

Avaliação da proteína reguladora da formação óssea (osteocalcina) em sítios implantáveis da maxila e mandíbula e sua relação com classificações clínico-radiográficas dos tipos ósseos

Ana Livia Novaes MONTEIRO, Andrea de Castro PEREIRA, Aline Carvalho BATISTA, Rejane Faria RIBEIRO-ROTTA

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Goiás
analivia.monteiro@gmail.com, rejanefr@gmail.com

Palavras-chave: Implante dentário, densidade óssea, osteocalcina, imunoistoquímica

Revisado pelo orientador.

Orientanda: Ana Livia Novaes Monteiro (Aluna de Graduação, Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Goiás – UFG)

Orientadora: Rejane Faria Ribeiro-Rotta (Professora Associada, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Goiás – UFG)

1. INTRODUÇÃO

Inúmeras tentativas para o estabelecimento de parâmetros quantitativos que avaliam os tipos ósseos da maxila e mandíbula tem sido apresentadas na literatura, visando facilitar a avaliação do prognóstico do tratamento com implantes dentários osseointegrados. A quantidade, densidade e qualidade do tecido ósseo são apontadas como fatores importantes no resultado do tratamento com implantes (LINDH et al. OBRANT; PETERSSON, 2004). Entretanto, não há evidências na literatura sobre o real impacto dessas variáveis ou características ósseas no sucesso terapêutico e da eficácia dos métodos utilizados para acessá-las (RIBEIRO-ROTTA, LINDH, ROHLIN, 2007). A fisiopatologia do insucesso na osseointegração de implantes não está totalmente esclarecida.

O termo qualidade óssea é complexo, compreendendo vários parâmetros microscópicos, morfológicos, moleculares (LINDH; OBRANT; PETERSSON, 2004) e biomecânicos como a forma (BECKER et al. 1997; BERGKVIST et al. 2004; OSTMAN et al. 2006; HERRMANN et al. 2007; ALSAADI et al. 2008), nível de mineralização (FRIBERG et al. 1995; CHOEL et al 2003; GULSAHI et al. 2007) e microarquitetura trabecular ou cortical (RAZAVI et al. 1995; CHOEL et al 2004), sem uma definição consensual na literatura. Porém, esse termo é utilizado em diferentes classificações clínicas subjetivas (MISCH, 1990; LEKHOLM & ZARB, 1985) para o planejamento e prognóstico do tratamento com implantes. A análise da qualidade óssea, sob o ponto de vista molecular, ainda não foi estudada e tem potencial para contribuir para um melhor entendimento da característica óssea.

Das classificações que têm sido sugeridas para o tecido ósseo da maxila e mandíbula, a mais amplamente utilizada é aquela proposta por Lekholm e Zarb (1985), oriunda de um capítulo de um livro (BRÅNEMARK; ZARB; ALBREKTSSON, 1985) de prótese sobre implante publicado em 1985. Os autores categorizam o osso em quatro grupos quanto à qualidade óssea, baseando-se em exames clínicos e radiográficos (percepção tátil subjetiva do cirurgião durante a perfuração do sítio implantável; e as radiografias panorâmicas, periapicais e cefalométricas): Tipo 1 – osso residual formado por osso cortical homogêneo; Tipo 2 – osso residual formado por uma camada espessa de osso cortical circundando osso esponjoso denso; Tipo 3 – osso residual formado por uma camada fina de osso cortical circundando osso esponjoso denso; Tipo 4 – osso residual formado por uma camada fina de osso cortical circundando osso esponjoso de baixa densidade..

Lindh e colaboradores (1996) sugeriram uma nova classificação para avaliar o padrão ósseo trabecular com o auxílio de radiografias periapicais. Eles classificaram em três categorias, identificadas de acordo com o aspecto radiográfico apenas do osso trabecular (denso, heterogêneo, esparso) em radiografias periapicais, porém utilizando imagens de referência validadas para o estabelecimento da classificação (LINDH et al., 1996): osso de padrão trabecular homogeneamente denso; osso de padrão trabecular heterogêneo; osso de padrão trabecular homogeneamente esparso.

