

FRANCISLEY ÁVILA SOUZA

**Estudo comparativo *in vivo* de
implantes *Ti-cp* com superfícies
comerciais e modificadas por
laser sem e com depósito de
sílica: Análises biomecânica,
topográfica e histométrica**

**ARAÇATUBA, SP
2010**

FRANCISLEY ÁVILA SOUZA

**Estudo comparativo *in vivo* de
implantes *Ti-cp* com superfícies
comerciais e modificadas por
laser sem e com depósito de
sílica: Análises biomecânica,
topográfica e histométrica**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do
campus de Araçatuba – Unesp, para obtenção do
grau de “Doutor” em Odontologia – Área de
concentração Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-
Facial

Orientador: Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda
Co-orientadores: Prof^a.Dr^a. Roberta Okamoto
Prof. Dr. Antônio Carlos Guastaldi

**ARAÇATUBA, SP
2010**

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Souza, Francisley Ávila

L Estudo comparativo *in vivo* de implantes *Ti-cp* com superfícies comerciais e modificadas por laser sem e com depósito de sílica: Análises biomecânica, topográfica e histomorfométrica.

Francisley Ávila Souza - Araçatuba : [s.n.],
2010

175 f.: il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2010

Orientador: Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda

Co-Orientadores: Prof^a Dr^a Roberta Okamoto

Prof. Dr. Antônio Carlos Guastaldi

1. Implante dentário, 2. Osseointegração, 3. Torque, 4. Laser;
5. Materiais biocompatíveis.

Black

Dados Curriculares

FRANCISLEY ÁVILA SOUZA

Nascimento: 27/11/71 - Alfenas - MG

Filiação: Leila Ávila Souza

Francisco de Paulo Souza

1991/1994: Graduação - UNILAVRAS – Unidade da Universidade do Estado de Minas Gerais.

2005/2007: Curso de Pós Graduação em Odontologia; Área de concentração Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial – Nível Mestrado – FOA – UNESP.

2007/2010: Curso de Pós Graduação em Odontologia; Área de concentração Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial – Nível Doutorado– FOA – UNESP.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese...

A **Deus**, pai e criador.

“A noção que temos de perfeição só pode vir de um ser perfeito, portanto a existência de Deus é algo tão evidente quanto o fato de que alguém que pensa ser um Eu pensante”. (Descartes, 1596-1650)

Aos meus pais **Francisco** e **Leila**, pela formação moral que me deram, tornando plenas minhas conquistas pessoais e profissionais.

A minhas filhas **Ingryd** e **Marina**, por transmitirem paz e felicidade, pelo carinho de sempre mesmo em meus momentos de ausência.

Aos meus irmãos **Nayara**, **Iguaratay** e **Araguacy**, pelo incentivo de sempre, e constante retaguarda oferecida. Vocês participaram ativamente desta conquista. Este título lhes pertence também.

A **Heloísa**, pelos momentos que não pude corresponder da forma que eu queria, e que você merecia, por seu incentivo, amor e companheirismo.

Aos Professores **Canísio Ignácio Lunkes** e **Aloísio Pimenta** por me possibilitarem o curso de odontologia em Lavras numa época difícil para a educação superior.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda** pela confiança depositada em mim, e oportunidade de aprendizado desde o início da pós-graduação. Agradeço a dedicação como orientador sempre disposto a ajudar de maneira compreensiva e paciente, e por permitir a realização deste trabalho mesmo fora da sua linha de pesquisa.

À minha co-orientadora, **Prof^a. Dr^a. Roberta Okamoto**, que soube ser orientadora e cúmplice neste, e em outros trabalhos, com sabedoria, dedicação, e acima de tudo carinho. Obrigado pela acolhida e transmissão de conhecimentos seguros, e precisos durante todo meu desenvolvimento nos cursos de mestrado e doutorado.

“A Faculdade de Odontologia de Araçatuba precisa muito de você, uma pesquisadora nata”.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. Antônio Carlos Guastaldi**, pela sua disposição de colaborar sempre. O meu muito obrigado, e sincera gratidão pelo estímulo permanente nestes três anos de convívio, em que fez semear em meu coração o sentimento de respeito e admiração.

Ao **Prof. Dr. Renato Sussumu Nishioka**, responsável pela minha iniciação na vida acadêmica, e principalmente pela preparação ao meu ingresso à pós-graduação. Não existem palavras para expressar minha gratidão e respeito. Muito obrigado pela feliz convivência nestes últimos nove anos.

“O homem não é o que tem ou pode. É um pouco o que sabe, muito o

que sonha, mas acima de tudo, o que faz aos outros.”

Manuel Afonso Melo

“Gratidão é o ato de ser grato a um benefício concedido. Sou grato a oportunidade concedida de voltar a vida acadêmica depois de quase 10 anos de profissão, e o posterior ingresso à pós-graduação.”

Aos meus chefes **Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior e Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho**, por servirem de modelo para minha vida acadêmica, profissional e pessoal. Vocês nos ensinaram a ser humanistas e profissionais, além de nos inserirem pelos caminhos da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial de forma segura, responsável, e principalmente com a filosofia de vanguarda. Recebam meu respeito e sincera gratidão pela confiança depositada, quando me convidaram para docência temporária que exerci neste departamento, sob o cargo de professor bolsista.

Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior

“Uma virtude procurada por todos e presente em poucos é a “TRANQUÍLIDADE ESTÓICA”. Ainda hoje referimos as estas poucas pessoas por não se deixarem inflamar por seus sentimentos, mesmo em momentos difíceis.”

Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho

“Pessoas cruzam nossos caminhos para nos passar energia boa, energia positiva, vista por muitos como “LUZ”. Portanto estas pessoas são portadores de luz, Espíritos de Luz.”

Ao **Prof. Dr. Paulo Sérgio Perri de Carvalho e Dr^a. Mariliza Comar Astolphi de Carvalho** pelo feliz convívio, amizade, ensinamentos, e informações transmitidas. Recebam os meus sinceros agradecimentos pela oportunidade oferecida, orientando em muitos trabalhos clínicos e científicos no decorrer destes anos em que cursei pós-graduação em Araçatuba.

Ao **Prof. Dr. Tetuo Okamoto**, ícone da odontologia, exemplo de caráter, humildade, e dedicação. A Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial deve muito ao senhor. Obrigado pelo carinho, incentivo e disponibilidade em colaborar sempre.

Ao **Prof. Dr. Michel Saad Neto**, por mostrar-me que experiência e juventude podem caminhar juntas. A minha sincera gratidão pelos valiosos ensinamentos, exemplo de dedicação, e competência. O senhor é um exemplo concreto de que pós-graduação é educação, mudança de comportamento. Levarei comigo não somente seus ensinamentos da odontologia, mas os ensinamentos de como compreender a vida de uma forma melhor. Aprendi com o senhor o sentimento de tolerância, imprescindível para coexistência humana.

Ao **Prof. Dr. Eduardo Hochulli Vieira** pelo incentivo e disposição em colaborar sempre. Sou grato pela oportunidade oferecida de acompanhar o serviço de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Araraquara, berço do nosso serviço em Araçatuba. Admiro-o pela competência e dedicação com que realiza suas tarefas, e por isso o

senhor tornou-se referência a todos que seguem os caminhos da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

A **Prof^a. Dr^a. Alessandra Aranega**, pelos conhecimentos transmitidos, e felizes momentos nestes últimos anos. Você foi e será sempre um exemplo a ser seguido pelo pragmatismo como se dedica a educação de nossos alunos. Obrigado pelo feliz convívio durante todo o curso de pós-graduação.

A **Prof^a. Dr^a. Cristiane Mara Ruiz Souza Fattah** pelo feliz convívio e conhecimentos transmitidos nestes anos de pós-graduação. Você foi um exemplo de dedicação e de doação ao magistério, e soube o momento certo de doar-se a sua família.

Ao **Prof. Dr. Wilson Roberto Poi**, pelo caráter, competência e extrema dedicação. Minha gratidão pelos conhecimentos transmitidos tanto na área didática quanto profissional. O senhor é o exemplo clássico de “que não basta ser professor, tem que ser mestre”.

Ao **Prof. Dr. Sérgio Bruzadelli Macedo**, meu conterrâneo, que no longo de sua carreira acadêmica foi professor de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial de meus três irmãos na Universidade de Alfenas. Não pude contar com a felicidade de ser seu aluno, mas tive o privilégio de tê-lo como banca examinadora em meus dois graus de pós-graduação: Mestrado e Doutorado. Agradeço pela disposição de sempre, e prontamente atendida.

Ao **Prof. Dr. Ronaldo de Sousa Ruela**, meu primeiro orientador em trabalhos científicos, por me mostrar os caminhos da vida acadêmica, embrião de todo o processo que iniciaria mais tarde, após dez anos de carreira clínica.

A **Prof^a. Dr^a. Therezinha Nogueira**, por ter me dado oportunidade do acesso à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos para realizar o estágio em Patologia Bucal, época em que estava no EAS da Base de Aviação de Taubaté.

Ao **Prof. Dr. Élcio Marcantonio** pelo exemplo de competência, humildade e dedicação à Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial. Obrigado pela intervenção novamente, junto à empresa Conexão - Sistema de Próteses para obtenção dos implantes osseointegráveis usados neste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Élcio Marcantonio Júnior** pela confiança e gentileza em permitir a utilização do Laboratório de Histologia (micrótomo Exakt) da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Ao grande amigo e colega **Prof. Dr. Albero Nori Kojima**, pela ajuda constante nos trabalhos clínicos e científicos realizados, pelo convívio leal e ético nestes últimos nove anos. Obrigado por ter me ajudado na preparação ao ingresso à pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Rogério Margonar**, pela ajuda, e orientações constantes nos trabalhos clínicos e científicos; e por intervir junto à empresa Conexão Sistemas de Próteses para aquisição dos implantes.

Ao amigo e colega, aluno do Pós Doutorado **Prof. Dr. Anselmo Colombo de Alencar** pela disponibilidade em ajudar sempre, e por contribuir na realização desta tese.

À secretária do Departamento e Cirurgia e Clínica Integrada **Cleide Lemes Caldazilla e família**, meu respeito pelo carinho, torcida, doação, amizade, ajuda e preocupação constante. Agradeço a Deus pela oportunidade de conhecer uma pessoa tão prestativa como você.

A funcionária do laboratório de histologia **Dirce Colli e família** pelo carinho com que nos recebeu, como se fôssemos um membro de sua família. Obrigado pelos serviços prestados no laboratório, imprescindíveis para realização desta tese.

Aos **Funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada** Antônia Ferreira, Bernadete Kimura, Gilmar Martins, Odair Vicente, Paulo Gratão e Tina Carvalho pela ajuda em diversas etapas desta tese. Obrigado pelo feliz convívio nos últimos cinco anos. Meus agradecimentos por sempre nos ajudarem em trabalhos laboratoriais, e minha admiração por sempre auxiliarem nos trabalhos logísticos, permitindo o atendimento clínico à população, num exercício constante do altruísmo.

Às **Funcionárias da Central de Esterilização** Dulcinéia Teodoro, Edna Vieira, Luciana Saad, Maria do Socorro, por realizarem seu trabalho de forma ímpar. Admiro vocês pelos serviços prestados de forma ímpar, mesmo em detrimento ao horário, pois vocês sempre enxergaram todos os pacientes de uma forma muito humanista.

Aos **Funcionários do Biotério Central** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Alan Semerine, Camilo Roberto, João Batista Alves, Odair Vicente. Agradeço a todos pela ajuda constante desde os trabalhos de dissertação do mestrado, sempre no interesse de colaborar com a ciência.

Às **Funcionárias do Serviço Clínico-cirúrgico de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial** Ana Cláudia Assis, Camila Kastein, Cristiane Borrachini, Cláudia Macedo, Michele Marques, e Patrícia Gonçalves por sempre nos atenderem de prontidão, visando colaborar para o bem estar da equipe, com um profissionalismo invejável.

À minha amiga e colega de todos os momentos da pós-graduação **Thallita Pereira Queiroz**, por sua simplicidade e simpatia. Obrigado pela acolhida, partilha de conhecimentos, e ensinamentos transmitidos durante todo o período que convivemos. Nos momentos mais difíceis que enfrentamos se não fosse sua insistência certamente o resultado não seria o mesmo. Receba minha admiração por sua competência, dedicação, e honestidade.

Ao meu amigo de pós-graduação **Albanir Borrasca Gabriel** pela oportunidade do feliz convívio durante todos estes anos. As amizades que são verdadeiras duram para sempre. Você se mostrou uma pessoa com princípios ilibados, princípios tão difíceis nos dias atuais. Receba minha admiração e respeito por sua competência, dedicação, e honestidade.

A minha colega de pós-graduação **Camila Ricieri Benez** pela amizade que o tempo não apagou. Mesmo após o fim do mestrado não perdemos contato, mostrando que uma amizade verdadeira o tempo não apaga.

À minha colega de pós-graduação **Jéssica Lemos Gulinelli**, pelo companheirismo e ajuda de sempre de forma disposta. Receba minha admiração pela sua determinação em seguir seus sonhos sem medo do insucesso.

A minha amiga de pós-graduação **Eloá Luvizuto** pela ajuda constante sempre de forma competente, e sem interesses. Sou grato pelas orientações no preparo dos artigos científicos. Obrigado por ser sempre prestativa e paciente em todos os momentos.

A minha colega de doutorado **Karin Ellen Sisti** pela disposição em colaborar sempre, mesmo longe, e pelo carinho com que executou todos os nossos trabalhos.

Aos meus **Colegas de Pós-Graduação** Carolina Chiantelli, Cristiano Gaujac, Daniela Coelho, Eduardo Faco, Leandro Carvalho, Leandro Cardoso, Marcelo Kayati, e Thaís Silveira por terem nos acolhido de forma carinhosa e servirem de referência para nossas atividades acadêmicas e hospitalares. Ficam as saudades....

Ao meu amigo de pós-graduação **Abrão Cavalcante Gomes de Souza** pela oportunidade do feliz convívio durante os plantões hospitalares, em que se mostrou uma pessoa de fino trato, nos ajudando e ensinando sempre de forma prestativa.

Ao meu amigo de pós-graduação **Fernando Pozzi Semeghini** pelo feliz convívio nestes anos de pós-graduação em que trabalhamos duro e intensamente em nossos trabalhos, que de certa forma foram trabalhos irmãos, pois foram concebidos pelo mesmo orientador.

As minhas amigas de pós-graduação **Pâmela Letícia e Heloísa Fonseca Marão** por estarem presente sempre no intuito de colaborar com a realização deste trabalho, e na realização de diversos trabalhos clínicos.

A todos de **minha Família, em Especial**, parte de minha vida. Vocês sempre prezaram pelos estudos, mostrando o caminho para tornar-mos pessoas melhores. Não tenho como cita-los um a um, mas agradeço todos em pensamento por demonstração de carinho, amor, compreensão.

A **Sra Maria Pedroso e família** por me receberem de forma carinhosa na cidade de Francisco Morato. Atualmente vocês tornaram um segmento de minha família, e sempre me apoiaram nos momentos difíceis, oferecendo retaguarda. Obrigado pelo incentivo de sempre.

A **Milton Nimia, Maria José Nímia e família** por me receberem de braços abertos em Araçatuba, como um membro de sua família. Obrigado pelo companheirismo, e retaguarda oferecida.

A todos os **Alunos de Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba e da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos que foram o verdadeiro motivo de toda esta caminhada de pós-graduação. Esperamos ter contribuído em suas formações acadêmicas.

AGRADECIMENTOS...

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA, FOA - UNESP, sob direção do Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé e vice-direção da Prof^a. Dr^a. Ana Maria Soubhia pela oportunidade de realização da pós-graduação, desde o curso de mestrado até ao tão almejado doutorado.

À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA, FOAr - UNESP, por ter disponibilizado o laboratório de histologia e o micrótomo Exakt, imprescindível para realização da análise histométrica presente nesta tese, além de sempre nos receber de forma amigável e receptiva.

A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS, FOSJC - UNESP, por ter me oferecido o PROAC e curso de atualização em implantodontia, sob coordenação dos Professores Doutores Marco Antônio Botino e Renato Sussumu Nishioka, além da oportunidade de preparar-me ao ingresso aos caminhos da pós-graduação.

Ao INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA – IQ – UNESP, pela oportunidade de cursar como aluno ouvinte a disciplina de “Ciência Aplicada aos Biomateriais”, e por ter disponibilizado o Laboratório de Biomateriais para realização das modificações das superfícies experimentais presentes nesta tese, sob orientação e supervisão do Prof. Adj. Antônio Carlos Guastaldi.

A UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCAR, por ter disponibilizado o Laboratório de Caracterização Estrutural, pertencente ao Departamento de Materiais – DEMA, imprescindível para as caracterizações

das superfícies analisadas nesta tese. Agradeço aos técnicos, Diego e Vítor que nos atenderam sempre de forma prestativa.

Aos **AMIGOS DO CURSO DE DOUTORADO EM CIRURGIA**: Abrão Cavalcante Gomes de Souza Carvalho, Albanir Gabriel Borrasca, Carolina Chianteli Cláudio Coutinho, Jéssica Lemos Gulinelli, Leandro de Carvalho Cardoso, Marta Alaíde Salin, Marcos Heidy Guskuma, Nicolas Homsí, Paulo Esteves Pinto Farias, Rodolpho Valentini Neto, Thais da Silveira Rodrigues, Thallita Pereira Queiroz, Walter Betoni Júnior pelo feliz convívio.

Aos **AMIGOS DO CURSO DE MESTRADO EM CIRURGIA**: Cassiano Pereira, Elisa Matias Sartori, Fernando Guastaldi, Ellen Gaetti Jardim, Heloísa Marão Fonseca, Jonathas Caldeira Esteves, Pámela Letícia dos Santos, Pedro Ivo Santos Silva, Walter Cristiano Gealh. Obrigado pelos conhecimentos compartilhados.

Aos **DOCENTES DA DISCIPLINA DE CIRURGIA**: Professores Titulares Michel Saad Neto, Paulo Sérgio Perri de Carvalho, Professores Adjuntos Osvaldo Magro Filho, Idelmo Rangel Garcia Júnior, e Professoras Doutoras Cristiane Mara Ruiz Souza Fattah, Alessandra Marcondes Aranega, e Daniela Ponzoni pela paciência em ensinar, disponibilidade de sempre, e grandes ensinamentos transmitidos durante as clínicas de cirurgia realizadas no decorrer destes últimos cinco anos.

Aos **DOCENTES DA DISCIPLINA DE CLÍNICA INTEGRADA:**

Professores Adjuntos Wilson Roberto Poi, Celso Koogi Sonoda, Sônia Panzarini, Professores Doutores José Carlos, Denise e Daniela pela constante disponibilidade em colaborar, mesmo em momentos inoportunos.

Aos **DOCENTES DA DISCIPLINA DE PRÓTESE FIXA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS** Professor Adj. Renato Sussumu Nishioka, Professores Doutores Fernando Takahashi, Daniel Andreata, Alberto Nori Kojima por servirem de exemplo e ponto de referência na carreira do magistério.

A **EQUIPE DE BIOMATERIAIS DO INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA – UNESP** Prof. Adj. Antônio Carlos Guastaldi, Prof. Dr. Nison Tamarinho de Oliveira, Prof^a. Dr^a Anaí Herrera, Prof. Dr. Heverson Tavares e os alunos de pós-graduação Camila Scapin, Diego Clemente, Edson Almeida Filho, Juliana Figueiredo, Vinícius Pavinato por colaborarem na execução desta tese.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA PÓS-GRADUAÇÃO:** Diogo, Marina e Valéria, pela paciência, disponibilidade, alegria, e admirável interesse em nos servir sempre.

Aos **FUNCIONÁRIOS DA BIBLIOTECA** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Isamar, Cláudio, Alexandra, Maria Cláudia, Cláudio, Ana

Cláudia, Isabel, Ana Paula, Lúzia, Fátima, Denise e Ivone pela disponibilidade de sempre.

