. &Schlottig, F. (2010) Histological and histomorphometric evaluation of immediate implant placement on a dog model with a new implant surface treatment. *Clinical Oral Implants Research* 21: 308-315.
53. Calvo-Guirado, J.L., Gomez-Moreno, G., Aguilar-Salvaterra, A., Guardia, J., Delgado-Ruiz, R.A. &Romanos, G.E. (2015) Marginal bone loss evaluation around immediate non-occlusalmicrothreaded implants placed in fresh extraction sockets in the maxilla: a 3-year study. *Clinical Oral Implants Research* 26: 761–767.
54. Cooper, L.F. (2000) Systemic effectors of alveolar bone mass and implications in dental therapy.

Figures legends:

Figure 1: Image of the implants and abutments used in the present study.(3,5, 4,0, 4,5 mm)

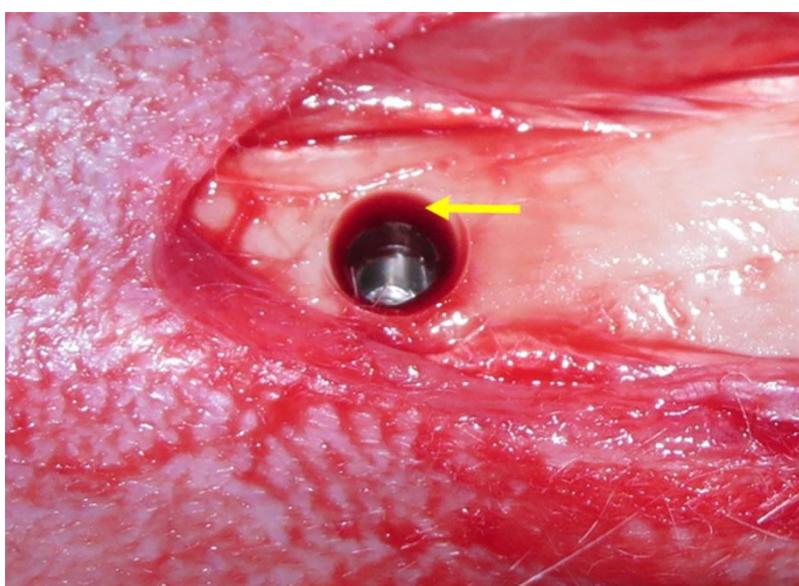


Figure 2: Image of the implants in intra-bone position level with respect to the marginal border.

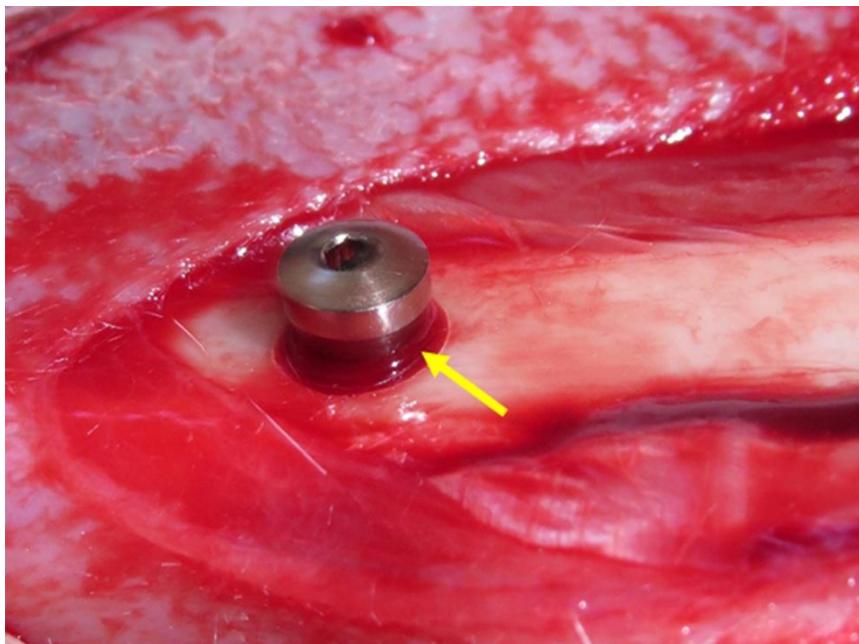


Figure 3: Image of the blood (yellow arrow) filling the space generated between the abutment and the bone.