A identificação imunoistoquímica de reguladores da remodelação óssea pode contribuir para a investigação da fisiopatologia óssea em sítios implantáveis e pode, em associação aos exames por imagem, contribuir para a caracterização da qualidade óssea no contexto da implantodontia. A osteocalcina (OC) é uma proteína sintetizada pelos osteoblastos e uma de suas funções está relacionada à ligação do cálcio à matriz óssea, podendo ser utilizada como um marcador bioquímico da formação óssea. A concentração sérica de OC reflete a atividade dos osteoblastos maduros e representa uma pequena parcela sintetizada pelos osteoblastos, uma vez que a maior parte dessa fração está ligada à hidroxiapatita na matriz óssea. O papel exato desta proteína na remodelação óssea não foi completamente elucidado, no entanto, mostrou-se como uma via importante da ativação da formação óssea através do seu efeito sobre os osteoblastos (HAN et al., 2008). Logo, identificar e quantificar tal mediador pode abrir novos “insights” na definição da “qualidade óssea” e seu impacto no planejamento e resultado do tratamento com implantes dentários.

Os objetivos deste estudo foram de identificar, quantificar e avaliar a expressão da molécula responsável pela formação óssea, a osteocalcina, em sítios implantáveis da maxila e mandíbula e, investigar a relação da expressão dessa proteína com os diferentes tipos ósseos segundo as classificações subjetivas clínico-radiográficas propostas na literatura e utilizada na rotina do tratamento com implantes dentários.

2. METODOLOGIA

2.1. Seleção e caracterização da amostra

A amostra desse estudo experimental foi composta por 46 espécimes ósseos, obtidos por biópsias realizadas durante o preparo dos sítios implantáveis de maxila e mandíbula, de pacientes com indicação para tratamento com implantes dentários. Esses pacientes integram parte da amostra do projeto de pesquisa intitulado “Avaliação clínica, radiográfica, histomorfométrica e molecular de sítios para implantes da maxila e mandíbula”, submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (CEP/UFG)

(Processo n. 114/2007) e Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (Processo n.418/2008). Os espécimes foram obtidos por meio de uma trefina, de 3.0mm/diâmetro externo X 2,7mm/diâmetro interno (Neodent, Curitiba, PR), especialmente desenvolvida para a pesquisa. A trefina que serviu como fresa inicial do preparo do alvéolo cirúrgico para colocação do implante, permitindo a obtenção dos espécimes ósseos cujas dimensões variaram de 2,5mmX2,7mm a 13mmX2,7mm (média 7mmX2,7mm). Logo após a remoção os espécimes foram irrigados com soro fisiológico, fixados em formol 10% tamponado, desmineralizados, processados, incluídos em bloco de parafina e seccionados em micrótomo (Leica RM2165) para confecção das lâminas para estudo microscópico.

Os critérios de inclusão dos voluntários que participaram da amostra foram estabelecidos sob o ponto de vista clínico (anamnese e exame físico), radiográfico (radiografias periapicais, panorâmica e tomografia computadorizada) e laboratorial (hemograma e coagulograma). Foram incluídos na amostras aqueles que apresentaram boas condições de saúde geral, fossem parcialmente desdentados, com boas condições ósseas e dimensões mínimas para a instalação de um implante de 3,75 mm de diâmetro por 9,0 mm de comprimento. Todos deveriam apresentar exames laboratoriais dentro dos padrões de normalidade.

2.2. Classificações clínico-radiográfica dos sítios ósseos

Para a classificação clínico-radiográfica os três cirurgiões-examinadores passaram por calibração realizada por meio de simulação em mandíbula suína e discussão da metodologia a ser empregada. Cada examinador avaliou, individual e separadamente, os exames por imagem previamente e durante a cirurgia. Cada cirurgião interpretou apenas os sítios a serem operados por ele, utilizando as três classificações subjetivas descritas a seguir, pois para uma delas requeria a associação da interpretação radiográfica com a percepção tátil do cirurgião durante a perfuração do sítio ósseo, o que impossibilitava a realização dessa classificação por mais de um cirurgião.

A obtenção das radiografias periapicais e panorâmica seguiu padronização técnica previamente testada, tendo sido adotado critérios de controle de qualidade do processamento radiográfico. Para a interpretação radiográfica foi utilizado um negatoscópio (Apollo Portable Light Box modelo LB 100, 15W, Ronkon Koma, New York) com máscaras negras adequadas para as radiografias panorâmicas e periapicais, com a finalidade de bloquear o excesso de luz ao redor da imagem. Esse dispositivo foi colocado em ambiente adequado para interpretação de radiografias (luz ambiente reduzida, luminância inferior a 40 lux) (ROGERS;

JOHNSTON; PIZER, 1987), sendo que o mesmo apresentava uma luminância média de 3.500 lux, medida previamente à sua utilização, com um luxímetro digital (Digital Lux Meter MLM-1332, Minipa), estando de acordo com recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, MS).