A funcionária do laboratório de histologia da faculdade de Odontologia de Araraquara **Ana Claudia Gregolin Costa Miranda** pela disponibilidade de sempre. Agradeço suas orientações nos trabalhos realizados no laboratório de histologia.

Ao amigo e colega do curso de Doutorado em Periodontia da UNESP – Araraquara: **Rafael Silveira Faeda**, pela paciência, e disponibilidade de colaborar nos trabalhos realizados no laboratório de histologia (Micrótomo Exakt) da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

Aos meus **colegas de profissão** Dr. Alexandre Tomokasu, Dr. Araguacy Ávila, Dr. Cristiano Umemura, Dr. Francisco Oscar, Dr^a Luana Gonçalves, Dr^a Nayara Ávila, Dr. Nelson Padilha, Dr. Maurício Rodriguês, Dr. Ricardo Vasquez, Dr^a Sônia Bressane e a equipe clínico - cirúrgica Antônia de Moraes, Amanda Moreira, Edilene da Silva, Edna Aparecida, Enf. Liliane Almeida, Flávia Donola, Simone de Macedo, Marcella Sanches, por sempre prezarem para o bom funcionamento da clínica Universo do Sorriso.

Aos meus amigos e colegas de pós-graduação, e de apartamento **Rodolpho Valentim Neto, Paulo Esteves Faria Pinto e Albanir Borrasca Gabriel** pelo feliz convívio nestes últimos anos de forma respeitosa. Passamos

bons momentos que ficarão guardados em nossas memórias. Obrigado a todos.

À **CONEXÃO – SISTEMA DE PRÓTESES**, em nome do Dr. Rodolfo Cândida Alba Júnior pela gentileza e disponibilidade em ceder os implantes e chaves utilizadas no experimento deste trabalho, bem como pela confiança em nós depositada.

À **CAPES**, pela concessão da Bolsa de Mestrado e Doutorado, indispensável para realização de trabalhos de pós-graduação e para progresso da ciência no Brasil.

EPÍGRAFE

"Mais inteligente é aquele que sabe que nada sabe".

(Sócrates 470-399 AC)

"A história demonstra de forma inequívoca a evolução rumo à *racionalidade* e *liberdade*, maiores".

(Hegel 1770-1831)

"O homem está condenado à liberdade".

"A liberdade do homem nos obriga a fazer de nós alguma coisa, a ter uma *existência* autêntica ou verdadeira".

(Sartre 1905-1980)

Sumário

Lista de Abreviaturas.	25
Lista de Figuras dos Resultados – Capítulo I	27
Lista de Figuras dos Resultados – Capítulo II	28
Lista de Figuras Anexo B	29
Lista de Figuras Anexo C	30
Lista de Tabelas Anexo D	32
Resumo Geral	33
<i>General Abstract</i>	35
Introdução Geral	37
Proposição	40
Revisão da Literatura	41
Referências Bibliográficas	55

Capítulo I – Estudo comparativo in vivo de implantes Ti-cp com superfícies modificadas por laser sem e com depósito de sílica: Análises biomecânica e por MEV.

• Resumo.	66
• <i>Abstract</i>	67
• Introdução.	68
• Material e métodos.	70
• Resultado.	74
• Discussão	75
• Conclusão	78

• Referências bibliográficas.	80
• Figuras Capítulo I	84
• Normas para Publicação Capítulo I	89

Capítulo II – Análise histométrica de implantes *Ti-cp* com superfícies modificadas por laser sem e com depósito de sílica

• Resumo.	93
• <i>Abstract</i>	95
• Introdução.	97
• Material e métodos.	98
• Resultados.	103
• Discussão	107
• Referências bibliográficas	111
• Figuras Capítulo II	117
• Normas para Publicação Capítulo II	122

Anexos

• Anexo A – Protocolo do Comitê de Ética em Experimentação Animal.	128
• Anexo B – Figuras do Procedimento Cirúrgico	129
• Anexo C – Figuras Complementares da Análise histométrica (Capítulo II)	131
• Anexo D – Tabelas do Capítulo II	137
• Anexo E – Capítulo I - versão em inglês	139
• Anexo F – Capítulo II - versão em inglês	155

Lista de Abreviaturas

AO = Área Óssea

°C = Graus “*Celsius*”

DP = Desvio Padrão

E = Superfície Eletropolida

EDS = Espectrometria de energia dispersiva de raios X

EDX = Espectrometria de energia dispersiva de raios X

ELCOI = Extensão linear de contato entre osso e implante

h = Horas

HA = Superfície recoberta por Hidroxiapatita

IM = Intra-muscular

Kg = Quilograma

KHz = Kilohertz

MEV = Microscopia eletrônica de varredura

mg/Kg = Miligrama por quilograma de peso

mL/Kg = Mililitro por quilograma de peso

mJ = Milijoule

mm = Milímetros

µm = Micrometros

NaOH = Hidróxido de Sódio

N/cm = Newton por centímetro

nm = nanômetro

PVPI = Polivinilpirrolidona-iodo

Rm = Rugosidade média

rpm = Rotações por minuto

SA = Superfície modificada por condicionamento ácido

SL = Superfície modificada por feixe de laser

SLA = Superfície Jateada por partículas grandes (25 a 50 μm), e condicionada por ácido

SMC = Superfície modificada por associação de jateamento e condicionamento ácido

SMP = Superfície jateada por partículas médias (12 a 25 μm), e condicionada por ácido

SS = Superfície modificada por feixe de laser e depósito de silicato de sódio

SU = Superfície usinada

Ti-cp = Titânio comercialmente puro

TiO₂ = Óxido de titânio

TPS = Superfície plasma-spray de titânio (Aspersão térmica de titânio)

W = Watts

Lista de Figuras – Capítulo I

Figura 1 a, b, c – MEV: SU (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação.	84
Figura 2 a, b, c – MEV: SA (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação.	84
Figura 3 a, b, c – MEV: SL (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação	85
Figura 4 a, b, c – MEV: SS (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação	85
Figura 5 a, b, c – SU: MEV (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação	86
Figura 6 a, b, c – SA: MEV (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação	86
Figura 7 a, b, c – MEV: SL (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação.	87
Figura 8 a, b, c – MEV: SS (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação	87
Figura 9: Rugosidade média e desvio-padrão (DP) das diferentes superfícies. Diferença significativa* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Bonferroni test.	88
Figura 10: Médias e DP de torque-reverso (N.cm) para as superfícies analisadas, nos diferentes períodos. Diferença significativa* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Teste de Tukey.	88

Lista de Figuras – Capítulo II

- Figura 1 a, b** – MEV: SI (1000X e 20000X) **c** – EDX pré-implantação, **d, e** – MEV: SS (1000X e 20000X) **f** – EDX pré-implantação, **g, h** – MEV: SA (1000X e 20000X) **i** – EDX pré-implantação, **j, l** – MEV: SU (1000X e 20000X) **m** – EDX pré-implantação. 117
- Figura 2 a, b, c** – MEV: SL, SS, SA (500X secção transversal) respectivamente. 118
- Figura 3 Gráfico** – Rugosidade média e desvio-padrão das superfícies SL, SS, SA, SU. 118
- Figura 4 Gráfico** – ELCOI das superfícies SL, SS, SA, SU, nos períodos de 4, 8, e 12 semanas. 119
- Figura 5 Gráfico** – AO das superfícies SL, SS, SA, SU nos períodos de 4, 8, e 12 semanas. 119
- Figura 6 Prancha** – Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X). **a-c, d-f, g-i, j-m**: SL, SS, SA e SU nos períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente. 120
- Figura 7 Prancha** – **a-h** – Sobreposição do mapeamento elementar de Ca (verde), P (vermelho), e Ti (azul) e EDX de SL, SS, SA, SU, respectivamente nos período de 4 semanas. 121

Lista de Figuras Anexo B**Procedimento Cirúrgico**

Figura 1 a - Degermação (PVPI Degermante)	129
Figura 1 b - Anti-sepsia (PVPI Tópico)	129
Figura 1 c - Complementação anestésica local	129
Figura 1 d – Incisão dermo-periosteal	129
Figura 1 e - Tíbia exposta (Local de preparação do leito receptor)	129
Figura 1 f – Fresagem broca lança	129
Figura 1 g – Fresagem broca helicoidal 2.0mm	129
Figura 1 h – Fresagem broca piloto 2.0/30mm	129
Figura 1 i - Fresagem broca helicoidal 3.0mm	130
Figura 1 j – Instalação do implante	130
Figura 1 l – Colocação parafuso de cobertura	130
Figura 1 m – Sutura.	130

Lista de Figuras – Anexo C

Figuras Complementares Análise Histométrica

Figura 1 – SL: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X). 131

a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

Figura 2 – SS: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X). 132

a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas respectivamente.

Figura 3 – SA: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X). 133

a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

Figura 4 – SU: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X). 134

a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

Figura 5 – Ilustração esquemática para o cálculo da ELCOI em porcentagem (regra de três simples) – IMAGELAB 2000, versão 2.4. 135

Figura 6 – Ilustração esquemática para o cálculo da AO em
porcentagem (regra de três simples) – Software IMAGELAB 2000,
versão 2.4.

Lista de Tabelas Anexo D**Tabelas Capítulo I e II**

Tabela I – Valores de torque de remoção dos implantes (média e DP) 137
em N/cm nos períodos de 30, 60, e 90 dias.

Tabela II – Valores em μm da espessura média em secção transversal 137
(MEV).

Tabela III – Valores em μm da rugosidade média. 137

Tabela IV – ELCOI em porcentagem das superfícies nos períodos de 138
4, 8, e 12 semanas.

Tabela V – AO em porcentagem das superfícies nos períodos de 4, 8, 138
e 12 semanas.

Estudo comparativo *in vivo* de implantes *Ti-cp* com superfícies comerciais e modificadas por laser sem e com depósito de sílica: Análises biomecânica, topográfica e histométrica.

Resumo Geral

Proposição: O objetivo deste estudo foi comparar o comportamento biológico e mecânico do tecido ósseo ao redor de implantes de superfícies comerciais modificada por condicionamento ácido (SA), e usinada (SU), com implantes de superfícies experimentais modificada por laser (SL), e modificada por laser com depósito de sílica (SS), empregando-se as análises biomecânica, topográfica e histométrica.

Material e Métodos: Trinta coelhos receberam 120 implantes de 3,75x10mm em suas tíbias direita e esquerda, sendo dois implantes de cada superfície por tíbia. O implante localizado mais superior, instalado na metáfise tibial foi utilizado para o ensaio biomecânico, descrito no capítulo I; e o implante localizado abaixo deste, instalado na epífise tibial foi utilizado para o estudo histométrico, descrito no capítulo II. A morfologia das superfícies dos implantes foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), e por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) antes, e após 4 semanas de implantação e remoção por torque reverso. Medidas de rugosidade e secção transversal foram obtidas. Após períodos de 4, 8, e 12 semanas realizou-se o ensaio biomecânico, e após os animais sofreram eutanásia. As peças do implante localizado na epífise tibial foram levadas ao micrótomo para corte sem descalcificação. A análise histométrica foi realizada empregando-se microscopia óptica. Foi mensurada a extensão linear de contato entre osso e implante (*ELCOI*), e a área óssea (*AO*). Uma lâmina de

cada superfície do período de 4 semanas foi metalizada para realização da análise do mapeamento elementar por MEV-EDS.

Resultados: A caracterização topográfica mostrou diferenças entre as superfícies analisadas, e os valores de rugosidade média das SL e SS foram estatisticamente superiores ($p<0,05$) a SA. Na comparação estatística dos valores obtidos pelo ensaio biomecânico, verificou-se em 4 semanas que os implantes SS e SL apresentaram torque de remoção superior ($p<0,05$) aos SU e SA. No período de 8 semanas o torque de remoção dos implantes SS e SL foi estatisticamente superior ($p<0,05$) ao SU, e em 12 semanas somente SS foi estatisticamente superior ($p<0,05$) ao SU. Na análise histométrica a (*ELCOI*) e (*AO*) dos implantes SL foram estatisticamente superiores ($p<0,05$) a SA e SU nos períodos de 4, 8 e 12 semanas. A (*ELCOI*) e (*AO*) dos implantes SS foram estatisticamente superiores ($p<0,05$) a SU nos períodos de 4, 8 e 12 semanas, e estatisticamente superiores ($p<0,05$) a SA nos períodos de 8 e 12 semanas. A (*ELCOI*) dos implantes SA foi estatisticamente superior ($p<0,05$) a SU no período de 4 semanas. O mapeamento elementar mostrou altos picos de cálcio e fósforo em todos grupos no período de 4 semanas.

Conclusão: Diante da metodologia empregada, e dos resultados obtidos concluiu-se que as modificações topográficas e físico-químicas realizadas nas SS e SL aceleraram as fases do processo de reparo ao redor de implantes, favorecendo a interação entre tecido ósseo e implante, e proporcionaram melhores níveis de osseointegração.

Palavras Chave: 1 – Reparo Ósseo; 2 – Laser; 3 – Histométrico; 4 – Osseointegração; 5– Superfície.

Comparative *in vivo* study of *cp-Ti* implants with commercially available surfaces and those modified by laser, with and without silica deposition: Biomechanical, topographic and histometric analyses.

General Abstract

Purpose: The aim of this study was to compare the biologic and mechanical behavior of bone tissue around implants with commercially available surfaces, modified by acid etching (SA), and machined surfaces (SU), with the experimental surfaces modified by laser (SL), and modified by laser with silica deposition (SS), using biomechanical, topographic and histometric analyses.

Materials and Methods: Thirty rabbits received 120 implants measuring $3,75 \times 10 \text{ mm}$ in their right and left tibias, being two implants of each type of surface per tibia. The implant located in the uppermost position, inserted in the tibial metaphysis, was used for the biomechanical test, described in Chapter I; and the implant located below this, inserted in the tibial epiphysis, was used for the histometric study, described in Chapter II. The morphology of the implant surfaces was analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and by energy dispersive X-ray spectrometry (EDS) before and after 4 weeks of implantation and removal by reverse torque. Mean roughness and cross-sectional measurements were obtained. After periods of 4, 8, and 12 weeks the biomechanical test was performed, and after this the animals were euthanized. The parts of the implant located in the tibial epiphysis were taken for cutting nondecalcified on a microtome. Histometric analysis was performed using an optical microscope. The bone interface contact (*BIC*), and the bone area (*AO*) were measured in percentages. A slide of each surface in the period of 4 weeks was metalized in order to analyze the element mapping by means of SEM-EDS.

Results: The topographic characterization showed differences between the analyzed surfaces, and the mean roughness values of SL and SS were statistically higher ($p<0,05$) than those of SA. In the statistical comparison of the values obtained by the biomechanical test, it was verified that at 4 weeks the implants SS and SL presented a higher removal torque ($p<0.05$) than SU and SA. At 8 weeks the removal torque of implants SS and SL was statistically higher ($p<0.05$), than that of SU, and at 12 weeks, only SS showed a statistically higher value ($p<0.05$) than SU. In the histometric analysis, the (*BIC*) and (*AO*) of SL implants were statistically higher ($p<0.05$) than those of SA and SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks. The (*BIC*) and (*AO*) of SS implants were statistically higher ($p<0.05$) than those of SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks, and statistically higher ($p<0.05$) than that of SA in the periods of 8 and 12 weeks. The (*BIC*) of SA implants was statistically higher ($p<0.05$) than that of SU in the period of 4 weeks. Element mapping showed high peaks of calcium and phosphorous in all groups in the period of 4 weeks.

Conclusion: In view of the methodology used and the results obtained, it was concluded that the topographical and physico-chemical modifications performed in (SS) and (SL) accelerated the stages of the repair process around implants, favoring the interaction between bone tissue and implant, and provided better levels of osseointegration.

Keywords: 1 – Bone Repair; 2 – Laser; 3 – Histometric;
4 – Osseointegration; 5 – Surface.

1.0 - Introdução Geral

O processo de reparação da interface formada entre osso e implante pode ser dependente de uma série de fatores, entre eles o tipo de superfície. A caracterização topográfica da superfície do implante promove uma superfície porosa. Esta texturização representou um avanço na implantodontia, uma vez que foi observado o aumento do tecido ósseo em contato com a superfície do implante, uma força de torque de remoção maior,¹ e consequentemente uma redução do processo temporal da osseointegração,^{2,3} quando comparado aos implantes de superfície usinada.

Nos últimos anos diferentes processos para modificações topográficas e químicas foram sugeridos em implantes osseointegráveis. Estas modificações podem ser obtidas por métodos de adição ou subtração. No método de adição ocorre o acréscimo de um material à superfície do implante. Este material adicionado pode ser do mesmo do corpo do implante ou não. Um dos primeiros métodos de tratamento de superfície foi a adição de hidroxiapatita.^{4,5,6} Outro método de adição muito comum é a aspersão térmica por plasma, também chamado de *plasma spray*. Neste método partículas aquecidas do material são lançadas à alta velocidade sobre o corpo do implante por meio de uma chama ionizada em temperaturas muito altas.^{7,8}

Já os métodos de subtração são os mais utilizados pelas empresas de implante. As técnicas mais empregadas são: Condicionamento ácido, jateamento e associações de jateamento e condicionamento ácido. Na técnica de condicionamento ácido são utilizados ácido clorídrico, sulfúrico, nítrico e fluorídrico em determinadas concentrações e tempos de exposição, constituindo assim, o segredo de indústria em cada superfície. Os principais

materiais para jateamento são: Óxido de titânio, óxido de alumínio, areia e fosfato de cálcio. Estas superfícies apresentam uma topografia com presença de vales e picos, comum neste processo de subtração. O objetivo é proporcionar uma superfície texturizada com rugosidade variando de 1 a 3 μm , promovendo uma melhor estabilização do coágulo, reduzindo o tempo de osseointegração.¹

Novos métodos de caracterização de superfícies têm surgido nos últimos anos. Um método recente para modificação da microtopografia da superfície de implantes foi a oxidação anódica, também chamada de anodização.^{9,10,11,12} Neste processo o implante é colocado em uma célula eletrolítica, servindo como anodo, que sob condições controladas, o campo elétrico guiará o processo de oxidação que ocorrerá no anodo, ou seja, o implante, resultando no aumento da camada de óxido de titânio, além da possibilidade da adição de outros elementos químicos como o fosfato.^{11,12} O objetivo final é acelerar o processo de osseointegração.

Atualmente as pesquisas de superfícies de implante têm-se voltado para desenvolver uma modificação de superfície em escala nanométrica. Sabe-se que os tratamentos de superfície em escala micrométrica proporcionam superfícies favoráveis a osseointegração.^{11,12} Entretanto sugere-se que as modificações em escala nanométrica afetem tanto a topografia quanto as propriedades físico químicas da superfície,^{14,15,16} potencializando as respostas biológicas durante o processo de osseointegração.^{13,14} Os parâmetros para a nanotopografia têm sido definidos como uma superfície que apresente uma rugosidade com magnitude de 100 nm ou menos.^{17,19}

A modificação por feixe de laser é um método novo, e que pode ser realizado em escala nanométrica. Este método foi introduzido nos últimos anos para a caracterização da superfície do implante. Usado inicialmente pela engenharia de materiais,¹⁸ foi visto pela comunidade científica de forma bastante promissora. O seu mecanismo de ação está baseado na criação de uma população de elétrons estimulados a saírem de seu estado natural para um estado de maior energia, e que ao retornarem ao seu estado natural, emitem fótons com uma energia correspondente à energia de transição de elétron, levando a uma modificação físico química da superfície do implante.²⁰ Este processo apresenta as vantagens de ser realizado de forma controlada, livre de elementos contaminantes em sua estrutura, ser relativamente simples e apropriado para aplicação em implantodontia, além de fornecer uma texturização em escala nanométrica.^{2,21}

Vários trabalhos experimentais *in vitro* e *in vivo*, bem como estudos clínicos longitudinais foram realizados com o objetivo de comparar diferentes métodos de tratamento de superfícies com a superfície usinada. Estes trabalhos quase sempre procuravam avaliar o quanto o tratamento de superfície poderia interferir no complexo mecanismo da osseointegração.