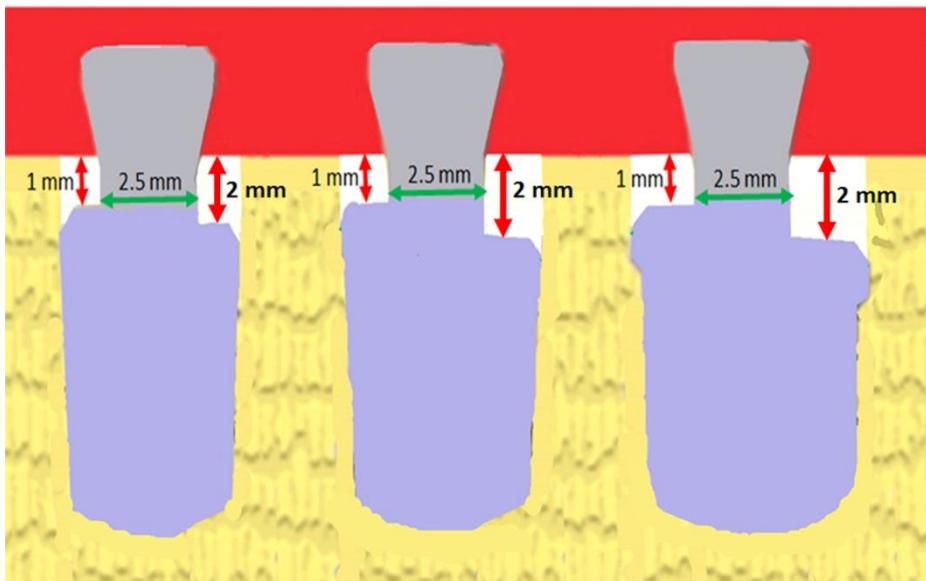


Figure 4: Scheme of the space generated in each implant diameter after the osteotomies in the 2 levels.