2.2.1. Avaliação óssea subjetiva baseada em radiografias associadas ou não à percepção tátil do cirurgião (Lekholm & Zarb, 1985)

A interpretação das imagens foi realizada pelo cirurgião minutos antes de cada cirurgia, sendo que o mesmo recebeu um cartão de calibração com um desenho esquemático e descrição dos quatro tipos ósseos de acordo Lekholm & Zarb (1985) (Figura 1), o qual serviu como referência durante a análise das imagens dos pacientes. A classificação foi estabelecida com base nas radiografias panorâmica e periapical de cada sítio implantável e registrada em formulário específico do prontuário do paciente. Esse método foi identificado nesse estudo como classificação modificada de Lekholm & Zarb (PP), pois não inclui a percepção tátil do cirurgião obtida durante a perfuração óssea, como na descrição original dos referidos autores.

No ato cirúrgico, revendo a classificação PP previamente estabelecida por meio das radiografias, o cirurgião classificou o tipo ósseo durante a perfuração exploratória do sítio implantável, realizada com broca tipo trefina (Neodent, Curitiba, PR). Por meio da associação das duas informações subjetivas pré e transcirúrgicas, a classificação óssea final de cada sítio implantável foi estabelecida e registrada no prontuário do paciente. Esse método foi nomeado, neste estudo, de Lekholm e Zarb original (L&Z), visto que foi executado o mais próximo possível da descrição dos autores (LEKHOLM; ZARB, 1985).

2.2.2. Avaliação óssea subjetiva baseada no padrão trabecular de radiografias periapicais (LINDH et al., 1996)

As interpretações das radiografias periapicais dos pacientes foram realizadas utilizando imagens radiográficas periapicais de referência dos três padrões ósseos trabeculares, em maxila e mandíbula, publicadas no estudo de Lindh e colaboradores (2008). Essas imagens foram apresentadas em um monitor 15,6'' (Placa de vídeo Mobile Intel R 945GM Express Chipset Family) de um microcomputador laptop (Inspiron 640m, Dell, EUA), posicionado ao lado do negatoscópio com o exame de cada paciente, em local com luz ambiente reduzida. Os examinadores passaram por calibração e discussão das características das imagens e diferenças no padrão trabecular entre os três grupos.

O padrão ósseo trabecular foi avaliado pelos examinadores minutos antes de cada cirurgia, os quais classificaram os sítios implantáveis em um dos três grupos (padrão trabecular denso homogêneo, padrão trabecular heterogêneo e padrão trabecular esparso) propostos por Lindh et al. (1996), e registraram o padrão trabecular estabelecido no prontuário do paciente. Essa classificação foi nomeada, nesse estudo, de Lindh.