2.0 – Proposição

O objetivo deste trabalho foi comparar o comportamento biológico e mecânico do tecido ósseo ao redor de implantes de superfícies comerciais, modificada por condicionamento ácido, e usinada, com as superfícies experimentais modificada por laser, e modificada por laser com depósito de sílica, empregando-se as análises biomecânica, topográfica e histométrica, conforme descrito nos capítulos I e II. Realizou-se também a revisão da literatura, relacionando a modificação da superfície do implante com a modulação da resposta biológica.

3.0 - Revisão da literatura

Os trabalhos iniciais de osseointegração desenvolvidos por Bränemark et al. (1969)²² foram realizados usando titânio comercialmente puro (Ti-cp) com superfície usinada. Estes implantes eram instalados em região de osso de boa qualidade com o aguardo do período de cicatrização de 3 a 4 meses para mandíbula, e de 4 a 6 meses para maxila.²³ Vários estudos comprovaram a alta taxa de sucesso com o emprego desta superfície, e até os dias atuais foi a superfície mais testada e avaliada em estudos experimentais,^{3,24,25,26,27,28,29,30} e clínicos longitudinais.^{31,32,33,34,35,36} Devido ao alto índice de sucesso alcançado com a osseointegração houve uma extrapolação da técnica, e passou-se a instalar implantes em osso de baixa densidade, ao mesmo tempo em que era exigido um menor período de osseointegração, e/ou o carregamento oclusal imediato. No objetivo de sanar estas exigências, as pesquisas foram direcionadas para o desenvolvimento de novas superfícies.³⁷

Estas pesquisas^{1,5,38,39,40} mostraram que os níveis de osseointegração estavam relacionados com o grau de rugosidade da superfície. A rugosidade superficial parece favorecer a interação mecânica entre implante e osso, estimulando a osseointegração, pelo fato das biomoléculas teciduais adaptarem mais firmemente a superfície do implante⁴¹. Cooper (2000)³⁷ realizou uma revisão da literatura e destacou cinco fatores co-relacionados à rugosidade superficial do implante e a reposta biológica. São eles:

- (1) – Aumento da área de contato da superfície do implante;
- (2) - Favorecimento da adesão celular à superfície do implante;
- (3) - Aumento da quantidade de tecido ósseo com a superfície do implante;

- (4) - Aumento da interação biomecânica do osso com implante;
- (5) - Inflamação da mucosa periimplantar, caso a superfície rugosa fosse exposta ao meio bucal.

Sendo assim, logo observado que as características da superfície exerciam significativa influência sobre a interface formada entre osso e implante, várias estratégias foram empregadas para modificar a topografia ou textura do implante. Atualmente as características da superfície dos implantes podem ser modificadas por métodos de adição como nos processos de plasma spray de titânio e recobrimento por hidroxiapatita. Já pelo método de subtração, os processos mais utilizados são o condicionamento ácido, jateamento, associação entre jateamento e condicionamento ácido, oxidação anódica e modificação por feixe de laser.

3.1 - Modificação por Plasma Spray de Titânio (TPS)

Leadermann et al. (1998)⁴⁰ relataram a análise histológica de quatro implantes com superfície plasma spray de titânio (TPS) após 12 anos de carga funcional de uma sobre-dentadura retida por meio de barra em uma paciente de 95 anos. A análise histológica revelou completa osseointegração tanto no osso cortical quanto no medular. O índice de contato osso-implante variou entre 70 e 80%, com sinais de remodelação óssea. Os autores concluíram que os implantes (TPS) possibilitaram sucesso satisfatório em longo prazo.

Karabuda et al. (1999)⁴² compararam num estudo experimental em cães implantes recobertos por hidroxiapatita com implantes (TPS) por meio da análise histológica e histométrica. Foi encontrado um índice de contato

osso-implante de $61,84 \pm 7,84\%$ para HA, e de $51,35 \pm 12,1\%$ para (TPS), sendo observadas evidências de reabsorção da camada de HA. Os autores concluíram que a superfície HA ofereceu um maior contato osso-implante comparado a (TPS), porém esta última proporcionou uma maior estabilidade em longo prazo.

Com o objetivo de avaliar processo e reparo da interface formada entre osso e implante durante a regeneração óssea guiada, Lima et al. (2003)⁴³ instalaram 12 implantes de superfície usinada e 12 implantes de superfície (TPS) em 4 cães. A formação óssea na área de regeneração óssea guiada foi de 12% e 32% para superfície (TPS) nos períodos de 16 e 24 semanas respectivamente, ao passo que para superfície usinada foi de 0,0% e 3,6% nestes mesmos períodos. Os autores concluíram que a superfície (TPS) influenciou de forma positiva a osseointegração tanto no osso remanescente quanto na área regenerada.

3.2 - Modificação por Recobrimento por Hidroxiapatita (HA)

Gotfredsen et al. (1995)⁵ avaliaram 156 implantes apresentando as superfícies jateadas por TiO_2 , recobertas por HA, e usinada instalados nas tíbias de 26 coelhos. Após períodos de 3 e 12 semanas realizaram-se as análises biomecânica e histométrica. Os implantes com superfície HA apresentaram torque de remoção estatisticamente superior aos implantes com superfície de TiO_2 e usinada, enquanto o torque de remoção dos implantes de TiO_2 foi estatisticamente superior aos implantes de superfície usinada. Na análise histométrica os implantes se superfície TiO_2 apresentaram contato osso-implante estatisticamente superiores aos

implantes de superfície usinada no período de 3 semanas, ao passo que igualaram-se no período de 12 semanas. Os implantes recobertos por HA apresentavam-se com fratura do recobrimento na porção inferior das espiras, e a quantidade de HA presente nas espiras foi menor no período de 12 semanas comparado ao período de 3 semanas. Os autores concluíram que pelos resultados obtidos, sugere-se que implantes recobertos por HA sofrem biodegradação da camada de hidroxiapatita, afetando sua estabilidade em longo prazo.

Biesbrock & Edgerton (1995)⁴⁴ realizaram uma revisão da literatura sobre a previsibilidade no uso de implantes recobertos por HA. Os autores relataram que os estudos clínicos anteriores mostravam uma taxa de sobrevida curta destes implantes, variando de 6 meses a 6 anos, quando comparados aos implantes de superfície usinada. Os principais problemas relatados foram a fratura e dissolução do recobrimento de HA, bem como a adesão bacteriana à mesma. Outros estudos mostravam que implantes recobertos por HA eram uma boa alternativa para ossos de baixa densidade, instalação imediata em alvéolos, após o procedimento de exodontia, em regiões de enxerto ósseo, e quando houvesse necessidade do uso de implantes curtos. Os autores concluíram na época, que novos estudos longitudinais eram necessários para validar as observações feitas.

Uehara et al. (2004)⁴⁵ relataram o caso clínico de dois implantes recobertos por HA, correspondentes aos dentes 36 e 37 que foram removidos por meio de broca trefina em um paciente que sofreu fratura do parafuso de fixação, após 18 meses de carga oclusal, devido a um acidente automobilístico. Os implantes foram submetidos à análise histológica que

mostrou um índice de contato osso-implante de 87% e 94,4% para os implantes correspondentes aos dentes 36 e 37 respectivamente. A conexão entre o recobrimento de HA e o titânio apresentava-se íntima e constante. Os autores concluíram haver evidência histológica de um alto grau de osseointegração nestes dois implantes recobertos por HA após 18 meses em função oclusal.

Binahmed et al. (2007)⁴⁶ realizaram um estudo retrospectivo da taxa de sucesso em 90 pacientes que tiveram um total de 302 implantes recobertos por HA, sendo 226 implantes instalados em mandíbula e 76 implantes instalados na maxila. Foi medido a taxa de sucesso aos 5 e 10 anos. A taxa de sucesso acumulado no período de 5 para 6 anos foi de 90,26% para implantes instalados na mandíbula, e de 78,47% na maxila. Aos 10 anos a taxa de sucesso acumulado foi de 85,40% na mandíbula, e de 70,59% na maxila. Os autores concluíram que implantes recobertos por HA apresentaram uma taxa de sucesso acumulado média de 82% após 10 anos de função oclusal em implantes instalados em maxila e mandíbula, e que a taxa de sucesso acumulado foi maior na mandíbula quando comparado com a maxila, ao mesmo tempo em que ocorreu um declínio desta quando comparados os períodos de 5 e 10 anos.

3.3 - Modificação por Condicionamento Ácido

Klokkevold et al. (1997)¹ compararam as superfícies usinada e modificada por condicionamento ácido (Osseotite – Boimet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, EUA) por meio da análise biomecânica em implantes instalados em fêmures de coelhos. Após período de 60 dias o torque

reverso médio foi de $20,5 \pm 6,59$ Ncm e $4,95 \pm 1,61$ Ncm para as superfícies Osseotite e usinada respectivamente. Os autores sugeriram que o condicionamento ácido aumentou significativamente o grau de osseointegração, determinado pela resistência do torque de remoção dos implantes.

Trisi et al. (2003)⁴⁷ compararam implantes de superfícies usinada e modificada por condicionamento ácido por meio da análise histométrica. Onze implantes apresentando uma face modificada por condicionamento ácido, e outra de superfície usinada foram instalados na região posterior da maxila de onze pacientes. Após 60 dias de cicatrização os implantes foram removidos por meio de broca trefina. A análise histométrica evidenciou um índice de contato osso-implante de 47,81% e 19,0% para a superfície modificada por condicionamento ácido e usinada respectivamente. Os autores concluíram que após 2 meses de cicatrização, implantes modificados por condicionamento ácido podem receber carga oclusal funcional.

Stach & Kohles (2003)⁴⁸ avaliaram o índice de sucesso de implantes com superfícies usinadas e modificados por condicionamento ácido por meio da meta-análise. Os dados foram obtidos de dezoito estudos prospectivos e multicentro, em que foram avaliados 2.614 implantes com superfície usinada e 2.288 implantes com superfície modificada por condicionamento ácido (Osseotite – Boimet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, EUA). O índice de sucesso acumulado em quatro anos foi de 92,7% para a superfície usinada, sendo 93,6% para implantes instalados em osso de boa densidade e 88,2% em osso de baixa densidade. Já para a

superfície modificada por condicionamento ácido o índice de sucesso acumulado foi de 98,4%, sendo 98,4% em osso de boa densidade e 98,1% em osso de baixa densidade. Os autores concluíram que a qualidade óssea parece ter grande impacto sobre a superfície usinada, efeito não observado sobre a superfície modificada por condicionamento ácido. Portanto implantes Osseotite (Osseotite – Boimet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, EUA) apresentaram superioridade no índice de sucesso acumulado em áreas de baixa qualidade óssea quando comparados aos implantes de superfície usinada.

Qahash et al. (2007)⁴⁹ avaliaram a influência da modificação da superfície por condicionamento ácido em área de regeneração óssea guiada, usando proteína osteomorfogenética humana num experimento realizado em oito cães. Implantes de 10 mm de comprimento, sendo 2 implantes de superfície usinada e 1 de superfície modificada por condicionamento ácido (Osseotite – Boimet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, EUA) foram instalados 5mm acima da crista alveolar em cada animal. O defeito vertical foi preenchido por proteína osteomorfogenética (rhBMP-2 - Wyeth Research, Cambridge, MA,) e recoberto por membrana absorvível de colágeno (ACS – Integra Life Sciences, Plainsboro, New Jersey, EUA). O índice de contato osso-implante na região regenerada após período de oito semanas foi de $12,3 \pm 6,8\%$ para superfície modificada por condicionamento ácido e de $7,9 \pm 3,1\%$ para superfície usinada. Já na área de osso residual, o índice de contato osso-implante foi de $59,7 \pm 11,3\%$ e $40,7 \pm 21,2\%$ para as superfícies modificadas por condicionamento ácido e usinada respectivamente. Os autores concluíram que implantes de

superfície modificada por condicionamento ácido (Osseotite – Boimet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, EUA) apresentaram efeito positivo sobre a osseointegração em áreas ósseas regeneradas.

3.4 - Modificação por Jateamento e Associações

Buser et al. (1991)³⁸ avaliaram seis diferentes tipos de superfícies durante o processo de osseointegração em seis mini-pigs por meio da análise histométrica. As superfícies avaliadas foram:

E – Eletropolidas;

SL – Jateadas por partículas grandes (25 a 50 μm);

SLA – Jateadas por partículas grandes (25 a 50 μm) e condicionada por ácido;

SMP – Jateadas por partículas médias (12 a 25 μm) e condicionadas por ácido;

TPS – Plasma spray de titânio;

HÁ – Plasma spray de Hidroxiapatita.

Após seis semanas os maiores índice de contato osso-implante foram das superfícies SLA e HA e os menores das superfícies E e SMP. Os autores concluíram que as superfícies SLA e HA foram as mais promissoras, sendo necessários novos estudos para avaliação da estabilidade biológica do recobrimento de HA.

Buser et al. (1988)⁵⁰ compararam implantes de superfície modificada por condicionamento ácido (Osseotite – Boimet 3i, Palm Beach Gardens, Flórida, EUA) com implantes de superfície SLA (Straumann Dental Implant System, Basel, Switzerland) por meio da análise de frequência de

ressonância. Os resultados mostraram um RTV de 62,5 Ncm, 87,6 Ncm, e 95,7 Ncm para a superfície Osseotite nos períodos de 4, 8 e 12 semanas respectivamente. Já para a superfície SLA o RTV foi de 109,6 Ncm, 196,7 Ncm e 186,8 Ncm nos períodos de 4, 8, e 12 semanas respectivamente. Os autores concluíram que a superfície SLA foi bastante promissora, principalmente por reduzir o tempo de osseointegração.

Buser et al. (1999)⁵¹ compararam as superfícies SLA, TPS e usinada por meio da análise de torque de remoção em implantes instalados na maxila de mini-pigs nos períodos de 4, 8 e 12 semanas. Os resultados mostraram que as superfícies SLA e TPS apresentaram valores de torque reverso estatisticamente superiores a superfície usinada. A superfície SLA apresentou valor de torque reverso superior a TPS, mas sem diferenças estatisticamente significantes no período de 4 semanas, enquanto nos períodos de 8 e 12 semanas os resultados foram similares. Os autores concluíram que a interface formada entre osso e implante foi significativamente influenciada pelas características de superfície neste estudo.

Amarante e de Lima (2001)⁵² realizaram uma revisão de literatura das superfícies SLA e TPS. Os autores destacaram os resultados promissores da superfície SLA, em que sua rugosidade foi capaz de influenciar no período de osseointegração, permitindo o carregamento oclusal precoce, além de ampliar a gama de aplicações possíveis para osso de baixa densidade, ou favorecer sua aplicação em áreas regeneradas.

Kesser-Liechti et al. (2008)⁵³ mensuraram a estabilidade primária de 240 implantes SLA (Straumann Dental Implant System, Basel, Switzerland)

instalados na mandíbula de humanos por meio da análise de frequência de ressonância, sendo 205 implantes após 1 a 10 anos em função oclusal, instalados 94 pacientes, e 36 implantes mensurados imediatamente após o procedimento cirúrgico de instalação em 16 pacientes. Os autores encontraram um valor médio de RFA $64,5 \pm 7,9$ ISQ. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os valores de frequência de ressonância dos implantes após função oclusal de 1 a 10 anos com os valores obtidos durante o procedimento cirúrgico de instalação.

3.5 - Modificação por Oxidação Anódica ou Anodização

Son et al. (2003)¹⁰ compararam as superfícies usinada, anodizada e anodizada com posterior tratamento hidrotérmico por meio das análises biomecânica, e histométrica em 78 implantes instalados na metáfise tibial de 26 coelhos. Após períodos de 6 e 12 semanas os valores de torque de remoção dos implantes com superfície anodizada e anodizada com tratamento hidrotérmico foram estatisticamente superiores quando comparados com a superfície usinada. Entretanto não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de torque de remoção dos implantes com superfície anodizada e anodizada com tratamento hidrotérmico. Já a análise histométrica empregando-se índice de contato osso-implante não mostrou diferenças estatisticamente significativa entre as três superfícies. Os autores concluíram que implantes com superfície anodizada forneceram uma estabilidade secundária maior, principalmente em períodos iniciais do processo de reparo da interface formada entre osso e implante.

Zechner et al. (2003)¹¹ comparam as superfícies modificadas por oxidação anódica, recobertas por HA, e usinada em 24 implantes instalados em 12 mini-pigs por meio das análises histológica e histométrica. Após períodos de 3, 6, e 12 semanas a análise histológica revelou áreas de reabsorção na superfície dos implantes recobertos por HA. Já a análise histométrica demonstrou de uma forma geral que o índice de contato osso-implante das superfícies modificadas por oxidação anódica, e recobertos por HA foram estatisticamente superiores quando comparados à superfície usinada. Os autores concluíram que os implantes de superfície modificada por oxidação anódica possuem características capazes de proporcionar resultados similares à superfície recoberta por HA, porém sem as reações adversas desta; e apresentarem a versatilidade de serem usados em osso tipo II a IV, apresentando o benefício de alta estabilidade primária, além da manutenção funcional da interface formada entre osso e implante após período de cicatrização.

Huang et al. (2005)¹² avaliaram o processo de osseointegração em 24 implantes com superfície modificada por oxidação anódica (TiUnite – Nobel Biocare, Gotemburgo, Suécia) instalados na maxila posterior de 8 macacos, por meio da análise histométrica, e da imunofluorescência empregando-se marcadores ósseos. Após períodos de 2, 3, 4, e 16 semanas a análise histométrica revelou um índice médio de contato osso-implante de $74 \pm 4,8\%$. A análise de imunofluorescência mostrou uma fina camada de tecido ósseo recobrindo todas as espiras do implante, e a densidade óssea das espiras estava correlacionada com a densidade óssea do tecido adjacente. Os autores sugeriram que a superfície modificada por oxidação anódica

(TiUnite – Nobel Biocare, Gotemburgo, Suécia) possuiu um bom potencial osteocondutivo, apresentando capacidade de promover um alto grau de osseointegração em osso tipo IV da maxila posterior de macacos.

Lee et al. (2009)⁵⁴ avaliaram a resposta biológica ao redor de implantes com superfícies modificadas por oxidação anódica, e usinada em 24 implantes instalados na tíbia de coelhos por meio da análise histológica e histomorfométrica. Após período de 30 dias, a análise histomorfométrica revelou um índice de contato osso-implante de $24,85 \pm 4,86\%$ e $16,45 \pm 4,05\%$ para superfície anodizada e usinada respectivamente em área de osso acima do canal medular (osso cortical), e $11,35 \pm 2,67\%$ vs $7,01 \pm 2,34$ para superfície anodizada, e usinada respectivamente em área dentro do canal medular. Os autores concluíram que a superfície modificada por oxidação anódica apresentou resultados favoráveis de reparação óssea tanto em osso cortical quanto esponjoso quando comparado aos implantes de superfície usinada.

3.6 - Modificação por Feixe de Laser

Gaggl et al. (2000)⁵⁵ comparam as superfícies usinada, plasma spray de titânio, modificada por jateamento de óxido de alumínio, e modificada por feixe de laser por meio das análises de microscopia eletrônica de varredura associada à espectrometria de energia dispersiva de raios X, e porfilometria mecânica. A análise de espectrometria de energia dispersiva de raios X mostrou que as superfícies TPS, e modificada por feixe de laser apresentavam uma topografia com rugosidade média por volta de 0,5 a 4 μm . O menor índice de contaminação foi observado nas superfícies usinada

e modificada por feixe de laser. Já as superfícies modificadas por jateamento de óxido de alumínio, e plasma spray de titânio apresentavam contaminantes, que são inerentes ao método de texturização. Os autores concluíram que a superfície modificada por feixe de laser apresentou uma pureza semelhante à superfície usinada, com modificação de sua estrutura físico-química, constituindo assim uma alternativa promissora para caracterização de superfícies de implantes.