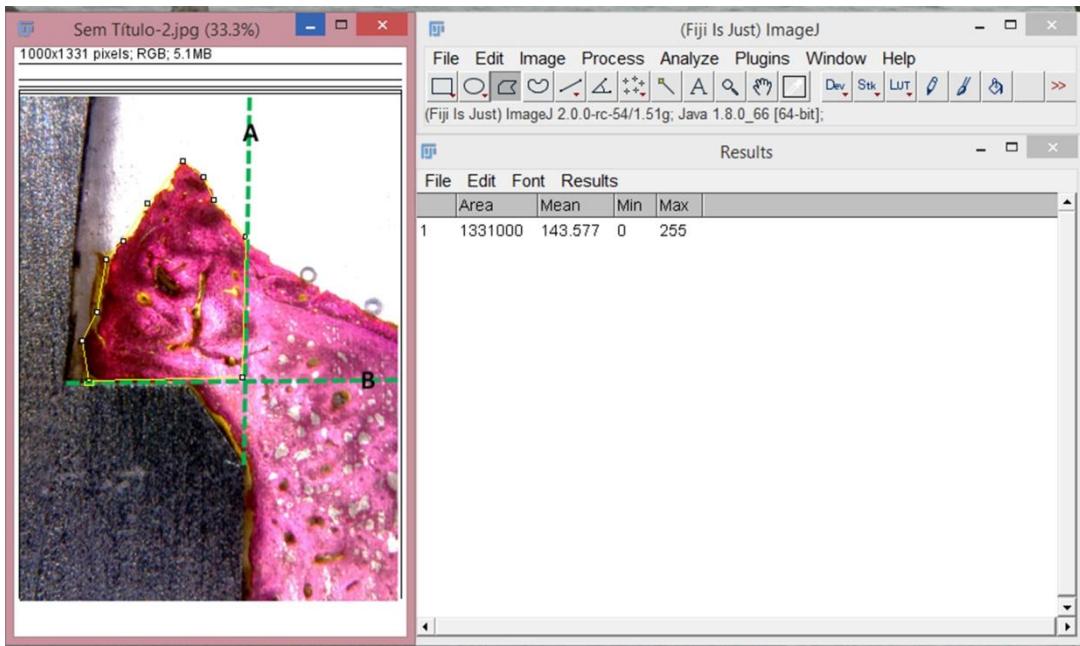


Figure 5: Image of the measurement of the new bone growth area with respect 2 lines: one from the implant platform and another from the external implant border.



Figure 6: Image of the measurement of height of the bone formation, which was measured from de implant platform to the top of the crestal bone.

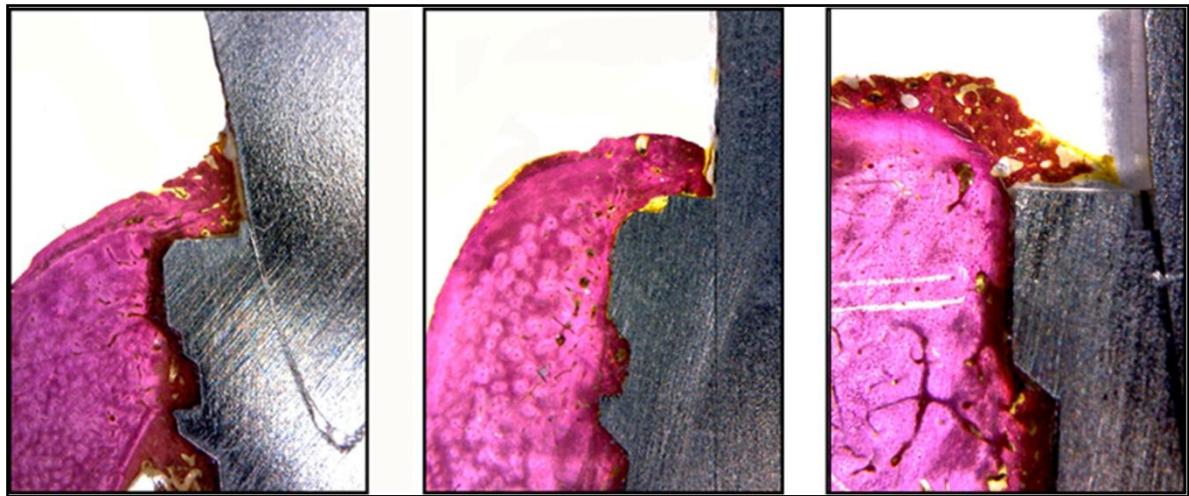


Figure 7: Representative image of each group in the level 1. G1, G2 and G3 group respectively.