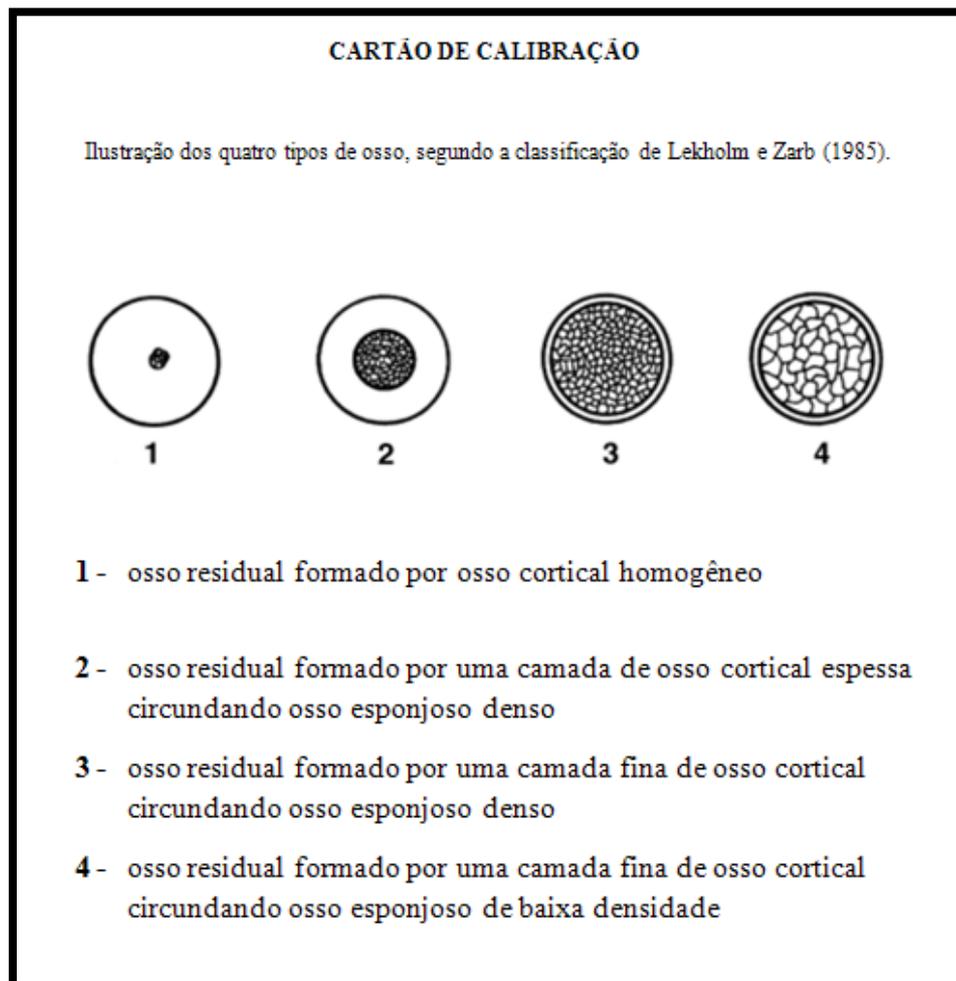


Figura 1. Cartão de calibração usado pelo examinador para realização da classificação radiográfica (PP e L&Z) dos sítios ósseos.

2.3. Técnica da Imunoistoquímica

Cortes seriados de 3µm foram obtidos e recolhidos por lâminas de vidro silanizadas com 3-aminopropiltriethylsilano a 2% (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) e submetidos à técnica da imunoistoquímica por meio do método do polímero para identificação da OC. Inicialmente, os cortes sobre as lâminas foram desparafinizados e hidratados por meio de: 1-xilol, 3 vezes, 10 minutos cada vez; 2-álcool absoluto, 3 vezes, 2 minutos cada vez; 3-álcool etílico 95% 1 vez, 2 minutos; 4-solução salina tamponada de Tris (TBS), pH=7.2- 1 minuto. Em seguida, as lâminas foram incubadas em peróxido de hidrogênio (Merck) a 3% com metanol, por 40 minutos, para o bloqueio da peroxidase endógena. Imediatamente, as lâminas foram novamente lavadas com TBS e, em seguida, foram incubadas em solução TBS-BSA por 20 minutos, a fim de se obter o bloqueio das ligações protéicas inespecíficas. Novamente as lâminas foram lavadas com TBS e, em seguida, incubadas com os anticorpos primários (Tabela 2), por 18 horas e mantidas na temperatura de 4°C. Todas as diluições foram realizadas utilizando PBS associado a soro albumina bovina (PBS-BSA) a 1%. As diluições dos anticorpos foram determinadas em etapa de padronização. Após o período de 18 horas, foram realizadas lavagens consecutivas e, posteriormente, as lâminas foram incubadas com os anticorpos. As lâminas foram incubadas com anticorpos anti-IgG de coelho ligados a polímero (EnVision + Dual Link System-HRP, K4061, DAKO) durante 90 minutos para os anticorpos OC (Tabela 1). As lâminas foram novamente lavadas com TBS e foi realizada a revelação da reação utilizando o 3.3'-Diaminobenzidina (DAB) em uma solução cromogênica (K3468, DAKO), por 15 segundos à temperatura ambiente. A reação foi interrompida com água destilada e as lâminas contra-coradas com hematoxilina por 15 segundos, à temperatura ambiente. Após lavadas com água corrente por 10 minutos, as lâminas foram desidratadas com álcoois, passadas em xilol e montadas com solução de resina não aquosa (Entellan-Mikroskopie-Merck). Em todas as reações realizadas foram utilizadas amostras de rim como controle positivo para o anticorpo OC.