Cho & Jung (2003)⁵⁶ compararam as superfícies usinada e modificada por feixe de laser em 14 implantes instalados na metáfise tibial de 7 coelhos por meio da análise topográfica e biomecânica. A microscopia eletrônica de varredura revelou a superfície modificada por feixe de laser com cavidades regulares semelhantes ao favo de mel, enquanto a superfície usinada apresentou-se lisa, e com sinais típicos do processamento de usinagem. Já a análise biomecânica mostrou valores de torque de remoção estatisticamente superiores dos implantes de superfície modificada por feixe de laser quando comparados aos implantes de superfície usinada. Os autores concluíram que implantes de superfície modificada por feixe de laser proporcionaram valores de torque de remoção superiores a implantes de superfície usinada, e que novos estudos eram necessários para compararem esta superfície com outras disponíveis no mercado.

Faeda et al. (2009)² compararam as superfícies usinada (MS), modificada por feixe de laser (LMS) e modificada por feixe de laser com recobrimento de hidroxiapatita (HA) por meio da análise biomecânica. Após períodos de 4, 8 e 12 semanas os valores de torque reverso de remoção foram de 23,28 Ncm, 24,0 Ncm e 33,85 Ncm para (MS), 33,0 Ncm, 39,87

Ncm, e 54,57 Ncm para (LMS), e 55,42 Ncm, 63,71 Ncm e 64,0 Ncm para (HA). Os autores concluíram que implantes com superfície modificada por feixe de laser com recobrimento de hidroxiapatita aceleram as fases iniciais do processo de osseointegração.

Mangano et al. (2010)⁵⁷ avaliaram a resposta biológica de i mini-implante experimental de Ti-6Al-4V modificado por feixe de laser instalado na mandíbula anterior de um paciente que se submeteu ao tratamento convencional com implantes osseointegráveis. Após período de 60 dias o implante foi removido por meio de broca trefina, e levado análise histométrica, que mostrou um índice de contato osso-implante de 69,51%. Os autores concluíram que a modificação por feixe de laser é uma alternativa promissora para caracterização topográfica de superfície de implantes.

4.0 - Referências Bibliográficas

- 1 – Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, Caputo A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. Clin Oral Res Copenhagen 1997 Dec; 8 (6): 442-447.
- 2 – Faeda RS, Tavares HA, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantônio-Jr E. Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associate with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibiae. J Oral Maxillofac Surg 2009 Aug; 67 (8):1706-1715.
- 3 – Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal torques for polished and rough titanium implants. Int J Oral Maxillofac Implants Lombard 1988 Spring; 3 (1): 21-24.
- 4 – Gottlander M, Albrektsson T, Carlsson LV. A histomorphometric study of unthreaded hidroxyapatite-coated and titanium-coated implants in rabbit bone. Int J Oral Maxillofac Implants Lombard 1992 Winter; 7 (4): 485-490.
- 5 – Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson C, Skovgaard LT, Hjorting-Hansen E. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: An experimental study with rabbits. J Biomed Mater Res Hoboken 1995 Oct; 29 (10): 1223-1231.

- 6 – Vidgal-Jr GM, Groisman M, Aragones LCA, Campos-Jr A. Histomorphometric analyses of hydroxyapatite-coated and uncoated titanium dental implants in rabbit cortical bone. *Implant Dent Baltimore* 1999; 8 (3): 295-302.
- 7 – Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. A study in the dog (II). *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2001 Jun; 12 (3): 196-201.
- 8 – Groisman M, Vidigal-Jr GM. Tipos de superficies de implante. In: *Sobrape (Org), Periodontia e Implantodontia – Atualização clínica baseada em evidências científicas Sobrape* 2005; 14: 1-14.
- 9 – Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, Wennerberg A, Albrektsson T. Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2002 Jun; 13 (3): 152-259.
- 10 – Son WW, Zhu X, Shin HI, Ong JL, Kim KH. In vivo histological response to anodized/hydrothermally treated titanium implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater Hoboken* 2003 Aug; 66B (2): 520-525.
- 11 – Zechner W, Tangl S, Furst G, Tepper G, Thams U, Mailath G, Watzek G. Osseous healing characteristics of three different implant types. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2003 Apr; 14 (2): 150-157.

12 – Huang YH, Xiropaidis AV, Sorensen RG, Albandar JM, Hall J, Wikesjo UM. Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite) oral implants in type IV bone. Clin Oral Implants Res Copenhagen 2005 Feb; 16 (1): 105-111.

13 – Meirelles L, Arvidsson A, Andersson M, Kjellin P, Albrektsson T, Wennerberg A. Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation. J Biomed Mater Res A Appl Biomater Hoboken 2008 Nov; 87A (2): 299-307.

14 – Meirelles L, Currie F, Jacobsson M, Albrektsson T, Wennerberg A. The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration. Int J Oral maxillofac Implants Lombard 2008 Jul/Aug; 23 (4): 641-647.

15 – Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio-Jr E. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. Biomechanical study in rabbit tibias. Bras Oral Res 2009 Apr/Jun; 23 (2): 137-143.

16 – Meirelles L. Nanoestruturas e a resposta óssea. Uma alternativa segura para a reabilitação com implantes osseointegráveis? Implant News 2010 Mar/Abr; 7 (2): 169-172.

17 – Christenson EM, Anseth KS, van den Beucken JJ, Chan CK, Ercan B, Jansen J.A. Nanobiomaterial applications in orthopedics. J Orthop Res 2007 Jan; 25 (1): 11-22.

18 – Picraux ST, Pope LE. Tailored surface modification by íon implantation and laser treatment. Science 1984 Nov; 226 (4675): 615-622.

19 – SI. The International System of Units. <<http://www.bipm.org/em/si>>. Acesso em maio/2010.

20 – Braga FJC, Marques RFC, Filho EA, Guataldi AC. Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. Appl Surf Scien 2007; 253 (23): 9203-9208.

21 – Tavares HS, Faeda RS, Guastaldi AC, Guastadi FPS, Oliveira NTC, Marcantonio-Jr E. SEM-EDS and biomechanical evaluation of implants with different surface treatments:an initial study. J Osseointegration 2009; 1 (1): 25-31.

22 – Bränemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses I. Experimental studies. Scand J Plast Reconstr Surg 1969; 3 (2): 81-100.

23 – Albrektsson T, Bränemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants. Requerements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthopaedica Scandinavica 1981; 52 (2): 155-170.

24 - Leventhal GS. Titanium, a metal for surgery. J Bone Joint Surg 1951 Apr; 33-A (2): 473-474.

25 - Linder L, Lundskog J. Incorporation of stainless steel, titanium and Vitallium in bone. Injury 1975 May; 6 (4): 277-285.

26 - Roberts WE, Smith RK, Zilberman Y, Mozary PG, Smith RS. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. Am. J. Orthod 1984 Aug; 86 (2): 95-111.

27 - Johansson C, Albrektsson T. Integration of screw implants in the rabbit. A 1-year follow-up of removal torque of titanium implants. Int J Oral Maxillofac Implants Lombard 1987 Spring; 2 (2): 69-75.

28 - Linder L, Carlsson A, Marsal L, Bjursten LM, Bränemark PI. Clinical aspects of osseointegration in joint replacement. A histological study of titanium implants. J Bone Joint Surg 1988 Aug; 70B (4): 550-555.

29 - Sennerby L, Thomsen P, Ericson LEA. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. Int J Oral Maxillofac Implants Lombard 1992 Spring; 7 (1): 62-71.

30 - Hemmerle J, Voegel JC. Ultrastructural aspects of the intact titanium implant-bone interface from undescalcified ultrathin sections. Biomaterials 1996 Oct; 17 (19): 1913-1920.

31 - Adell R, Lekholm U, Rockler B, Bränemark PI. A 15 years study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981; 10 (6): 387- 416.

32 - Albrektsson T. Direct bone anchorage of dental implants. *J Prosthet. Dent* 1983 Aug; 50 (2): 255-261.

33 - Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson A. The long term efficacy of currently used dental implants. A review and proposed criteria for success. *Int. J. Oral Maxillofac Implants Lombard* 1986 Summer; 1 (1):11-25.

34 - Lindquist LW. Prosthetic rehabilitation of the edentulous mandible. A longitudinal study of treatment with tissue-integrated fixed prostheses. *Swed Dent J Suppl* 1987; 48: 1-39.

35 - Cox JF, Zarb GA. The longitudinal clinical efficacy of osseointegrated implants: A three-year report. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 1987 Spring; 2 (2): 91-100.

36 – Van Steenberghe D, Lekholm U, Bolender C, Folmer T, Henry P, Herrmann I. The applicability of osseointegrated oral implants in the rehabilitation of partial edentulism: a prospective multicenter study on 558 fixtures. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 1990 Fall; 5 (3): 272-281.

37 – Cooper LFA. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. J Prosthet Dent Saint Louis 2000 Nov; 84 (5): 522-534.

38 – Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. J Biomed Mater Res Hoboken 1991 Jul; 25 (7): 889-902.

39 – Suzuki K, Aoki K, Ohya K. Effects of surface roughness of titanium implants on bone remodeling activity of femur in rabbits. Bone Elmsford 1987 Dec; 21 (6): 507-514.

40 – Ledermann PD, Schenk RK, Buser D. Long-lasting osseointegration of immediately loaded, bar-connected TPS screws after 12 years of function: a histologic case report of a 95 year-old patient. Int J Periodontics Restorative Dentistry Chicago 1998 Dec; 18 (6): 552-563.

41 – Khang W, Feldman S, Hawley CE, Gunsolley JA. A multicenter study comparing dual acid-etched and machined-surfaced implants in various bone qualities. J Periodontol Chicago 2001 Oct; 72 (10): 1384-1390.

42 – Karabuda C, Sandalli P, Yalcin S, Steflik DE, Parr GR. Histologic and histomorphometric comparison of immediately placed hidroxyapatite-coated and

titanium plasma-sprayed implants: a pilot study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 1999 July/Aug; 14 (4): 510-515.

43 – Lima LA, Fuchs-Wehrle AM, Lang NP, Hammerle CH, Liberti E, Pompeu E, Todescan JH. Surface characteristics of implants influence their bone integration after simultaneous placement of implant and GBR membrane. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2003 Dec; 14 (6): 669-679.

44 – Biesbrock AR, Edgerton M. Evaluation of the clinical predictability of hydroxyapatite-coated endosseous dental implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 1995 Nov/Dec; 10 (6): 712-720.

45 – Uehara T, Takaoka K, Ito K. Histological evidence of osseointegration in human retrieved fractured hydroxyapatite-coated screw-type implants: a case report. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2004 Oct; 15 (5): 540-545.

46 – Binahmed A, Stoykewych A, Hussain A, Love B, Pruthi V. Long term follow-up hydroxyapatite-coated dental implants – A clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 2007 Nov/Dec; 22 (6): 963-968.

47 – Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol Chicago* 2003 July; 74 (7): 945-956.

48 – Stach RM, Kohles SS. A meta-analysis examining the clinical survivability of machined surface and osseotite implants in poor-quality bone. *Implant Dent* Baltimore 2003; 12 (1): 87-96.

49 – Qahash M, Hardwick R, Rohrer MD, Wozney JM, Wikesjö UME. Surface-etching enhances titanium implant osseointegration in newly formed (rhBMP-2-induced) and native bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* Lombard 2007 May/Jun; 22 (3): 472-477.

50 – Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte LP. Removal torque values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral maxillofac Implants* Lombard 1998 Sep/Oct; 13 (5): 611-619.

51 – Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snetivy D, Nolte LP. Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* Hoboken 1999, May; 45 (2): 75-83.

52 – Amarante ES, de Lima LA. Optimization of implant surfaces: titanium plasma spray and acid-etched sandblasting – current status. *Pesqui Odontol Bras* São Paulo 2001 Abr/Jun; 15 (2): 166-173.

53 - Kessler-Liechti G, Zix J, Mericske-Stern R. Stability measurements of 1-stage implants in the edentulous mandible by means of resonance frequency analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* Lombard 2008 Mar/Apr; 23 (2): 353-358.

54 - Lee JE, Heo SJ, Koak JY, Kim SK, Han CH, Lee SJ. Healing response of cortical and cancellous bone around titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 2009 Jul/Aug; 24 (4): 655-662.

55 – Gaggl A, Schultes G, Muller WD, KArcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces – a comparative study. *Biomaterials Guilford* 2000 May; 21 (10): 1067-1073.

56 – Cho SA, Jung SK. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials Guilford* 2003 Nov; 24 (26): 4859-4863.

57 - Mangano C, Piatelli A, D'Avila S, Lezzi G, Mangano F, Onuma T, Shibli JA. Early human bone response to laser metal sintering surface topography: a histologic report. *J Oral Implantol* 2010; 36 (2): 91-96.

CAPÍTULO I

Estudo comparativo *in vivo* de implantes *Ti-cp* com superfícies modificadas por laser sem e com depósito de sílica: Análise biomecânica e por MEV

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar as superfícies de implantes usinadas (SU), modificadas por condicionamento ácido (SA), modificadas por feixe de laser (SL), modificadas por laser e depósito de Silicato de Sódio (SS). A morfologia das superfícies dos implantes foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) antes e após 30 dias de implantação e remoção por torque reverso. Foram instalados 60 implantes 3,75x10mm em 30 coelhos nas tíbias direita e esquerda, sendo uma superfície por tíbia e 10 coelhos por período. Após períodos de 30, 60 e 90 dias foi realizado o ensaio biomecânico empregando-se o torque reverso. Os valores de torque de remoção foram 24,60, 43,60, e 60,40 N/cm para (SU), 43,00, 68,20, e 63,80 N/cm para (SA), 60,80, 76,60, e 78,00 N/cm para (SL) e 63,00, 75,40, e 80,60 N/cm para (SS). Na comparação estatística verificou-se aos 30 dias que os implantes (SS) e (SL) apresentaram torque-reverso superior ($p < 0,05$) aos (SU) e (SA). Aos 60 dias o torque-reverso dos implantes (SS) e (SL) foi estatisticamente superior ao (SU) ($p < 0,05$), e aos 90 dias, somente (SS) foi superior estatisticamente ($p < 0,05$) ao (SU). Diante da metodologia empregada conclui-se que as modificações topográficas e físico-químicas realizadas nas (SS) e (SL) aceleraram as fases iniciais do processo de reparo, favorecendo a interação entre tecido ósseo e implante.

Palavras-chave: Implante dentário, Osseointegração, Torque, Laser, Materiais biocompatíveis.

Comparative *in vivo* Study of *cp Ti* Implants with surfaces modified by laser with and without silicon deposition: Biomechanical and SEM Analysis

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the surfaces of commercially pure titanium (*cpTi*) implants surface modified by laser beam (LS), by laser beam associated with sodium silicate deposition (SS) and compare them with surfaces modified by dual-acid etched (AS) and with machined surface (MS). Thirty rabbits received two implants each (one for each tibia). After 30, 60 and 90 days postoperative, the implants were removed by reverse torque for biomechanical analysis and surfaces were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS). Results: The mean values of reverse torque at 30, 60 and 90 days postoperative were respectively 24.60, 43.60 e 60.40 N/cm to MS, 43.00, 68.20 e 63.80 N/cm to AS group, 59.80, 76.60 e 78.00 N/cm to LS group and 63.00, 75.40 e 80.60 N/cm to SS group. At 30 days, SL and SS groups showed statistically significant difference ($p<0.05$) compared to the other groups. At 60 days, LS and SS groups showed statistically significant difference ($p<0.05$) when compared to MS. It was concluded that SL and SS implants' biomechanical and topographical properties increased bone-implant interaction when compared to the AS and MS implants.

Key Words: Osseointegrated Implant, Osseointegration, Removal Torque, Laser Beam, Biocompatibility Materials.

Introdução

Nos dias atuais o uso de implantes osseointegráveis tornou-se um método eficiente e bem aceito para substituição de dentes perdidos. No mundo milhões de implantes são instalados anualmente para o restabelecimento da oclusão dos pacientes. Esta modalidade de tratamento aumentou o interesse por parte dos odontólogos a cada dia, e isso ocorreu devido ao elevado nível de sucesso e segurança alcançado com a osseointegração, além da disponibilidade de um grande número de pesquisas.

Branemark et al. [1] definiram osseointegração como a conexão estrutural direta e funcional entre o osso ordenado e saudável com a superfície do implante, em nível de microscopia óptica, estável e capaz de suportar as forças mastigatórias. Entretanto biologicamente não existe evidência de contato completo entre o osso e a superfície do titânio, mas sim maior ou menor quantidade de tecido conjuntivo, sem que clinicamente haja falha ou perda do implante [2]. Todo este processo inicia pela migração de células osteogênicas derivadas da camada medular óssea, incluindo células mesenquimais indiferenciadas, osteócitos e osteoblastos, direto para um arcabouço fornecido pelo coágulo sangüíneo [3,4,5]. A modelagem anabólica parece ser a primeira resposta de reparação óssea após a instalação de um implante no osso cortical, similar ao processo ocorrido na cicatrização de uma fratura [6,7].

Com o objetivo de proporcionar uma melhor cicatrização ao redor de implantes dentários, várias medidas foram sugeridas nos últimos anos. Estas medidas quase sempre estavam relacionadas com as características de superfície [8], mais precisamente material, topografia e físico-química [9]. Sendo assim as modificações realizadas na superfície do implante assumiram

valor significativo dentro da osseointegração, representando um avanço na implantodontia, uma vez que é observado o aumento da porcentagem de contato de tecido ósseo na interface [10], diminuição do período de osseointegração [11], e melhora do processo de reparação em áreas de baixa densidade óssea quando comparado aos implantes de superfície usinada [12].

As características das superfícies dos implantes podem ser modificadas por métodos de adição ou subtração. No método de subtração destaca-se a modificação por condicionamento ácido, que tem por objetivo aumentar a área de superfície, alterando a micro topografia [10,12,13,14]. Este método pode ser empregado de forma isolada [15] ou em associação com jatos de óxido de alumínio [13,16], óxido de titânio [16]. Estudos realizados mostraram sua superioridade à superfície usinada por meio da análise biomecânica, [10,12,17] histomorfométrica [13,18,19,20] em estudos experimentais, e meta-análise, avaliando o índice de sucesso de implantes em osso de baixa qualidade em humanos [21].

Novos métodos de modificação de superfície têm sido estudados com resultados promissores. Dentre estes, destaca-se a modificação da superfície por laser. Este método proporciona uma morfologia de superfície complexa e homogênea, com alto grau de pureza, além de ser realizado de forma controlada e reprodutível [22,23,24,25]. Estudos recentes têm se voltado para os recobrimentos de materiais bioativos [14,25,26,27], e novos biomateriais têm surgido, entre eles o óxido de silício [27], também presente nas cerâmicas de vidro bioativo, que quando em contato com o sangue permite formação óssea por osteocondução [28]. O objetivo final é tornar a superfície do implante reativa favorecendo a estabilização do coágulo sanguíneo e a conseqüente

quimiotaxia de células ósseas para a superfície do implante [5].

Portanto, o objetivo deste estudo foi comparar o comportamento do tecido ósseo ao redor de implantes (*Ti-cp*) de superfície usinada, modificada por condicionamento ácido, modificada por laser, e modificada por laser com depósito de sílica empregando ensaio biomecânico, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia dispersiva de raios X, e rugosimetria.