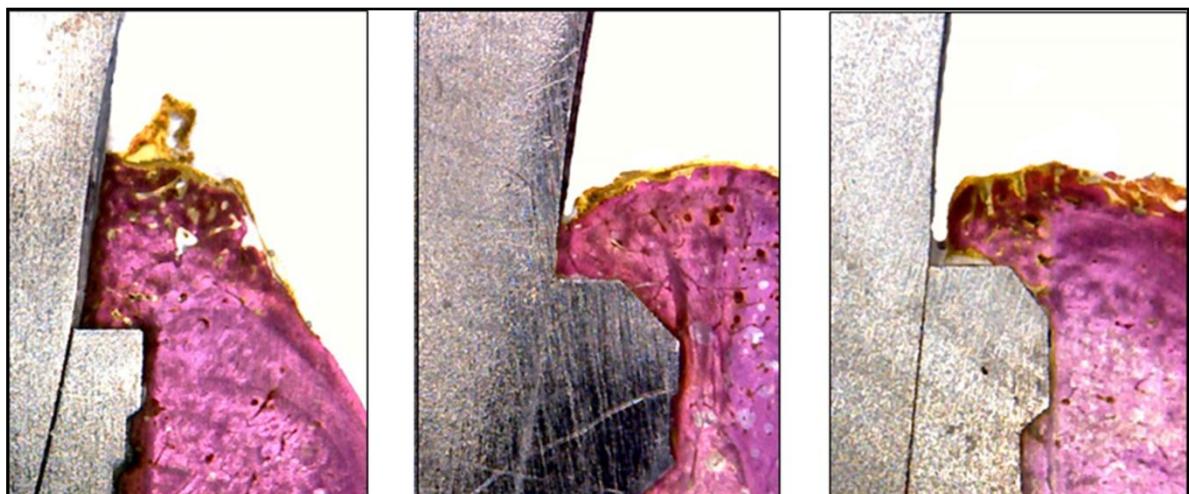


Figure 8:: Representative image of each group in the level 2. G1, G2 and G3 group respectively.

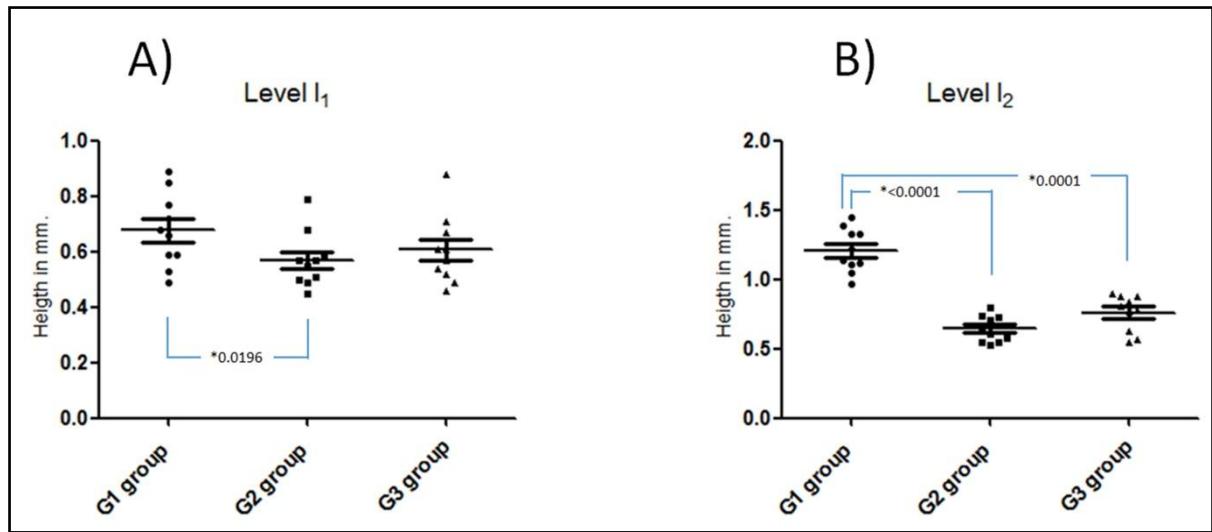


Figure 9: Graph of the data distribution and statistical analysis of the groups regards the bone heighth in the 2 levels. (*) Significant differences, $p < 0.05$.