Tabela 1 - Anticorpo utilizado

Anticorpo	Descrição	Diluição	Código	Fabricante
Osteocalcina	Policlonais de coelho anti-OC	1:50	FL-100, sc30044	Santa Cruz Biotechnology, CA, USA

2.4. Análise dos Dados

Os espécimes foram agrupados de acordo com a classificação clínico-radiográfica dos sítios implantáveis, estabelecida pelos cirurgiões nas etapas de planejamento e trans-cirúrgicas. Os grupos foram associados com suas respectivas variáveis de expressão imunoistoquímica. Para análise estatística dos dados foram utilizados testes não-paramétricos: a) Spearman's rho para a correlação entre as diferentes classificações clínico-radiográficas e a expressão do marcador de metabolismo ósseo OC; b) Teste de Kruskal-Wallis para comparação dos grupos experimentais independentes entre si. As diferenças foram consideradas significativas para valores de $P < 0.05$. Os testes estatísticos foram aplicados utilizando-se o programa SPSS 17 for Windows.

3. RESULTADOS

Um total de trinta e dois pacientes (19 mulheres, 13 homens) com uma média de idade de 41,9 anos, (idade mínima: 25 anos; idade máxima: 67 anos) foram incluídos na amostra deste estudo. Dos 46 espécimes obtidos a partir de sítios ósseos implantáveis desses pacientes, 28 foram da região posterior da mandíbula, 9 da maxila anterior e 9 da maxila posterior. Todos os voluntários com região anterior de mandíbula edêntula não cumpriram os critérios de inclusão no estudo. A distribuição dos sítios de acordo com a localização é apresentada na Tabela 2.

Os tipos ósseos mais frequentes foram o tipo 3 de acordo com a classificação PP (46%), e L&Z original (32%) e tipo 2 de acordo com a classificação de Lindh (54%) (Tabela 3).

Tabela 2. Distribuição dos sítios de acordo com a localização anatômica

Localização	n	%
Maxila Anterior	9	19,6%
Maxila Posterior	9	19,6%
Mandíbula Anterior	-	-
Mandíbula Posterior	28	60,9%

n- número absoluto de sítios

Tabela 3. Frequência dos tipos ósseos de acordo com as classificações PP, L&Zoriginal e Lindh

Tipo Ósseo	PP		L&Zoriginal		Lindh	
	n	%	n	%	n	%
1	5	11	9	20	16	35
2	14	30	12	26	25	54
3	21	46	15	32	5	11
4	6	13	10	22	–	–
TOTAL	46	100	46	100	46	100

n - número absoluto de sítios

Os resultados não revelaram correlação significativa entre os tipos ósseos das classificações PP, L&Zoriginal e Lindh com a expressão do regulador do metabolismo ósseo OC (Tabela 4). A expressão imunoistoquímica da referida proteína (Figura 2) não demonstrou diferença significativa entre os diferentes tipos ósseos das três classificações utilizadas, quando aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, (Tabela 5).

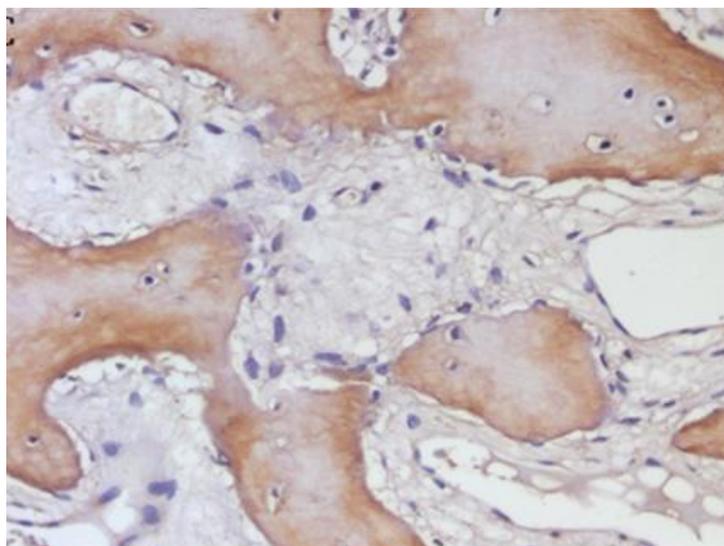


Figura 2 - Expressão imuno-histoquímica da osteocalcina em osso tipo 2, de acordo com o sistema de classificação L & Z (coloração imuno-histoquímica, X40 ampliação original).