Material e métodos

1.1 Implantes

Neste estudo utilizaram-se 60 implantes de hexágono externo, apresentando dimensões de 3,75x10mm (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brasil), com 4 diferentes superfícies, sendo 2 comercialmente disponíveis, que constituíam os grupos controles, e outras 2 superfícies testes, que foram modificadas pelo Grupo de Biomateriais do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista de Araraquara – UNESP. As superfícies de implantes analisadas foram:

- 1- Implante de titânio comercialmente puro (*Ti-cp*) e superfície usinada (SU), comercialmente disponível (Master Screw, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brasil);
- 2- Implante de (*Ti-cp*) e superfície modificada por condicionamento ácido, comercialmente disponível (SA) (Master Porous, Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brasil);
- 3- Implante de (*Ti-cp*) e superfície modificada por Feixe de Laser (SL);
- 4- Implante de (*Ti-cp*) e superfície modificada por feixe de laser e deposição de silicato de sódio (SS);

1.2 Preparação das superfícies testes:

1.2.1 Modificação da superfície por feixe de laser

Os implantes de (*Ti-cp*) e superfície usinada foram fixados em torno rotatório, sob o aparelho de laser Yb pulsado (Pulsed Ytterbium Fiber Laser, Sistema Omnimark 20F, Ominitek Tecnologia Ltda, São Paulo, Brasil). O feixe de laser foi projetado sobre toda a superfície das espiras do implante em atmosfera ambiente. Os parâmetros da modificação usada neste estudo foram de 140mJ de potência nominal e 20 KHz de frequência de pulso.

1.2.2 Modificação da superfície por feixe de laser e deposição de silicato de sódio

Os implantes após irradiação da superfície por feixe de laser, foram imersos em solução de NaOH (5,0 Mol.L⁻¹), e colocados na estufa por um período de 24 horas a 60 °C. Em seguida, foram retirados da solução, e mantidos na estufa por 3 horas a 60 °C. Após esta etapa, os implantes foram imersos em solução de silicato de sódio, pH 7,25, e permaneceram em estufa por 24 horas, à temperatura de 37°C.

Após a realização das modificações das superfícies do grupo teste, os implantes foram enviados a empresa (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brasil) para serem esterilizados e embalados a vácuo.

1.3 Animais e implantes

Foram utilizados 30 coelhos machos brancos, variação *albinus*, com idade de aproximadamente 5 meses e peso corporal de 3 a 4 Kg, divididos em 3 grupos de 10 animais, de acordo com os períodos de sacrifício. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com dieta padrão, ração sólida (Procoelho, Primor) e água “*ad libitum*” no Biotério da Faculdade de

Odontologia de Araçatuba – FOA, UNESP. O estudo foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da FOA-UNESP e recebeu parecer favorável ao seu desenvolvimento (protocolo número 2007-005035). Foram utilizados 60 implantes de hexágono externo. Cada animal recebeu 2 implantes de superfícies diferentes, sendo 1 implante de cada superfície em cada metáfise tibial, direita e esquerda.

1.4 Cirurgia experimental

Os animais foram mantidos em jejum pré-operatório de 8 horas. O procedimento cirúrgico iniciou pela anestesia geral empregando-se 50mg/kg de cloridrato de ketamina (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil), e 5mg/Kg de cloridrato de xilazina (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) via intra-muscular. Em seguida realizou-se a tricotomia e a anti-sepsia com PVPI degermante e tópico (PVPI 10%, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil). Como complementação anestésica os animais receberam infiltração local de cloridrato de mepivacaína (0.3 ml/Kg, Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000, Septodont, França). Foi realizada uma incisão de aproximadamente 3 cm de comprimento por meio de lâmina de bisturi número 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão), montada em cabo de bisturi número 3 na metáfise tibial. Em seguida o tecido mole foi divulsionado em espessura total, expondo o tecido ósseo para instalação dos implantes. Para a preparação do leito cirúrgico foi utilizado motor elétrico com velocidade final de 1500 r.p.m. e contra-ângulo redutor de 20:1 (Kavo do Brasil, Joinville, Brasil). O preparo foi iniciado com a fresa lança para romper a cortical óssea. Em seguida, foram utilizadas as fresas helicoidal de 2,0mm, piloto de 2,0mm/3,0mm e helicoidal de 3,0mm (Conexão Sistema de Próteses, São

Paulo, Brasil), seqüencialmente, com irrigação abundante por meio de solução de Cloreto de Sódio a 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil). Os implantes foram instalados na velocidade de 20 r.p.m e torque fixo de 45 N/cm. A sutura foi realizada em planos, empregando-se fio absorvível (Poligalactina 910 – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brasil) com pontos contínuos no plano muscular e fio não-absorvível (Nylon 4.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brasil) com pontos interrompidos no plano da derme. No pós-operatório os animais receberam administração IM de Pentabiótico (0,1ml/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil) e de Dipirona Sódica (1mg/Kg/dia, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil) em dose única.

1.5 Forma de análises dos resultados

1.5.1 Rugosimetria das superfícies

A rugosidade média (R_m) foi analisada em 3 discos previamente preparados de cada superfície por meio de um rugosímetro (Mitutoyo SJ-400, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, Brasil). Foram realizadas 10 mensurações em cada disco. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística de variância e ao teste de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$).

1.5.2 Análise biomecânica

Nos períodos de 30, 60 e 90 dias realizou-se o pré-operatório e anestesia geral, conforme descrito no procedimento cirúrgico. As metáfises tibiais de 10 coelhos por cada período foram reabertas para exposição dos implantes e realização do torque-reverso *in vivo* por meio de torquímetro analógico (15-BTG, Tohnichi, Tokyo, Japan/). Os valores obtidos foram

agrupados e submetidos à análise estatística de variância e ao Teste de Tukey para comparações múltiplas entre os diferentes grupos e períodos, adotando-se o nível de significância de 5%. Após a análise biomecânica os animais foram submetidos à eutanásia por meio da administração IM de dose letal de Hidrato de Cloral a 30% (2ml/Kg).

Resultados

1.1 Topografia das superfícies dos implantes -MEV e EDS

A microscopia eletrônica de varredura das superfícies analisadas demonstrou diferenças topográficas entre elas. A (SU) apresentou topografia de superfície lisa, contaminadas com restos de usinagem (fig1 a, b, c), enquanto a (SA) apresentou topografia com padrão morfológico de subtração, formação de vales de diferentes profundidades e tamanhos (fig2 a, b, c). As (SL) (fig3 a, b, c), e (SS) (fig4 a, b, c) produziram superfícies rugosas com padrão morfológico mais regular e homogêneo.

A análise por EDS não revelou qualquer contaminação das superfícies analisados, e mostrou picos de Ti para as (SU) (fig1 d) e (SA) (fig2 d). Para a (SL), observaram-se picos de Ti e oxigênio (fig3 d). Entretanto a (SS) revelou a presença de picos de Ti, oxigênio, silício, cloro e sódio (fig4 d).

A análise das superfícies dos implantes removidos no período de 30 dias demonstrou completo recobrimento por tecido ósseo das (SL) (fig7 a, b, c), e (SS) (fig8 a, b, c), entretanto a análise da (SU) (fig5 a, b, c) e (SA) (fig6 a, b, c) revelaram recobrimento ósseo reduzido dos implantes. O EDS de todas as superfícies (figs 5d, 6d, 7d, e 8d) mostrou picos de Ti, O, Ca e P, sendo que

estes dois últimos elementos apresentaram maior concentração nas (SL) e (SS). A (SS) mostrou picos de Si (fig 8d).

1.2 Rugosimetria

A análise microtopográfica revelou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre a rugosidade das (SS) ($R_m = 5,12 \pm 0,32$), e (SL) ($R_m = 4,73 \pm 0,48 \mu m$), quando comparadas às (SA) ($R_m = 1,34 \pm 0,35 \mu m$) e (SU) ($0,4 \pm 0,06 \mu m$), de acordo com o gráfico 1 (fig 9).

1.3 Análise biomecânica

Por meio do exame clínico foi observado ausência de secreção e de fratura óssea. Nenhum implante foi perdido e todos estavam estáveis sem perda óssea marginal. Observou-se que alguns implantes (SS) e (SL) estavam recobertos por tecido ósseo neoformado, sendo necessária sua remoção por meio de broca esférica número 2 de forma cuidadosa, assim expondo o parafuso de cobertura, possibilitando a realização do ensaio biomecânico. As médias de torque-reverso dos implantes nos períodos de 30, 60 e 90 dias foram respectivamente de 24.60, 43.60 e 60.40 N.cm para (SU), 43.00, 68.20 e 63.80 N.cm para (SA), 60.80, 76.60 e 78.00 N.cm para (SL), e 63.00, 75.40 e 80.60 N.cm para (SS), e estão destacados no gráfico 2 (fig 10). Na comparação estatística entre as superfícies verificou-se aos 30 dias que o torque de remoção dos implantes (SS), e (SL) foi estatisticamente superior ao (SU) ($p < 0,05$). Neste mesmo período o torque de remoção dos implantes (SA) foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao (SU). Aos 60 dias os implantes (SS) e (SL) apresentaram torque-reverso estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao (SU). Aos 90 dias somente o (SS) apresentou valores torque de remoção estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao (SU).

Discussão

A modificação da superfície por feixe de laser tem se mostrado um método promissor para o tratamento de superfícies de implante, por ser limpo, reprodutível e economicamente viável [25,29]. Apresenta a propriedade físico-química de formação de uma camada rica em oxigênio e incorporação de nitrogênio durante a rápida fusão e solidificação do titânio [22,24,25,29]. Cho & Jung [24] compararam implantes de superfície usinada e modificadas por feixe de laser por meio de análise topográfica (MEV). Os autores relataram que a superfície modificada por laser apresentou cavidades regulares semelhantes a favo de mel, enquanto a superfície usinada apresentava-se relativamente lisa e com sinais típicos da usinagem.

A topografia das superfícies analisadas por MEV-EDS evidenciaram que as (SL) e (SS) apresentaram uma morfologia complexa, e que favorecem a deposição de tecido ósseo, quando comparadas às (SU) e (SA). As propriedades físico-químicas e morfológicas da superfície do implante têm uma função direta na osteogênese, favorecendo as fases do processo de reparação da interface formada entre osso e implante [30]. Faeda et al. [14] avaliaram implantes de titânio com superfície modificada por feixe de laser por meio da análise biomecânica, e concluíram que as propriedades físico-químicas da superfície laser aumentaram a interação osso/implante quando comparados aos implantes usinados.

A deposição de silicato de sódio na superfície modificada por laser foi realizada no intuito de torná-la bioativa. Kokubo et al [28] relataram que ocorre uma interação físico-química desta superfície com os fluidos orgânicos para

posterior deposição óssea. A interação ocorre pela ligação do titanato de sódio, formado a partir da reação do hidróxido de sódio (NaOH) com a superfície irradiada por laser, com o silicato de sódio, deixando assim a superfície reativa. O resultado final é facilitar a diferenciação e proliferação em células de origem osteoblásticas. Na análise EDS verificou-se presença de Na, Cl, e Si que são elementos provenientes da solução de deposição.

A morfologia das superfícies mensuradas pela rugosidade média parece estar relacionada com o nível de contato osso/implante [22,31,32,33]. Pelos resultados obtidos na análise de rugosimetria observou-se que as (SL) e (SS) apresentaram valores de rugosidade média estatisticamente superior ($p < 0,05$) quando comparadas às (SU) e (SA). Vercaigne et al. [34] avaliando as superfícies de implantes recobertos por plasma-spray de Ti (TPS), TPS associado ao condicionamento ácido, e TPS recobertos por HÁ implantados em cabras verificaram correlação diretamente proporcional entre valores de rugosidade média com valores de torque de remoção.

A força de torque reverso para remoção de implantes tem sido empregada em muitos trabalhos experimentais para avaliar a osseointegração [24,35], mesmo que de forma indireta, e tem se mostrado confiável quando confrontada com a porcentagem de tecido ósseo em contato com o implante [36]. Esta análise foi introduzida com o objetivo de mensurar a força necessária para romper a interface formada entre osso e implante [11].

A análise estatística realizada nos dados provenientes do ensaio biomecânico mostrou que o torque de remoção dos implantes (SU) apresentou valores inferiores ($p < 0,05$) às demais superfícies nos períodos de 30 e 60 dias. Isto demonstra que os implantes de superfície usinada são dependentes do

tempo de cicatrização [10,14,37]. O método de modificação de superfícies por condicionamento ácido, amplamente discutido na literatura tem apresentado resultados favoráveis [10,15,17,18,19,38], como observado neste estudo, em que a (SA) foi superior à (SU) nos períodos de 30 e 60 dias. Entretanto, quando comparada com a (SL) e (SS), a (SA) apresentou torque-reverso inferior ($p < 0,05$) no período de 30 dias. Resultados semelhantes foram encontrados por Faeda et al. [14], que compararam implantes de superfície modificada por laser com implantes de superfícies modificada por associação de jateamento e condicionamento ácido (SMC) empregando-se a análise biomecânica. Os autores obtiveram valores maiores de torque de remoção para superfície laser comparada a SMC nos períodos iniciais. A (SS) constituiu uma superfície experimental ainda não relatada na literatura, e que apresentou resultados morfológicos, físico-químicos e biomecânicos semelhantes à (SL). Os valores de torque-reverso obtidos para (SS) foram superiores aos (SL), embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa entre elas.

Os dados obtidos pela análise biomecânica puderam ser ratificados pela avaliação da topografia por meio do MEV nos implantes removidos no período de 30 dias. As imagens obtidas indicaram que o rompimento ósseo ocorreu predominantemente na interface osso/implante para (SU) e (SA), enquanto nas (SL) e (SS) o rompimento ocorreu no osso adjacente à interface, confirmado pelos resultados obtidos no EDS, em que mostraram picos maiores de Ca e P nas superfícies (SL) e (SS) quando comparados às (SU) e (SA).

CONCLUSÃO

1 – As caracterizações das superfícies (SL) e (SS) produziram importantes modificações nas propriedades físico-químicas e topográficas, comparado às (SU) e (SA), favorecendo a interação do tecido ósseo com o implante nos períodos iniciais do processo de reparo;

2 – Para (SL) e (SS) a fratura promovida pelo ensaio biomecânico ocorreu na interface osso/osso.

Referências

- [1] Bränemark PI, Nemark PI, Adell R, Albrektsson T et al. Osseointegrated titanium fixtures In the treatment of edentulouness. *Biomaterials* 1983; 4: 25-28.
- [2] Carvalho PSP, Ponzoni D. Aspectos biológicos da osseointegração. In: Gomes, LA. *Implantes osseointegrados: técnica e arte*. São Paulo: Ed. Santos. 2002: 1-9.
- [3] Gottlander M, Johansson CB, Wennerberg A, Albrektsson T, Radin S, Ducheyne P. Bone tissue reactions to an electrophoretically applied calcium phosphate coating. *Biomaterials* 1997; 18: 551-557.
- [4] DAVIES JE. Bone engineering. (ed 1). Toronto, 2000; 1-14.
- [5] DAVIES JE. Understandding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003; 67: 932- 940.
- [6] Roberts WE. Bone tissue interface. *J Dent Educ* 1988; 52: 804-809.
- [7] Watzek G, Zechner W, Ulm C, et al. Histologic and histomorphometric analysis of three types of dental implants following 18 months of occlusal loading: A preliminary study in baboons. *J Clin Oral Impl. Res* 2005; 16: 408-416.
- [8] Shibli JA, Grassi S, de Figueiredo LC, Feres M, Marcantônio E Jr., Lezzi G, Piatelli A. Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007 Feb; 80 (2): 377-385.
- [9] Albrektsson T, Wennerberg A. Oral Implant Surfaces: Part 1-Review Focusing on Topographic and Chemical Properties of Different Surfaces and in Vivo Responses to Them. *Int J Prosthodont* 2004; 17 (5): 536-543.
- [10] Klokkevold PR, Jhonson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD. Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12 (4): 350-357.
- [11] Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T et al. Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1988; 3 (1): 21-24.

- [12] Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran D, Nolte LP. Removal torque values of titanium Implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard 1998; 13(5): 611- 619.
- [13] Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface on bone integration of titanium implants. a histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res Hoboken* 1991; 25(7): 889-902.
- [14] Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio EJR. Biological performance of chemical hidroxyapatite coating associated with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibiae. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67(8): 1706-1715.
- [16] Veis AA, Trisi P, Papadimitriou S, Tsirlis AT, Parissis NA, Desiris AK, Lazzara RJ. Osseointegration of osseotite and machined titanium implants in autogenous bone graft. a histologic and histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2004; 15(1): 54-61.
- [17] Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Krol JJA. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 1995; 6(1): 24-30.
- [18] Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, Caputo A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 1997; 8(6): 442-447.
- [19] Lazzara RJ, Testori T, Trisi P, Porter SS, Weinstein RL. A human histologic analysis of osseotite and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent Chicago* 1999; 19(2): 117-129.
- [20] Trisi P, Lazzara R, Rao W, Rebaudi A. Bone-implant contact and bone quality: evaluation of expected and actual bone contact on machined and osseotite implant surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent Chicago* 2002; 22(6): 535-545.
- [21] Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol Chicago* 2003; 74(7):945-956.
- [22] Stach RM, Kohles SS. A meta-analysis examining the clinical survivability of machined surface and osseotite in poor quality bone. *Implant Dent Baltimore* 2003; 12(1): 87-96.

- [23] Gaggl A, Schultes G, Müller WD, Karcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces- a comparative study. *Biomaterials* Guilford 2000; 21(10): 1067-1073.
- [24] Lavis L, Grevey D, Langlade C, Vannes B. The early stage of the laser induced oxidation of titanium substrates. *Appl surface Sci*, Amsterdam 2002; 186(1-4): 150-155.
- [25] Cho AS, Jung SK. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials* 2003; 24(26): 4859-4863.
- [26] Braga FJC, Marques RFC, Almeida-Filho E, Guastaldi, AC. Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. *Applied Surface Science* 2007; 253(23): 9203-9208.
- [27] Aparecida AH, Fook MV, Guastaldi AC. Biomimetic apatite formation on ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. *J Mater Sci: Mater Med* 2009; 20(6): 1215-1222.
- [28] Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* 2003; 24(13): 2161-2175.
- [29] Shepers ET. Bioactive glass particles of narrow size range: A new material for the repair of bone defects. *Implant Dent* 1993; 2: 151-156.
- [30] Faeda, RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio E JR. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. biomechanical study in rabbit tibiae. *Brazilian Oral Research* 2009; 23(2): 137-143.
- [31] Sandrini E, Giordano C, Busini V, Signorelli E, Cigada A. Apatite formation and cellular response of a novel bioactive titanium. *J Mater Sci Mater Med* 2007; 18: 1225-1237.
- [32] Cooper LF. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosthet Dent Saint Louis* 2000; 85(5): 522-534.
- [33] Wennerberg A, Albrektsson T. Structural influence from calcium phosphate coatings and its possible effect on enhanced bone integration. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 333-340.
- [34] Coelho PG, Cardaropoli G, Suzuki M, Lemons JE. Early healing of nanothickness bioceramic coating on dental implants. an experimental study in

dogs. *J Biomed Mater Res B Applied Biomater Hoboken* 2009; 88B(2): 387-393.

[35] Vercaigne S, Wolke JG, Naert I, Jansen JA. Bone healing capacity of titanium plasma-sprayed and hydroxyapatite-coated oral implants. *Clin Oral Implants Res* 1998; 9: 261-271.

[36] Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 1992; 7(1): 62-71.

[37] Moroni A, Faldini C, Marchetti S, Manca M, Consoli V, Gianini S. Improvement of the bone pin interface strength in osteoporotic bone with use hydroxyapatite-coated tapered external-fixation pin. a prospective randomized clinical study of wrist fractures. *J Bone Joint Surg Am Boston* 2001; 83A(5): 717-721.

[38] Son WW, Zhu X, Shin HI, Ong JL, Kim KH. In vivo histological response to anodized and anodized-hydrothermally treated titanium implants. *J Biomed Mater Res B Applied Biomater Hoboken* 2003; 66B(2): 520-525.

[39] Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snetivy D, Nolte LP. Interface shear strength of titanium implants with sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res B Applied Biomater Hoboken* 1999; 45B(2): 75-83.