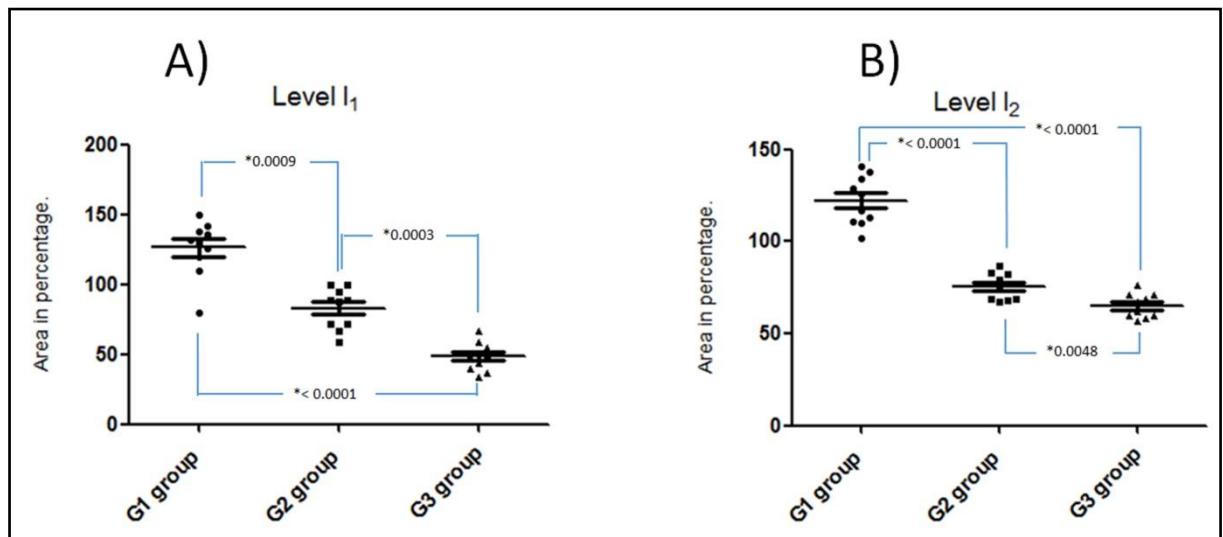


Figure 10: Graph of the data distribution and statistical analysis of the groups regards the percentage area occupied by the new bone in the 2 levels. (*) Significant differences, $p < 0.05$.

Tables legends

	G1 group		G2 group		G3 group		P value
	Mean ± Sd	Median	Mean ± Sd	Median	Mean ± Sd	Median	
Level I ₁	0.68 ± 0.13	0.67	0.57 ± 0.10	0.56	0.61 ± 0.12	0.59	0.066
Level I ₂	1.21 ± 0.16	1.18	0.65 ± 0.10	0.63	0.76 ± 0.13	0.80	*<0.0001

Table 1. Friedman test of distance implant-crest (dIC) values measured at 8 weeks.
Results as mean and medians. (*) Significant differences, p <0.05.

	G1 group		G2 group		G3 group		P value
	Mean ± Sd	Median	Mean ± Sd	Median	Mean ± Sd	Median	
Level I ₁	126 ± 19.8	131	83 ± 14.5	89	49 ± 10.2	50	*<0.0001
Level I ₂	122 ± 13.3	122	76 ± 7.2	76	65 ± 6.5	65	*<0.0001

Table 2. Friedman test of area of bone formation in percentage (%) of the values measured at 8 weeks. Results as mean and medians. (*) Significant differences, p <0.05.

5. CONCLUSÕES

Dentro das limitações do presente estudo, o acompanhamento histológico de 8 semanas mostraram que o diâmetro do implante e a posição intra-óssea são importantes fatores na formação crestal e selamento tecidual peri-implantar.

Observou-se neste estudo que a implante inserido a 2 mm da profundidade e de menor diâmetro, apresentaram melhores resultados comparados a inseridos a 1 mm e diâmetro mais largos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986;1:11–25.
2. Hermann JS, Cochran DL, Nummikoski PV, Buser D. Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 1997;68:1117–1130.
3. Hermann J, Buser D, Schenk RK, Schoolfield JD, Cochran DL. Biologic width around one- and two-piece titanium implants. A histometric evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:559–571.
4. Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *J Periodontol* 2001;72:1372–1383.
5. 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;16:475–485.
6. Todescan F, Pustiglioni F, Imbronito A, Albrektsson T, Gioso M. Influence of the microgap in the peri-implant hard and soft tissues: A histomorphometric study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:467–472.
7. Piattelli A, Vrespa G, Petrone G, Lezzi G, Annibali S, Scarano A. Role of the microgap between implant and abutment: A retrospective histologic evaluation in monkeys. *J Periodontol* 2003;74:346–352.
8. Lazzara R, Porter S. Platform Switching: A New Concept in Implant Dentistry for Controlling Post restorative Crestal Bone Levels. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:9–17.