Tabela 4 - Correlação entre as classificações clínico-radiográficas e a expressão imunoistoquímica do regulador do metabolismo ósseo (OC) (n = 46 espécimes ósseas).

	Osteocalcina
PP	-0,20 (n.s.)
L&Zoriginal	-0,19 (n.s.)
Lindh	-0,24 (n.s.)

Correlação de Spearman, $p < 0,01$; n.s = correlação não significativa

Tabela 5 - Posto médio da expressão dos marcadores do metabolismo ósseo de cada classificação dos tipos ósseos (n = 46)

Tipo Ósseo	Osteocalcina		
	PP	L&Zoriginal	Lindh
1	27,6	25,7	26,0
2	24,0	21,4	21,6
3	21,5	25,6	16,2
4	18,3	16,0	-
<i>P*</i>	0,63	0,25	0,29

*Teste de *Kruskal-Wallis*

4. DISCUSSÃO

A fraca correlação observada no presente estudo entre um marcador do metabolismo ósseo e os diferentes tipos de osso, pode ser devido ao fato de que as análises foram realizadas no osso "normal", sugerindo que esses marcadores não influenciam aspectos morfométricos da maxila e mandíbula. A análise da expressão gênica do tecido poderia fornecer maior compreensão da expressão desse marcador. Sugere ainda, a presença de um processo de controle responsável por manter a integridade da maxila/mandíbula, no qual as proteínas que regulam a reabsorção óssea parece estar em equilíbrio. A caracterização dessas moléculas, especialmente o sistema recentemente descoberto, RANK-RANKL-OPG, e seu papel no processo de remodelação óssea pode contribuir para complementação desse estudo.

Neste estudo, os espécimes ósseos foram agrupados de acordo com a classificação de tipos ósseos, segundo as três metodologias utilizadas: PP (simulando rotina clínica empírica), L&Zoriginal (LEKHOLM,ZARB, 1985) e Lindh (LINDH et al, 1997). Os critérios de cada uma das classificações foram associados com sua respectiva expressão imunológica de regulador do metabolismo ósseo (OC), na expectativa de estabelecer uma correlação útil para integrar as ferramentas utilizadas no entendimento das características ósseas que determinam a qualidade desse tecido.

Os resultados também sustentam a necessidade de mais estudos com uma amostra mais homogênea e maior, a fim de compreender as variações morfológicas entre os ossos da mandíbula e maxila e seu impacto sobre os resultados do tratamento de implante.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo, pode-se concluir que a molécula reguladora da remodelação óssea parece não exercer influência nos aspectos morfológicos da maxila e mandíbula. Estudos com amostras mais amplas e homogêneas são necessários.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi subsidiado por auxílio a pesquisa concendido pela FAPEG – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Goiás; CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e ILAPEO - Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico, Curitiba.

REFERÊNCIAS

ALSAADI, G.; QUIRYNEN, M.; MICHILES, K.; TEUGHELS, W.; KOMAREK, A. & VAN STEENBERGHE, D. Impact of local and systemic factors on the incidence of failures up to abutment connection with modified surface oral implants. **Journal of Clinical Periodontology**. v 35, p. 51-57, 2008

ASKARY ASE, MEFFERT RM, GRIFFIN T. Why do dental implants fail? Part II. **Implant dentistry** v. 8 n.3 p. 265-277, 1999

BECKER, W.; BECKER, B.E.; ISRAELSON, H.; LUCCHINI, J.P.; HANDELSMAN, M.; AMMONS, W.; ROSENBERG, E.; ROSE, L.; TUCKER, L.M. & LEKHOLM, U. One-step surgical placement of branemark implants: A prospective multicenter clinical study. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants** . v. 12 p. 454-462,1997

BERGKVIST, G.; SAHLHOLM, S.; NILNER, K. & LINDH, C. Implant-supported fixed prostheses in the edentulous maxilla. A 2-year clinical and radiological follow-up of treatment with non-submerged ITI implants. **Clinical Oral Implants Research**. v. 15 p. 351-359, 2004

BRÂNEMARK P-I, ZARB GA, ALBREKTSSON T (eds). Tissue-Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry. Chicago: **Quintessence**, p.199–209, 1985