Figuras – Capítulo I

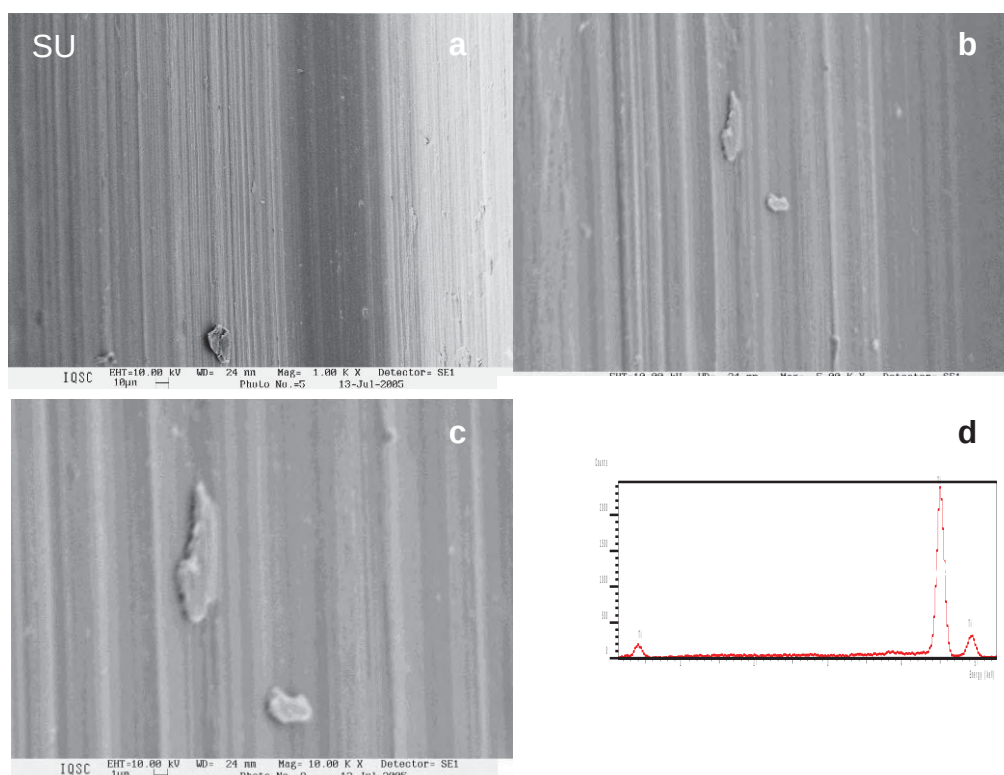


Figura 1 a, b, c – MEV: SU (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação.

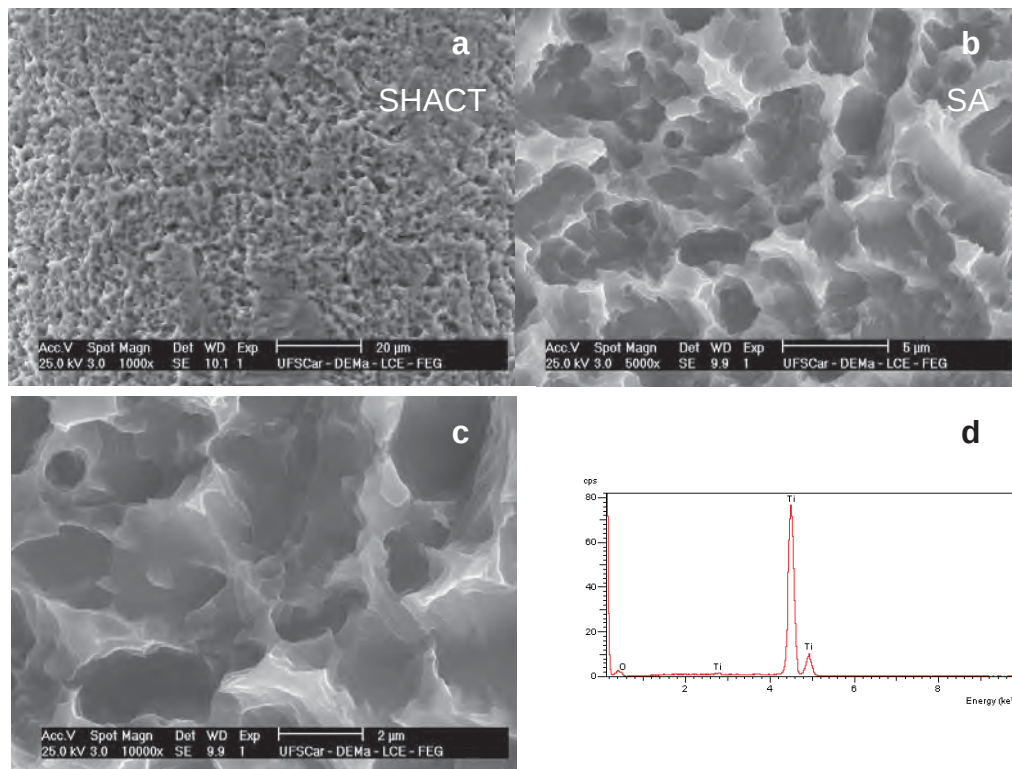


Figura 2 a, b, c – MEV: SA (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação.

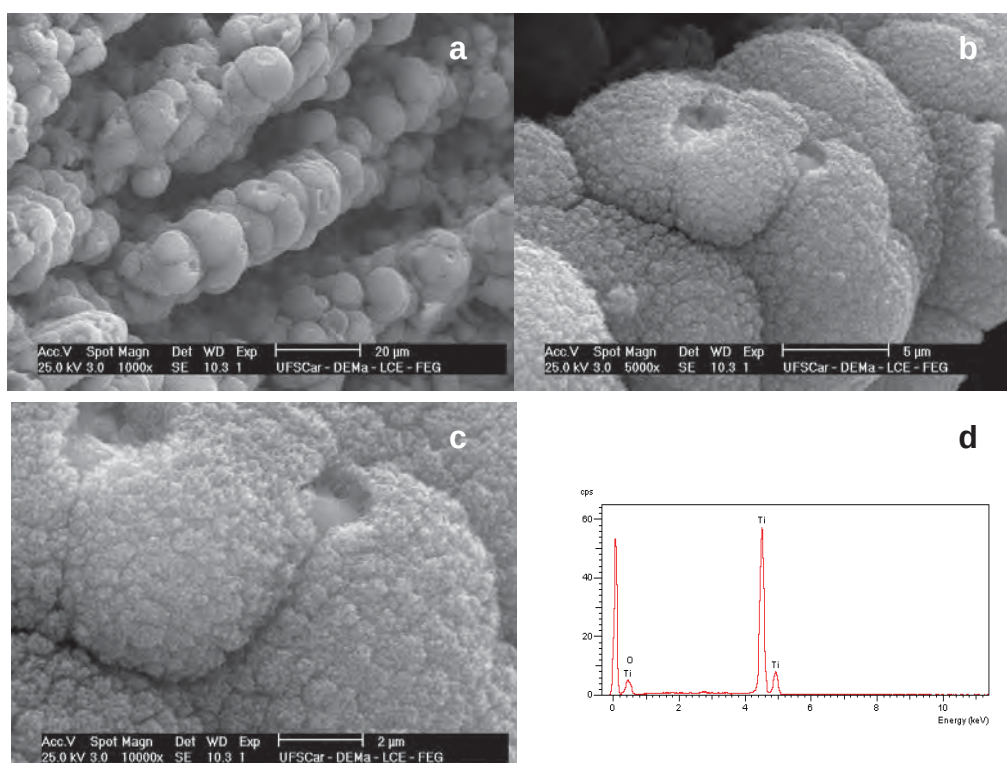


Figura 3 a, b, c – MEV: SL (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação.

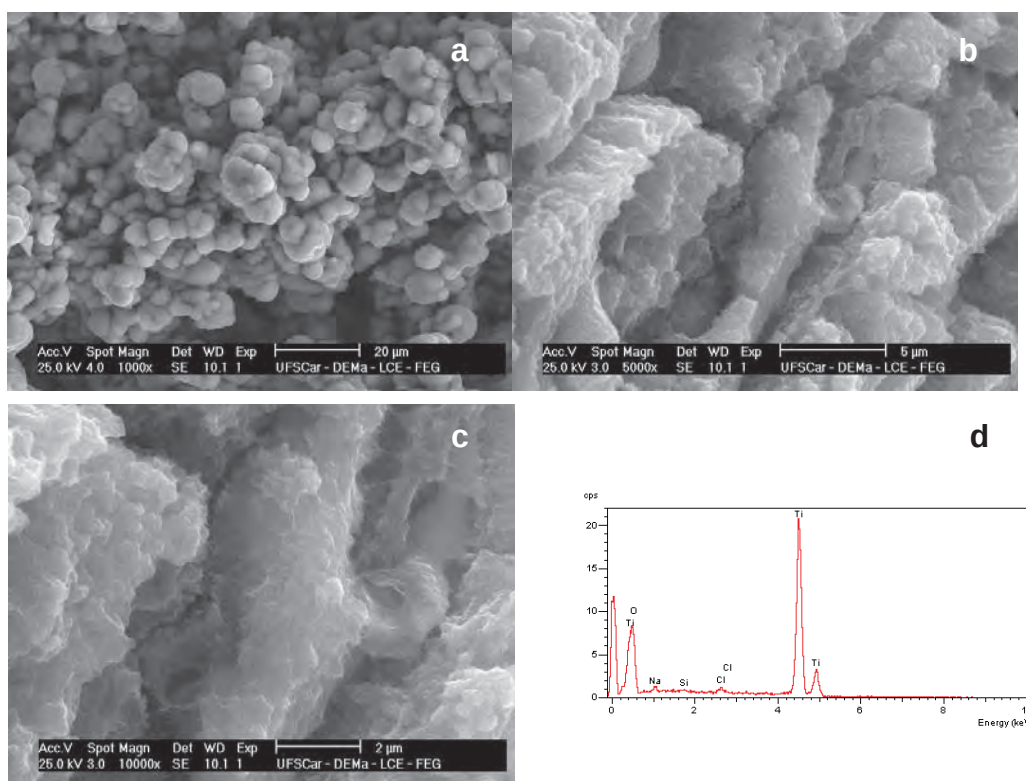


Figura 4 a, b, c – MEV: SS (1000X, 5000X e 10000X). d – EDS pré-implantação

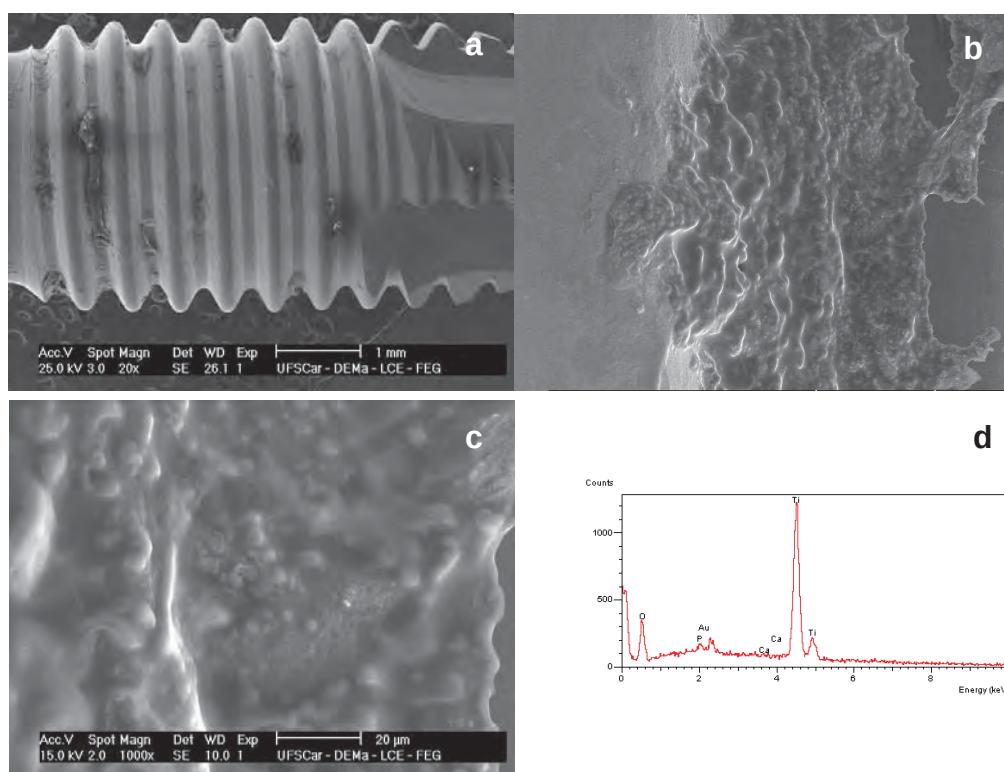


Figura 5 a, b, c – SU: MEV (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação.

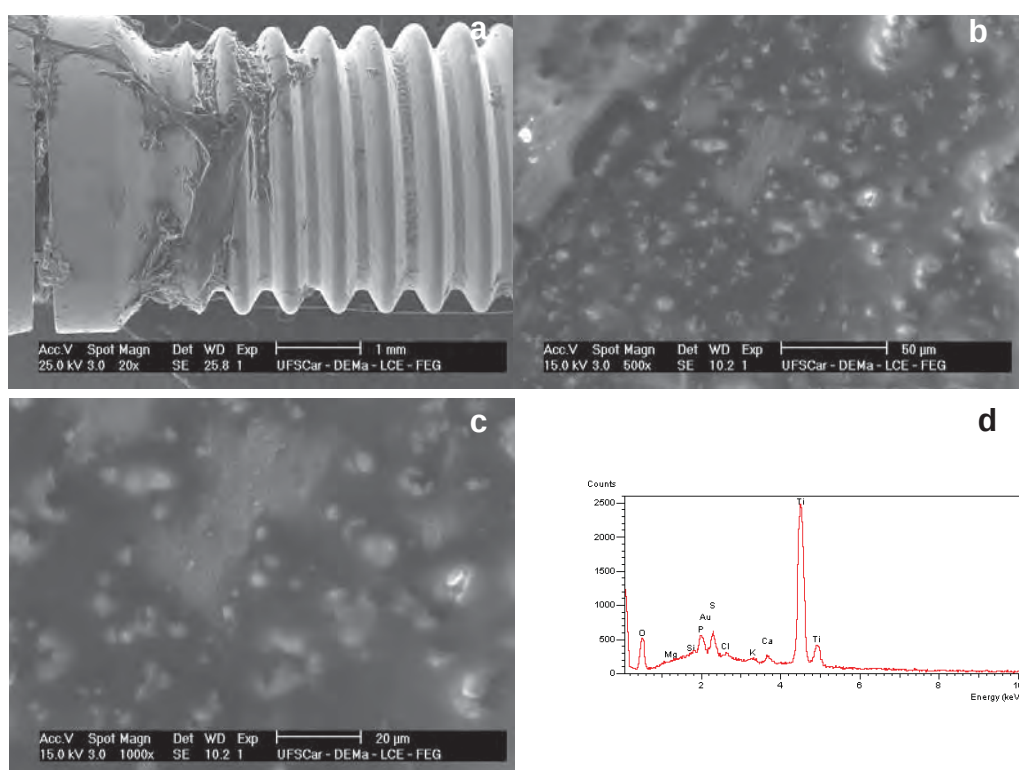


Figura 6 a, b, c – SA: MEV (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação.

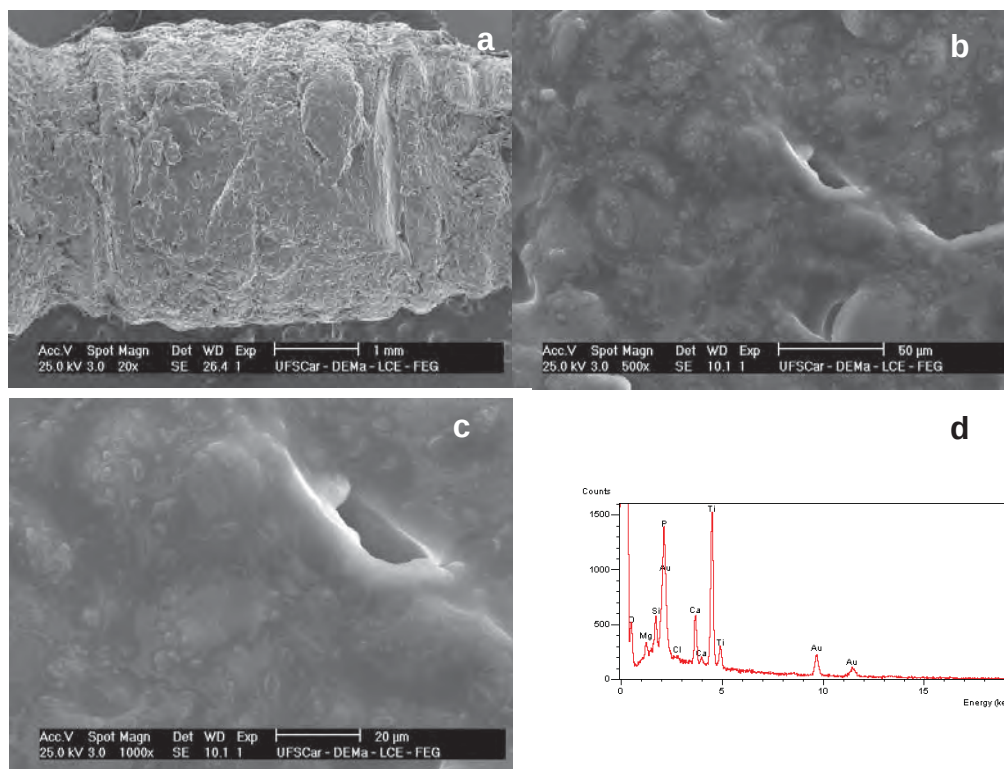


Figura 7 a, b, c – MEV: SL (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação.

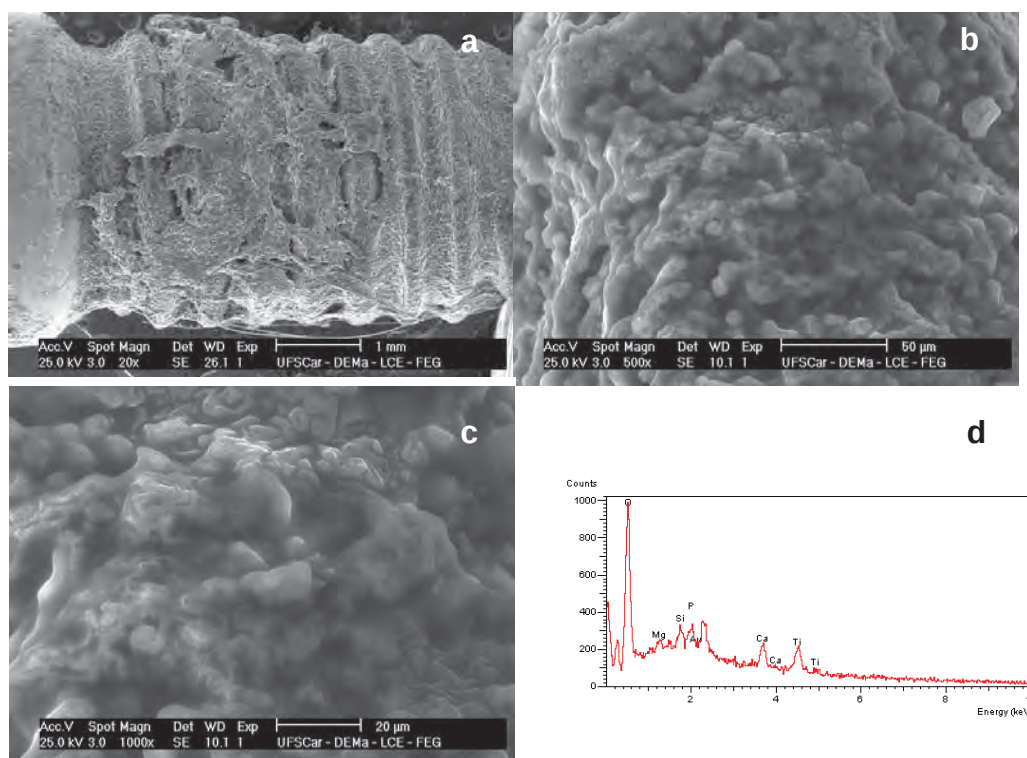


Figura 8 a, b, c – MEV: SS (20X, 500X e 1000X). d – EDS pós-implantação.