9. Canullo L, Iannello G, Penarocha M, Garcia B. Impact of implant diameter on bone level changes around platform switched implants: preliminary results of 18 months followup. A prospective randomized match-paired controlled trial. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23:1142 - 1146.
10. Enkling N, Johren P, Katsoulis J, Bayer S, Jervoe-Storm PM, Mericske-Stern R et al. Influence of platform switching on bone-level alterations: a three-year randomized clinical trial. *J Dent Res.* 2013;92:139–45.
11. Romanos GE, Gaertner K, Aydin E, Nentwig GH. Long-term results after immediate loading of platform-switched implants in smokers versus nonsmokers with full-arch restorations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013;28:841–845.
12. Crespi R, Cappare P, Gherlone E. Radiographic evaluation of marginal bone levels around platform-switched and non-platform-switched implants used in an immediate loading protocol. *Int J Oral MaxillofacImplants.* 2009;24:920–926.
13. Vandeweghe S, De Bruyn H. A within-implant comparison to evaluate the concept of platform switching: a randomized controlled trial. *Eur J Oral Implantol.* 2012;5:253–262.
14. Telleman G, Raghoobar GM, Vissink A, Meijer HJ. Impact of platform switching on inter-proximal bone levels around short implants in the posterior region; 1-year results from a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012;39:688–697.
15. Storm PM, Bayer S. Open or submerged healing of implants with platform switching: a randomized, controlled clinical trial. *J ClinPeriodontol.* 2011;38:374–384.
16. Enkling N, Johren P, Klimberg V, Bayer S, Mericske-Stern R, Jepsen S. Effect of platform switching on peri-implant bone levels: a randomized clinical trial. *Clin Oral ImplantsRes.* 2011;22:1185–1192.
17. Canullo L, Goglia G, Iurlaro G, Iannello G. Short-term bone level observations associated with platform switching in immediately placed and restored single maxillary implants:a preliminary report. *Int J Prosthodont.* 2009;22:277–282.
18. Romanos GE, Malmstrom H, Feng C, Ercoli C, Caton J. Immediately loaded platform-switched implants in the anterior mandible with fixed prostheses: a randomized, splitmouth, masked prospective trial. *Clin Implant Dent RelatRes.* 2013. doi: 10.1111/cid.12065.
19. Canullo L, Fedele GR, Iannello G, Jepsen S. Platformswitching and marginal bone-level alterations: the results of a randomized-controlled trial. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:115–121.

20. Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. The mucosal barrier following abutment dis/reconnection. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1997;24:568–572.
21. Steinebrunner L, Wolfart S, Bossmann K, Kern M. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20:875–81.
22. Merz BR, Hunenbart S, Belser UC. Mechanics of the implant-abutment connection: an 8-degree taper compared to a butt joint connection. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15:519–26.
23. Veis A, Parissis N, Tsirlis A, Papadeli C, Marinis G, Zogakis A. Evaluation of peri-implant marginal bone loss using modified abutment connections at various crestal level placements. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010;30:609–617.
24. Canullo L, Iannello G, Gotz W. The influence of individual bone patterns on peri-implant bone loss: preliminary report from a 3-year randomized clinical and histologic trial in patients treated with implants restored with matching-diameter abutments or the platform-switching concept. *Int J OralMaxillofac Implants.* 2011;26:618–630.
25. Macedo JP, Pereira J, Vahey BR, Henriques B, Benfatti CA, Magini RS, et al. Morse taper dental implants and platform switching: The new paradigm in oral implantology. *Eur J Dent* 2016;10:148-54.
26. Jokstad A, Braegger U, Brunski JB, Carr AB, Naert I, Wennerberg A. Quality of dental implants. *Int Dent J* 2003;53:409-43.
27. Schmitt CM, Nogueira- Filho G, Tenebaum HC, Lai JY, Brito C, Doring H, Nonhoff J. Performance of conical abutment (Morse taper) connection implants: A systematic review. *J Biomed Mater Res A* 2014;102:552-74.
28. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. *In vitro* evaluation of the implant- abutment bacterial seal: The locking taper system. *Int J OralMaxillofac Implants* 2005;20:732-7.
29. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of ‘pristine’ peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:25-37.
30. Novaes AB Jr, de Oliveira RR, Muglia VA, Papalexiou V, Taba M. The effects of interimplant distances on papilla formation and crestal resorption in implants with a Morse cone connection and a platform switch: A histomorphometric study in dogs. *J Periodontol* 2006;77:1839-49.
31. Choi KS, Lozada JL, Kan JY, Lee SH, Kim CS, Kwon TG. Study of an experimental microthreaded scalloped implant design: Proximal bone healing at