CHOEL, L.; DUBOEUUF, F.; BOURGEOIS, D.; BRIGUET, A. & LISSAC, M. Trabecular alveolar bone in the human mandible: A dual-energy x-ray absorptiometry study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**. v. 95 p. 364-370, 2003

CHOEL, L.; LAST, D.; DUBOEUUF, F.; SEURIN, M.J.; LISSAC, M.; BRIGUET, A. & GUILLOT, G. Trabecular alveolar bone microarchitecture in the human mandible using high resolution magnetic resonance imaging. **Dentomaxillofacial Radiology**. v. 33 p. 177-182, 2004

DALLE CL, VALENTI MT, BERTOLDO F, ZANATTA M, ZENARI S, REALDI G, CASCIO VLO, GIANNINI S. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. **Micron** v. 36 p.609-16, 2005

ESPOSITO M, HIRSH JM, LEKHOLM U, THOMPSEN P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. Part I: Success criteria and epidemiology. **Eur J Oral Sci** v. 106 p.527-551, 1998

ESPOSITO M, HIRSH JM, LEKHOLM U, THOMPSEN P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. Part II: Etiopathogenesis **Eur J Oral Sci** v. 106 p.721-764, 1998

FRIBERG, B.; SENNERBY, L.; ROOS, J. & LEKHOLM, U. Identification of bone quality in conjunction with insertion of titanium implants. A pilot study in jaw autopsy specimens. **Clinical Oral Implants Research**. v. 6 p. 213-219, 1995

GULSAHI, A.; PAKSOY, C.S.; YAZICIOGLU, N.; ARPAK, N.; KUCUK, N.O. & TERZIOGLU, H. Assessment of bone density differences between conventional and bone-condensing techniques using dual energy x-ray absorptiometry and radiography. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**. v. 104 p. 692-698, 2007

HAN X-L , MENG Y, KANG N, Lv T, BAI D. Expression of osteocalcin during surgically assisted rapid orthodontic tooth movement in beagle dogs. **J Oral Maxillofac Surg**. v. 66 n.12 p.2467-75, 2008

HERRMANN, I.; KULTJE, C.; HOLM, S. & LEKHOLM, U. A study on variances in multivariate analyses of oral implant outcome. **Clinical Implant Dentistry and Related Research** v. 9 p. 6-14, 2007

LEKHOLM U, ZARB GA. Patient selection and preparation. In: Brånemark, P-I; Zarb GA; Albrektsson T et al. Tissue integrated prostheses: Osseointegration in clinical dentistry. Chicago: **Quintessence Publ Co.**; p.199-209, 1985

LINDH C, PETERSON A, ROHLIN M. Assessment of the trabecular pattern before endosseous implant treatment: diagnostic outcome of periapical radiography in the mandible. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** v. 82 p.335-43, 1996

LINDH C, OBRANT K, PETERSSON A. Maxillary bone mineral density and its relationship to the bone mineral density of the lumbar spine and hip. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** v. 98 p.102-9, 2004

MCGUIGAN F, KUMAR J, IVASKA KK, OBRANT KJ, GERDHEM P, ÅKESSON K. Osteocalcin gene polymorphisms influence concentration of serum osteocalcin and enhance fracture identification. **J Bone Miner Res**. Jan 29, 2010

MISCH CE. Density of bone – Effect on treatment plans, surgical approach, and progressive loading. **Int J Implant** v. 6 p. 23-31, 1990

OSTMAN, P.O.; HELLMAN, M.; WENDELHAG, I. & SENNERBY, L. Resonance frequency analysis measurements of implants at placement surgery. **The International Journal of Prosthodontics**. v.19 p. 77-83; discussion 84, 2006

RAZAVI, R.; ZENA, R.B.; KHAN, Z. & GOULD, A.R. Anatomic site evaluation of edentulous maxillae for dental implant placement. **Journal of Prosthodontics**. v. 4 p. 90-94, 1995

RIBEIRO-ROTTA, R.F., LINDH, C. & ROHLIN, M. Efficacy of clinical methods to assess jawbone tissue prior to and during endosseous dental implant placement: A systematic literature review. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants** v. 22 p. 289-300, 2007

ROGERS DC, JOHNSTON RE, PIZER SM (1987). "The Effect of Ambient Light on Electronically Displayed Medical Images as Measured by Luminance Discrimination Thresholds." **Journal of Optical Society of America**, v.4 n.5 p.976-983, 1987