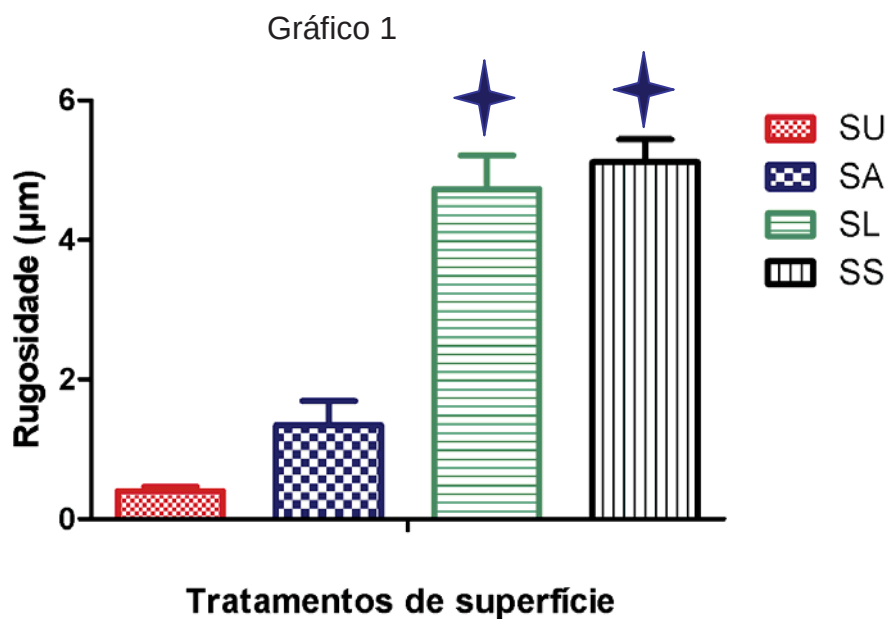


Figura 9: Rugosidade média e desvio-padrão (DP) das diferentes superfícies. Diferença significativa* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Bonferroni test.

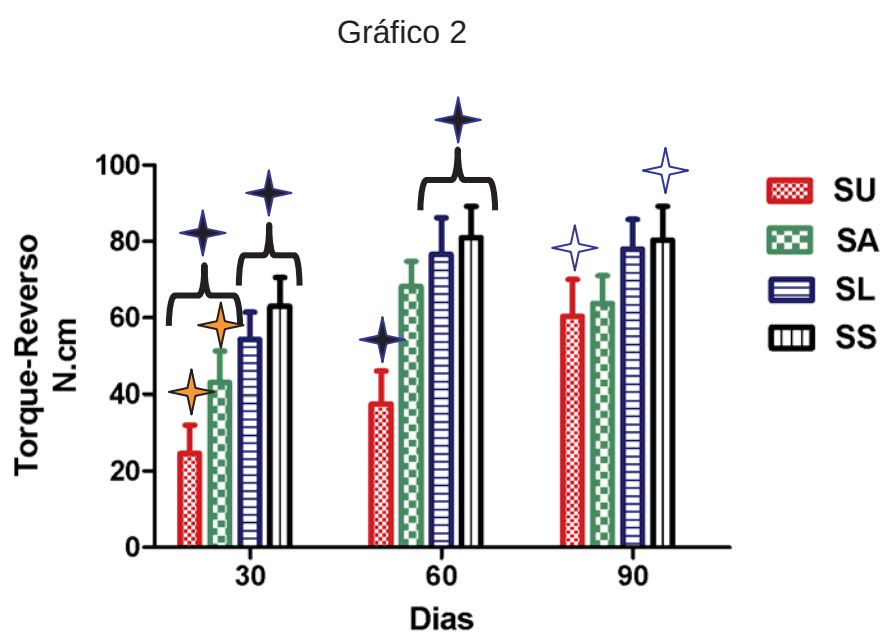


Figura 10: Médias e DP de torque-reverso (N.cm) para as superfícies analisadas, nos diferentes períodos. Diferença significativa* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Teste de Tukey.

Normas para Publicação Capítulo I

Instructions To Authors

Journal of Biomedical Materials Research Part A

Information for Contributors

Aims and Scope

The Journal of Biomedical Materials Research Part A is an international, interdisciplinary, English-language publication of original contributions concerning studies of the preparation, performance, and evaluation of biomaterials; the chemical, physical, toxicological, and mechanical behavior of materials in physiological environments; and the response of blood and tissues to biomaterials. The Journal publishes peer-reviewed articles on all relevant biomaterial topics including the science and technology of alloys, polymers, ceramics, and reprocessed animal and human tissues in surgery, dentistry, artificial organs, and other medical devices. The Journal also publishes articles in interdisciplinary areas such as tissue engineering and controlled release technology where biomaterials play a significant role in the performance of the medical device.

The Journal of Biomedical Materials Research is the official journal of the Society for Biomaterials (USA), the Japanese Society for Biomaterials, the Australasian Society for Biomaterials, and the Korean Society for Biomaterials.

Articles are welcomed from all scientists. Membership in the Society for Biomaterials is not a prerequisite for submission.

Online Submission and Peer Review

In taking a step toward expediting the publication process, Journal of Biomedical Materials Research Part A is pleased to offer web-based submission and peer review.

To submit your manuscript online please:

Log on to <http://mc.manuscriptcentral.com/jbmr-a>. If you have not already done so, create an account for yourself in the system by clicking on the "Create an Account" button. To monitor the progress of your manuscript throughout the review process, just login periodically and check your Author Center.

Please be sure to study the Instructions and Forms given at the site carefully, and then let the system guide you through the submission process. Online help is available to you at all times during the process. You are also able to exit/re-enter at any stage before finally "submitting" your work. All submissions are kept strictly confidential. If you have any questions, do not hesitate to contact us at [jbmr@wiley.com](mailto:jbmra@wiley.com).

To ensure the most rapid review process for submitted manuscripts, it is now a requirement for authors to suggest at least 4 possible reviewers for their paper with complete contact information, including name, affiliation, and email address.

All correspondence should be sent to the Journal Administration Office, Attn: Ms. Lisa Brodsky, Assistant Managing Editor, Journal of Biomedical Materials Research Editorial Office, c/o John Wiley & Sons, Inc., 111 River Street (MS 8-02), Hoboken, NJ 07030-5774.

Authors in Japan please note: Wiley-Japan can provide authors in Japan with a list of recommended services to check and improve the English in their papers BEFORE SUBMISSION. Please see the site as follows:

http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp

Copyright Transfer Agreement/Permissions: No article can be published unless accompanied by a signed copyright transfer agreement, which serves as a transfer of copyright from author to publisher. A copy of the agreement, executed and signed by the author, is now required with each manuscript submission. (If the article is a "work made for hire," the agreement must be signed by the employer.) A copyright transfer agreement (CTA) will be attached to the decision letter when a paper is accepted. You may also locate the CTA at <http://www3.interscience.wiley.com/homepages/30728/nscta.pdf>. Only original papers will be accepted and copyright in published papers will be vested in the publisher. It is the author's responsibility to obtain written permission to reproduce material that has appeared in another publication.

Use of Animals: When animals are used in the research reported, the authors must state: "NIH guidelines (or for non-U.S. residents similar national regulations) for the care and use of laboratory animals (NIH Publication #85-23 Rev. 1985) have been observed." In studies involving human subjects, the authors must include; "all subjects enrolled in this research have responded to an Informed Consent which has been approved by my Institutional Committee on Human Research and that this protocol has been found acceptable by them." The dates of approval

by the Committee and the ethical guidelines followed should be made a part of the Methods section.

Conflict of Interest. JBMR has adopted a policy that requires authors to make a statement concerning potential conflict of interest relating to their submitted articles. They must select one of the following applicable statements as indicated by superscript following the title of their manuscripts.

1. The author, or one or more of the authors, has received or will receive remuneration or other prerequisites for personal or professional use from a commercial or industrial agent in direct or indirect relationship to their authorship.
2. The benefits accruing to the author or authors from a commercial or industrial party will be applied to a research fund, nonprofit institution or other organization with which the author(s) are associated.
3. No benefit of any kind will be received either directly or indirectly by the author(s).
4. The author(s) choose not to respond to any of the above listed statements.

Instructions for Manuscript Preparation

Manuscript: For optimal production, prepare manuscript text in size 12 font on 8-1/2 x 11 inch page, double-spaced, with at least 1-inch margins on all sides. Text files should be formatted as .doc or .rtf files. **Please note: This journal does not accept Microsoft WORD 2007 documents at this time. Please use WORD's "Save As" option to save your document as an older (.doc) file type.** Refrain from complex formatting; the Publisher will style your manuscript according to the Journal design specifications. Do not use desktop publishing software such as PageMaker or Quark Xpress or other software such as LaTeX. If you prepared your manuscript with one of these programs, export the text to a word processing format. Please make sure your word processing programs "fast save" feature is turned off. Please do not deliver files that contain hidden text: for example, do not use your word processor's automated features to create footnotes or reference lists.

Please be sure to submit your illustrations and tables as separate files; the system will automatically create a pdf file of your paper for the reviewers.

Title Page: The name(s) and affiliation of the author(s) should appear only on a separate title page. Please do not mark any other parts of the manuscript with name(s) and affiliation(s) of author(s). Use only a short title on the following pages of the manuscript. Author(s) name(s) should not be used. The paper should be subdivided into the expected classical sections and, if necessary, subsections. Manuscripts including references (but not figures or tables) should be no longer than 18 pages.

Abstract: A short synopsis (200 words or less) is required for all papers. This synopsis should be carefully prepared, for it is the source of most abstracts. The synopsis should be a summary of the entire paper, not the conclusions alone, and should precede the main body of the paper.

Keywords: The author is requested to supply, below the synopsis, a list of five keywords or phrases that most clearly typify the outstanding points made in the manuscript.

References:

Wiley's Journal Styles Are Now in EndNote. EndNote is a software product that we recommend to our journal authors to help simplify and streamline the research process. Using EndNote's bibliographic management tools, you can search bibliographic databases, build and organize your reference collection, and then instantly output your bibliography in any Wiley journal style.

To download the reference style for this Journal or to purchase a copy of EndNote, go to the following URL: www.interscience.wiley.com/jendnotes. For technical support using EndNote, contact endnote@isiresearchsoft.com, or visit www.endnote.com/support.

All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. Sample references follow:

1. King VM, Armstrong DM, Apps R, Trott JR. Numerical aspects of pontine, lateral reticular, and inferior olivary projections to two paravermal cortical zones of the cat cerebellum. *J Comp Neurol* 1998;390:537-551.
2. Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. New York: John Wiley & Sons; 1990. 1223 p.
3. Gilmor ML, Rouse ST, Heilman CJ, Nash NR, Levey AI. Receptor fusion proteins and analysis. In: Ariano MA, editor. *Receptor localization*. New York: Wiley-Liss; 1998. p 75-90. Please note that journal title abbreviations should conform to the practices of Chemical Abstracts.

Figure Legends: Please supply complete captions for all figures. Captions are to appear on a separate page at the end of the manuscript. **Symbols and Equations:** Authors are cautioned to type, wherever possible, all mathematical and chemical symbols, equations, and formulas and to identify in the margin all Greek or unusual symbols the first time they are used (e.g., k , K , x , γ). Underline all vector quantities with a wavy line. Use fractional exponents to avoid root signs. When mentioning a material, chemical reagent, instrument or other product, use the generic name only. If further identification (proprietary name, manufacturer's name and address) is required, list it as a footnote.

Tables: Please save Tables separately and supply numbers and titles for all. All table columns should have an

explanatory heading. Tables should be submitted as doc or rtf files (it is preferred that tables are prepared using Word's table edit tool).

Illustrations: When preparing digital art, please consider:

Resolution: The minimum requirements for resolution are:

1200 DPI/PPI for black and white images, such as line drawings or graphs.

300 DPI/PPI for picture-only photographs

600 DPI/PPI for photographs containing pictures and line elements, i.e., text labels, thin lines, arrows.

These resolutions refer to the output size of the file; if you anticipate that your images will be enlarged or reduced, resolutions should be adjusted accordingly.

Formats:

For the editorial review process, GIF and JPEG files are acceptable; upon submission of a revision, TIFF or EPS files will be required. For the editorial review process, color images may be submitted in RGB color; upon revision, CMYK color will be required. Delivery of production-quality files early in the review process may facilitate smooth and rapid publication once a manuscript has been accepted.

Note that these file formats are not acceptable for printing: JPG, GIF, PNG, PCX, PNG, XBM, Word, and Excel. We recommend creating your graphics in Photoshop, Illustrator, or Freehand and importing them into your page applications as TIFFs with all fonts included. Do not scan figures as JPEGs and convert to TIFFs. For further guidance on preparing digital figure files, authors are encouraged to visit

<http://cjs.cadmus.com/da/applications.asp>.

To ensure that your digital graphics are suitable for print purposes, please go to RapidInspector™ at <http://rapidinspector.cadmus.com/zwi/index.jsp>. This free, stand-alone software application will help you to inspect and verify illustrations right on your computer.

A legend must be provided for each illustration and must define all abbreviations used therein. Legends should be placed at the end of the manuscript text file.

Color Illustrations: Color figures are generally printed in the Journal at the author's expense. The publisher will provide cost estimates prior to printing. A limited number of color figures that are of critical importance and that significantly enhance the presentation will be considered for publication at the publisher's expense subject to editorial recommendation. Final decision on publication of color figures will be at the discretion of the Editor. All color figures will be reproduced in full color in the online edition of the journal at no cost to authors. For best reproduction, bright, clear colors should be used. Dark colors against a dark background do not reproduce well; please place your color images against a white background wherever possible.

Author Alterations or Revisions. It is absolutely necessary to limit alterations to factual and typographical errors. Authors will be charged for revisions, and publication of their work will be delayed. In order to expedite the publication and online posting of articles in Wiley InterScience, JBMR sends page proofs (and paperwork, such as reprint order forms) in pdf format via e-mail to the corresponding author's e-mail address. Please follow the instructions in the e-mail; contact names and numbers are given for questions, problems, or if an author wishes to receive a paper proof.

Reprints: A reprint order form is sent with author's proofs. The form is to be returned, prepaid, with corrected proofs. Reprints are mailed approx. 6-8 weeks post publication. Society For Biomaterials members receive a 25% discount on offprint orders placed prior to publication of their Contributions.

Note to NIH Grantees:

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate.

CAPÍTULO II

Análise histométrica de implantes *Ti-cp* com superfícies modificadas por laser sem e com depósito de sílica

Resumo

Proposição: Considerando que o processo de reparo da interface formada entre osso e implante é dependente de uma série de fatores, entre eles as propriedades físico-químicas das superfícies, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento biológico do tecido ósseo ao redor de implantes diante das superfícies experimentais modificada por laser (SL), modificada por laser com depósito de silicato de sódio (SS), e das superfícies disponíveis comercialmente, modificada por condicionamento ácido (SA) e superfície usinada (SU).

Materiais e Métodos: A caracterização topográfica das superfícies foi realizada por MEV-EDX, e medidas de rugosidade, previamente a cirurgia experimental. Trinta coelhos receberam 60 implantes de hexágono externo com dimensões de $3,75 \times 10\text{mm}$ em suas tíbias direita e esquerda, sendo um implante de cada superfície em cada tíbia. Após períodos de 4, 8 e 12 semanas os animais foram submetidos à eutanásia. As peças obtidas foram levadas ao micrótomo para corte sem descalcificação. A análise histométrica foi realizada empregando-se microscopia óptica. Foi mensurada a extensão linear de contato entre osso e implante (*ELCOI*), e a área óssea (*AO*). Os dados obtidos foram submetidos à análise variância e ao teste *t* de Tukey. Uma lâmina de cada superfície do período de 4 semanas foi metalizada para realização da análise do mapeamento elementar por MEV-EDX.

Resultados: A caracterização topográfica mostrou diferenças entre as superfícies analisadas, e os valores de rugosidade média das SL e SS foram

estatisticamente superiores a SA. A (*ELCOI*) e (*AO*) dos implantes SL foram estatisticamente superiores a SA e SU nos períodos de 4, 8 e 12 semanas. A (*ELCOI*) e (*AO*) dos implantes SS foram estatisticamente superiores a SU nos períodos de 4, 8 e 12 semanas, e estatisticamente superiores a SA nos períodos de 8 e 12 semanas. A (*ELCOI*) dos implantes SA foi estatisticamente superior a SU no período de 4 semanas. O mapeamento elementar mostrou altos picos de cálcio e fósforo em todos grupos no período de 4 semanas.

Conclusão: Diante dos resultados obtidos concluiu-se que as modificações experimentais SL e SS promovidas nas superfícies dos implantes aceleraram as fases do processo de reparo do tecido ósseo ao redor de implantes e proporcionaram melhores níveis de osseointegração.

Palavras chave: Reparo ósseo; Laser; Rugosidade de superfície.

Histometric Analysis of *cp Ti* Implants with surfaces modified by laser with and without silica deposition

Abstract

Purpose: Considering that the repair process at the interface formed between bone and implant is dependent on a series of factors, among these the physical chemistry properties of the surface, the aim of this study was to evaluate the biologic behavior of the bone tissue around implants towards the experimental surfaces modified by laser (SL); modified by laser with sodium silicate deposition (SS); and commercially available surfaces modified by acid etching (SA) and machined surfaces (SU).

Materials and Methods: Topographic characterization of the surfaces was performed by SEM-EDX, and by mean roughness measurement before experimental surgery. Thirty rabbits received 60 external hexagon implants measuring $3.75 \times 10\text{mm}$ in their right and left tibias, one implant of each surface being placed in each tibia. After periods of 4, 8 and 12 weeks animals submitted to euthanasia. The tissues obtained were cut by a microtome without decalcification. Histometric analysis was performed using an optical microscope. The bone-interface-contact (*BIC*), and the bone area (*AO*) were measured in percentages. The results obtained were submitted to the analysis of variance and the Tukey *t*-test. A slide of each surface in the period of 4 weeks was metalized in order to analyze the element mapping by means of scanning electron microscopy.

Results: The topographic characterization showed differences between the analyzed surfaces, and the mean roughness values of SL and SS were statistically higher than those of SA. The (*BIC*) of SL implants was statistically

higher than those of SA and SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks. The (*BIC*) of SS implants was statistically higher than that of SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks, and statistically higher than that of SA in the periods of 8 and 12 weeks. The (*BIC*) of SA implants was statistically higher than that of SU only in the period of 4 weeks. Element mapping showed high peaks of calcium and phosphorous in all groups in the period of 4 weeks.

Conclusion: In view of the results obtained, it was concluded that the experimental modifications SL and SS promoted on the surfaces of the implants accelerated the stages of the bone tissue repair process around the implants, providing better levels of osseointegration.

Key Words: Bone Repair; Laser; Surface Roughness.

Introdução

As modificações realizadas nas propriedades morfológicas, químicas, físico-químicas da superfície do implante e sua influência no processo de osseointegração tem sido o objetivo de muitos estudos nos últimos anos. Estes estudos demonstraram que o tratamento de superfície possibilitou maiores valores de torque de remoção,^{1,2,3} e contato osso/implante^{4,5,6} quando comparados aos implantes de superfície usinada. Sugere-se que isto ocorra não somente pelo aumento da área de superfície, mas também pela potencialização das respostas biológicas, levando a aceleração das fases iniciais do processo de reparo ósseo ao redor de implantes.⁷

Portanto, o tratamento da superfície assumiu um papel de grande relevância na osseointegração, melhorando a qualidade e quantidade óssea na interface formada entre osso e implante,^{4,5} favorecendo o processo de reparação em áreas de baixa densidade,⁸ e em situações em que as respostas biológicas estão sabidamente comprometidas, como nos pacientes portadores de diabetes, que foram submetidos a radioterapia e imunosuprimidos.⁶ Estes pacientes até então, apresentavam uma contra-indicação relativa ao uso de implantes osseointegráveis.