- different interimplant distances in a canine model. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:681-9.
32. Canullo L, Pellegrini G, Allievi C, Trombelli L, Annibali S, Dellavia C. Soft tissues around long-term platform switching implant restorations: A histological human evaluation. Preliminary results. *J Clin Periodontol* 2011;38:86-94.
33. Farronato D, Santoro G, Canullo L, Botticelli D, Maiorana C, Lang NP. Establishment of the epithelial attachment and connective tissue adaptation to implants installed under the concept of "platform switching": A histologic study in minipigs. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:90-4.
34. Novaes AB Jr, Barros RR, Muglia VA, Borges GJ. Influence of interimplant distances and placement depth on papilla formation and crestalresorption: A clinical and radiographic study in dogs. *J Oral Implantol* 2009;35:18-27.
35. Degidi M, Nardi D, Piattelli A. One abutment at one time: Non-removal of an immediate abutment and its effect on bone healing aroundsubcrestal tapered implants. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:1303-7
36. Schmitt CM, Nogueira-Filho G, Tenebaum HC, Lai JY, Brito C, Doring H, Nonhoff J. Performance of conical abutment (Morse taper) connection implants: A systematic review. *J Biomed Mater Res A* 2014;102:552-74.
37. Dedigi M, Novaes AB, Nardi D, Piattelli A. Immediately loaded titanium implant with a tissue stabilizing/maintaining design (beyond platform switch) retrieved from man after 4 weeks: A histological and histomorphometrical evaluation. A case report. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:276-82.
38. Alonso-Gonzalez R, Aloy-Prosper A, Penarrocha-Oltra D, Penarrocha-Diago MA, Penarrocha-Diago M. Marginal bone loss in relation to platform switching implant insertion depth: An update. *J ClinExp Dent* 2012; 4:173–179.
39. Mario Aimetti, Francesco Ferrarotti, Giulia Maria Mariani, Carlo Ghelardoni, Federica Romano. Soft Tissue and Crestal Bone Changes Around Implants with Platform-Switched Abutments Placed Nonsubmerged at Subcrestal Position: A 2-Year Clinical and Radiographic Evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015;30:1369–1377.
40. Broggini N, McManus LM, Hermann JS. Peri-implant inflammation defined by the implant–abutment interface. *J Dent Res* 2006;85:473-478.
41. Pontes AE, Ribeiro FS, da Silva VC. Clinical and radiographicchanges around dental implants inserted in different levels in relationto the crestal bone, under different restoration protocols, in the dog model. *J Periodontol* 2008;79:486–494.
42. Fickl S, Zuh O, Stein JM, Hurzeler MB. Peri-implant bone level around implants with platform-switched abutments. *Int J OralMaxillofac Implants* 2010;25:577–581.

43. Degidi M, Perrotti V, Shibli JA, Novaes AB, Piattelli A, Iezzi G. Equicrestal and subcrestal dental implants: A histologic and histomorphometric evaluation of nine retrieved human implants. *J Periodontol* 2011;82:708–715.
44. Alonso-Gonzalez R, Aloy-Prosper A, Penarrocha-Oltra D, Penarrocha-Diago MA, Penarrocha-Diago M. Marginal bone loss in relation to platform switching implant insertion depth: An update. *J ClinExp Dent* 2012; 4:173–179.
45. Koutouzis T, Neiva R, Nonhoff J, Lundgren T. Placement of Implant with Platform-Switched Morse Taper Connections with the Implant-Abutment Interface at Different Levels in Relation to the Alveolar Crest: A Short-Term (1 Year) Randomized Prospective Controlled Clinical Trial. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28:1553-1563.
46. Fetner M, Fetner A, Koutouzis T, Clozza E, Tovar N, Coelho P, Neiva K, Janal N, Neiva R. The Effects of Subcrestal Implant Placement on Crestal Bone Levels and Bone-to-Abutment Contact: A Microcomputed Tomographic and Histologic Study in Dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015;30:1068-1075.
47. Linkevicius, T., Apse, P., Grybauskas, S. &Puisys, A. The influence of soft tissue thickness on crestal bone changes around implants: a 1-year prospective controlled clinical trial. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 2009; 24: 712–719.
48. Linkevicius, T., Apse, P., Grybauskas, S. &Puisys, A. Influence of thin mucosal tissues on crestal bone stability around implants with platform switching: a 1-year pilot study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2010; 68: 2272–2277.
49. Heinemann, F., Hasan, I., Schwahn, C., Biffar, R. &Mundt, T. Crestal bone resorption around platform-switched dental implants with fine threaded neck after immediate and delayed loading. *Biomedizinische Technik* 2010; 55: 317–321.
50. Petrie, C.S. & Williams, J.L Comparative evaluation of implant designs: influence of diameter, length, and taper on strains in the alveolar crest. A three-dimensional finite-element analysis. *Clinical Oral Implants Research* 2005;16: 486–494.
51. Baggi, L., Cappelloni, I., Di Girolamo, M., Maceri, F. &Vairo, G. The influence of implant diameter and length on stress distribution of osseointegrated implants related to crestal bone geometry: a three-dimensional finite element analysis. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 2008;100:422–431.
52. Ding, X., Liao, S.H., Zhu, X.H., Zhang, X.H. & Zhang, L. Effect of diameter and length on stress distribution of the alveolar crest around immediate loading implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2009; 11: 279–287.

53. Baffone GM, Botticelli D, Canullo L, Scala A, Beolchini M, Lang NP. Effect of mismatching abutments on implants with wider platforms – an experimental study in dogs. *Clin. Oral Impl. Res.* 2012; 23:334–339 .
54. Montaser N Al-Qutub, Radiologic evaluation of the marginal bone loss around Dental implants with different neck diameters. *Pakistan Oral & Dental Journal* 2011; Vol 31, No. 1

7. ANEXOS



CEUA
Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “**Avaliação histomorfométrica da osseointegração de implantes com diferentes tratamentos de superfícies**”, protocolado sob o nº 004-09-2015, utilizando até 24 (vinte e quatro *Oryctolagus cuniculus*), sob a responsabilidade do Prof. Msc Jaime Sardá Aramburú Junior, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da “Comissão de Ética no Uso de Animais” da FAI Faculdades de Itapiranga e foi aprovado em reunião de 24/09/2015.

We certify that Research “**Histomorphometric evaluation of osseointegration implants with different surface treatments**”, protocol number 004-09-2015, utilizing until 24 (twenty four *Oryctolagus cuniculus*), under responsibility Prof. Msc Jaime Sardá Aramburú Junior, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by “Ethic Committee in the Use of Animals” of the FAI Faculty of Itapiranga and was approved in the meeting of day 09/24/2015.

Itapiranga, 24 de setembro de 2015.

Sergio Henrique Mioso Cunha
Vice - Presidente