As modificações da superfície do implante podem ser realizadas por métodos de adição, como o plasma spray de titânio,^{9,10,11} e recobrimento por hidroxiapatita,^{12,13} ou métodos de subtração, como a modificação por condicionamento ácido,^{6,14} jateamentos,^{8,15} oxidação anódica,^{16,17} e ablação por feixe de laser.^{3,7,18,19} A modificação por feixe de laser é um método recente que tem apresentado resultados promissores.^{3,20} Apresenta as vantagens de

ter um processamento limpo com alto grau de pureza, além de ser realizado de forma controlada e reprodutível.^{7,18,19,20,21}

Atualmente as pesquisas têm se voltado para os recobrimentos da superfície texturizada por biomateriais com o objetivo de torná-la bioativa. Dentre estes recobrimentos destaca-se o silicato de sódio.²² Este compósito é semelhante ao óxido de silício, presente nas cerâmicas de vidro bioativo, que quando em contato com o sangue e células mesenquimais presentes no local, estas diferenciam em osteoblastos e permitem formação óssea por osteocondução.^{23,24} O objetivo final é favorecer a migração e diferenciação de células de origem osteoblástica direto para um arcabouço fornecido pelo coágulo sanguíneo. Diante do exposto o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento biológico do tecido ósseo ao redor de implantes diante das superfícies experimentais modificada por laser (SL), modificada por laser com depósito de silicato de sódio (SS), e das superfícies disponíveis comercialmente, modificada por condicionamento ácido (SA), e superfície usinada (SU).

Material e Métodos

PREPARO DAS SUPERFÍCIES

Foram utilizados neste estudo 60 implantes de hexágono externo, apresentando dimensões de 3,75x10mm (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brasil), com 4 diferentes superfícies, sendo 2, superfícies experimentais, que foram modificadas pelo Grupo de Biomateriais do Instituto de Química – UNESP, Araraquara, e outras 2 comercialmente disponíveis, que constituíram os grupos controles, conforme destacado abaixo:

- I. (SL): Implante de Ti-cp com superfície modificada por Feixe de Laser;
- II. (SS): Implante de Ti-cp com superfície modificada por Feixe de Laser e deposição de silicato de sódio;
- III. (SA): Implante de Ti-cp modificado por condicionamento ácido (Master Porous, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brasil);
- IV. (SU) Implante de Ti-cp e superfície usinada (Máster Screw, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brasil).

Modificação da Superfície por Feixe de Laser

Os implantes de Ti-cp foram fixados em torno rotatório, sob o equipamento de laser Yb: 20W pulsado (Pulsed Ytterbium Fiber Laser, Sistema Omnimark 20F, Ominitek Tecnologia Ltda, São Paulo, Brasil), com os parâmetros de potência nominal de 140mJ, e frequência de pulso de 20 KHz. O feixe de laser foi projetado sobre toda a superfície das espiras do implante, em atmosfera ambiente.

Recobrimento por deposição de silicato de sódio

Os implantes após irradiação da superfície por feixe de laser foram limpos em banho ultra-sônico, imersos em solução de NaOH ($5,0 \text{ Mol.L}^{-1}$), e colocados na estufa por um período de 24 horas a 60°C . Em seguida, foram retirados da solução, e mantidos na estufa por 3 horas a 60°C . Após esta etapa, os implantes foram imersos em solução de silicato de sódio, pH 7,25, e permaneceram em estufa por 24 horas, à temperatura de 37°C .

Após a realização das modificações das superfícies experimentais, os implantes foram enviados a empresa (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brasil) para serem esterilizados e embalados a vácuo.

CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES

A topografia da superfície dos implantes foi analisada, previamente à instalação na tíbia dos coelhos por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV modelo XL 30 TMP, FEG, Philips XL Series, com detector Oxford incaX-sight, Holanda, 97), acoplado ao sistema de espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDX), para análise semi-quantitativa da composição química das superfícies. Além disso, 3 discos de Ti-cp com as quatro diferentes superfícies foram preparados. A rugosidade média (R_m) de cada superfície foi mensurada em 10 pontos, utilizando-se um rugosímetro digital (Mitutoyo SJ-400, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, Brasil). Estes mesmos discos foram analisados em seção transversal, por MEV, para a determinação da espessura de rugosidade.

Nestes mesmos discos

MODELO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 30 coelhos machos (*albinus*, Nova Zelândia), com idade de aproximadamente 5 meses e peso corporal entre 3 e 4 Kg, que receberam 60 implantes (15 implantes de cada tipo de superfície), sendo 1 implante de cada superfície em cada epífise tibial. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com dieta padrão, ração sólida (Procoelho, Primor) e água "*ad libitum*" no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. O estudo foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, e recebeu parecer favorável ao seu desenvolvimento (protocolo número 2007-005035).

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O ato cirúrgico iniciou-se pelo jejum pré-operatório de 8 horas prévias ao ato anestésico. Os animais foram anestesiados pela infiltração intramuscular

(IM) de 50mg/kg de cloridrato de ketamina (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) e 5mg/Kg de cloridrato de xilazina (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda – Osasco, São Paulo, Brasil).

Em seguida, foi realizada tricotomia em ambas as tíbias, direita e esquerda. A degermação e anti-sepsia da região a ser incisada foram realizadas com polivinil pirrolidona iodo degermante (PVPI 10% Degermante, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto), seguido do PVPI tópico (PVPI 10% Tópico, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto). Em seguida, os animais receberam anestesia local por meio de infiltração de cloridrato de mepivacaína (0.3 mL/Kg, Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000, Septodont, França) para auxiliar na hemostasia.

Uma incisão de aproximadamente 3 cm de comprimento foi realizada na região proximal da tíbia, bilateralmente, e o tecido mole foi divulsionado em espessura total, expondo o tecido ósseo para instalação dos implantes. Os leitos cirúrgicos foram preparados por meio de contra ângulo redutor 20:1 (Kavo do Brasil, Florianópolis, Brasil) acoplado a um motor elétrico (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brasil) a 1400 rpm. Foi realizada a seqüência progressiva de fresas, lança, helicoidal de 2,0mm, piloto de 2,0/3,0mm e helicoidal de 3,0mm, com irrigação abundante de solução de cloreto de sódio a 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil). Em seguida, foi instalado um implante de cada tipo de superfície por tíbia, com ancoragem bicortical, a uma velocidade de 20 rpm.

A sutura foi realizada em planos, empregando-se fio absorvível (Poligalactina 910 – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod, São José dos Campos, Brasil) com pontos contínuos no plano muscular, e fio não absorvível

(Mononylon 4.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brasil) com pontos interrompidos no plano da derme.

No pós-operatório os animais receberam administração IM de Pentabiótico (0,1mL/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil) e de Dipirona Sódica (1mg/kg, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil) em dose única. Nos períodos de 4, 8, e 12 semanas pós-operatório, os animais foram submetidos à eutanásia por meio da administração IM de dose letal de Hidrato de Cloral.

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E ANÁLISE HISTOMÉTRICA

As amostras teciduais provenientes das tíbias direita e esquerda, contendo o implante foram removidas e colocadas em formalina neutra tamponada a 10% por um período de 72h. Em seguida foi realizada a desidratação dessas peças em concentrações crescentes de álcoois (etanol 60-100%) e posteriormente, infiltração em resina fotopolimerizável (Technovit 7200 VLC, Kultzer Heraeus GmbH & Co., Wehrheim, Alemanha). Os blocos contendo implante e tecido ósseo peri-implantar foram cortados em um ponto central, empregando-se um micrótomo com sistema de corte e desgaste (Exakt Apparatebau, Hamburgo, Alemanha). As lâminas obtidas apresentaram espessura de aproximadamente 50 µm e foram coradas pelo azul de Estevenel e fucsina ácida. As imagens foram analisadas em microscópio óptico (Diastar, Leica Reichert & Jung products, Alemanha) e capturadas por meio de uma câmera fotográfica digital (Leica Microsystems DFC-300-FX, Alemanha), com resolução de 1.3 megapixels, acoplada ao microscópio de luz.

As análises histométricas foram realizadas por meio do software de análise de imagens IMAGELAB 2000, versão 2.4. Foram calculadas, em

porcentagem, a extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante (*ELCOI*) e a área de tecido ósseo presente (*AO*) entre as 3 espiras mais coronárias, localizadas em osso cortical em cada lado do implante.

A análise do mapeamento elementar foi realizada em uma peça de cada grupo do período de 4 semanas que foi processada novamente, utilizando-se a outra metade do bloco contendo o implante seccionado no ponto central, conforme descrito acima. Estas lâminas obtidas foram metalizadas com ouro para torná-las condutoras, com o objetivo de mapear Cálcio e Fósforo empregando-se MEV-EDX.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos da análise de rugosimetria apresentaram distribuição normal, quando testados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, e foram comparados por meio da análise de variância (ANOVA one-way) e do teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores em porcentagem da *ELCOI* e *AO* obtidos na análise histométrica foram comparados em cada grupo entre si, nos 3 períodos, e para os diferentes grupos em cada período de avaliação. Os dados obtidos também apresentaram distribuição normal. Os valores foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA one-way) e ao teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados

TOPOGRAFIA DAS SUPERFÍCIES DOS IMPLANTES - MEV E EDS

A microscopia eletrônica de varredura das superfícies analisadas demonstrou diferenças topográficas entre elas. As SL (fig1a,b), e SS (fig1d,e)

produziram superfícies rugosas com padrão morfológico mais regular e homogêneo, com estruturas em escala nanométrica (fig.1b,1e). A SA apresentou topografia com padrão morfológico de subtração, com formação de vales de diferentes profundidades e tamanhos (fig1g,h), enquanto a SU apresentou topografia de superfície lisa, contaminadas com restos de usinagem (fig1j,l). A análise por EDX não revelou qualquer contaminação das superfícies analisados. Para a SL, observou-se picos de Ti e oxigênio (fig1c), enquanto a SS revelou a presença de picos de Ti, oxigênio, silício, cloro e sódio (fig1f). Foram observados picos de Ti para as SA (fig1l) e SU (fig1m).

RUGOSIMETRIA

A seção transversal dos discos mostrou uma espessura média de $21,76 \pm 9,05 \mu\text{m}$ para SL (fig2a), $28,75 \pm 10,12 \mu\text{m}$ para SS (fig2b), e $7,84 \pm 3,73 \mu\text{m}$ para SA (fig2c). O MEV em seção transversal da superfície SS (fig2b) mostrou a presença de uma camada “híbrida”, composta pela irradiação com feixe de laser seguida pela deposição do silicato de sódio, não sendo possível distinguir a modificação por feixe de laser do depósito de silicato de sódio, evidenciada pelo EDX (fig.1j).

A análise microtopográfica revelou diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$) entre as superfícies. A rugosidade média das SS ($R_m = 5,12 \pm 0,32 \mu\text{m}$), e SL ($R_m = 4,73 \pm 0,48 \mu\text{m}$) foram estatisticamente superiores às SA ($R_m = 1,34 \pm 0,35 \mu\text{m}$) e SU ($0,4 \pm 0,06 \mu\text{m}$), de acordo com o gráfico 1 (fig3).

ANÁLISE HISTOMÉTRICA

A *ELCOI* dos implantes SL foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) a (SA) e SU nos períodos de 4, 8 e 12 semanas, enquanto a *ELCOI* dos implantes SS foi estatisticamente superior a SU nos períodos de 4, 8 e 12 semanas, e estatisticamente superior a SA nos períodos de 8 e 12 semanas. Já a *ELCOI*

dos implantes SA foi estatisticamente superior ($p<0,05$) a SU somente no período de 4 semanas. Os valores da média e desvio padrão em porcentagem da *ELCOI* de todas as superfícies e períodos estão na tabela abaixo, e ilustrados no gráfico II (fig4).

Períodos (semanas)	Grupos			
	SL	SS	SA	SU
4 sem	69,36 $\pm$ 7,91	60,34 $\pm$ 7,49	49,15 $\pm$ 5,76	36,69 $\pm$ 7,2
8 sem	71,67 $\pm$ 8,79	62,34 $\pm$ 9,10	41,94 $\pm$ 2,85	52,52 $\pm$ 2,75
12 sem	79,69 $\pm$ 3,30	70,67 $\pm$ 7,96	57,18 $\pm$ 7,81	51,31 $\pm$ 6,96

A AO dos implantes SL foi estatisticamente superior ($p<0,05$) a SA e SU nos três períodos analisados. A AO dos implantes SS foi estatisticamente superior ($p<0,05$) a SU nos períodos de 8 e 12 semanas. A AO dos implantes SA foi estatisticamente superior ($p<0,05$) a SU no período de 4 semanas. Os valores da média e desvio padrão em porcentagem da AO de todas as superfícies em todos os períodos estão na tabela abaixo, e ilustrados no gráfico III (fig5).

Período (semanas)	Grupos			
	SL	SS	SA	SU
4 sem	78,59 $\pm$ 5,19	77,81 $\pm$ 3,89	75,21 $\pm$ 7,17	62,52 $\pm$ 5,30
8 sem	87,17 $\pm$ 5,90	78,64 $\pm$ 3,37	77,49 $\pm$ 5,83	74,01 $\pm$ 4,68
12 sem	87,99 $\pm$ 2,52	78,92 $\pm$ 3,46	76,42 $\pm$ 5,98	73,81 $\pm$ 4,91

A análise qualitativa do tecido ósseo ao redor dos implantes SL (fig.6a) e SS (fig.6d) no período de 4 semanas revelou um tecido ósseo cortical mais

maduro devido a disposição regular e mais homogênea das fibras colágenas, com formação de lamelas concêntricas (setas azuis), e pequenas áreas de tecido conjuntivo imaturo (corado pelo azul de Estevenel), com presença de osteoblastos dispostos em paliçada (setas pretas). Nos períodos 8 e 12 semanas verificou-se em SL (fig.6b,c), e SS (fig.6e,f) maior maturação tecidual e manutenção de significativa interface de contato entre as superfícies e o tecido ósseo. Nos implantes SS não foi possível notar nenhum desgarramento do material depositado, silicato de sódio na superfície em todos os períodos (fig.6d,e,f).

Já nos implantes SA (fig6.g) e SU (fig,6j) no período de 4 semanas houve menor quantidade de trabéculas ósseas entre as espiras dos implantes na região cortical, e estas entremeadas por tecido conjuntivo imaturo, com fibras colágenas dispostas menos ordenadamente (setas pretas). Em algumas regiões verificou-se nítida separação entre tecido ósseo pré-existente e tecido ósseo neoformado (setas azuis). Nos períodos de 8 e 12 semanas, o padrão ósseo de SA (fig6.h,i) e SU (fig6.l,m) foi mais maduro, com maior interface de contato da superfície com o tecido ósseo, embora fosse possível notar a presença de algumas áreas de tecido conjuntivo imaturo entre as trabéculas ósseas e a permanência de tecido ósseo pré-existente, ainda não remodelado em algumas regiões (fig6.h,l setas pretas).

MAPEAMENTO ELEMENTAR

A análise da distribuição e homogeneidade de Cálcio e Fósforo das lâminas revelou presença de altos picos desses elementos em todos os grupos, destacando-se as cores: Azul para o Titânio, vermelho para o Fósforo e

verde para o Cálcio. As sobreposições das imagens dos diferentes elementos para cada grupo, e o EDX dos mesmos estão destacados na figura 7.

Discussão

Os diferentes métodos de texturização em implantes osseointegráveis conferem à superfície do mesmo uma topografia mais rugosa, o que interfere diretamente nas respostas celulares e, conseqüentemente nos níveis e velocidade de deposição óssea.^{3,25,26} Este estudo mostrou que as modificações topográficas realizadas na superfície do implante possibilitaram efeitos positivos no processo de deposição óssea quando comparados aos implantes de superfície usinada. No entanto as modificações topográficas experimentais de ablação por laser SL e ablação por laser e depósito de silicato de sódio SS foram as que apresentaram melhores resultados, acelerando as fases do processo de reparo ósseo ao redor de implantes e proporcionando melhores níveis de osseointegração.

Esta modulação da resposta biológica foi comprovada pelos valores de *ELCOI* e *AO* em porcentagem encontrado nos implantes SL e SS, que de um modo geral foram superiores aos implantes SU e SA em todos os períodos analisados. Estes achados são conseqüências da modificação experimental da superfície do implante, provenientes da ação do feixe de laser em atmosfera ambiente, proporcionando interações físico-químicas desta superfície com os elementos oxigênio, nitrogênio, e carbono. Ratificando os achados acima, estudos anteriores,^{3,7,18,19} encontraram resultados semelhantes aos deste trabalho, em que as propriedades físico-químicas da superfície modificada por feixe de laser aceleraram as fases do reparo ósseo ao redor de implantes.

Este mesmo nível de contato entre a superfície do implante e tecido ósseo, neste estudo evidenciado pela porcentagem da *ELCOI*, parece estar relacionado com os valores de rugosidade média.^{27,28,29} Pelos resultados obtidos na análise microtopográfica observou-se que as SL e SS apresentaram valores de rugosidade média estatisticamente superior ($p < 0,05$) quando comparadas às SU e SA, dados que foram diretamente proporcionais com a porcentagem da *ELCOI* e *AO*, que foram maiores nas SL e SS.

A morfologia topográfica das superfícies analisadas por MEV-EDS antes dos implantes serem instalados evidenciaram que as SL e SS apresentaram uma morfologia complexa, com cavidades regulares, semelhantes a um favo de mel, livre de impurezas e com estruturas em escala nanométrica. A aplicação da nanotecnologia corresponde a mais uma etapa no processo de desenvolvimento das superfícies de implantes osseointegráveis, e indicam uma modulação na resposta tecidual. Estudos recentes^{30,31,32} indicaram que a hipótese mais provável para esta melhor resposta tecidual foi a existência de nanoestruturas no tecido ósseo, e que a interação entre tecido ósseo e biomaterial ocorra também nesta escala.

O silicato de sódio foi depositado na superfície modificada por laser para torná-la bioativa. O processo de incorporação biológica baseia na reação físico-química desta superfície com os fluidos orgânicos para posterior deposição óssea.²² A interação ocorre pela ligação do titanato de sódio, formado a partir da reação do hidróxido de sódio (NaOH) com a superfície irradiada por laser, com o silicato de sódio, deixando assim a superfície reativa. O objetivo foi facilitar a diferenciação e proliferação em células de origem osteoblásticas. Neste trabalho o comportamento desta superfície apresentou resultados

favoráveis na interação com o tecido ósseo, conforme resultados da análise histométrica.

Atualmente há uma preocupação com o uso dos materiais de recobrimento em superfícies de implantes. Esta preocupação deve-se ao risco de deslocamento do material depositado, ocasionando processo inflamatório e perda óssea em função da fagocitose do material incorporado, levando a ruptura da interface formada entre tecido ósseo e superfície do implante. A deposição do silicato de sódio na superfície previamente modificada por feixe de laser não apresentou este problema, uma vez que os valores em porcentagem da *ELCOI* da SS foram muito próximos aos da SL. Aparecida et al. 2009³³ afirmaram que o laser apresenta a propriedade físico-química de formação de uma camada rica em oxigênio e incorporação de nitrogênio durante a fusão e solidificação rápida do titânio, deixando a superfície reativa, facilitando a incorporação do material de recobrimento. Além disso, em geral esta preocupação não afeta os métodos de texturização por subtração, como a ablação por laser, uma vez que a maioria dos problemas de deslocamento ocorridos até então foram relatados no método de adição de plasma spray de hidroxiapatita.^{34,35}

Sendo assim, dentro das limitações do presente estudo, os resultados obtidos sugerem que as caracterizações experimentais realizadas nas superfícies dos implantes SL e SS promoveram importantes modificações físico-químicas, favorecendo a interação entre tecido ósseo e implante durante o processo de reparação. Novos estudos tornar-se-ão necessários para um melhor entendimento da modulação das respostas biológicas promovidas por

estas modificações experimentais, bem como o comportamento destas diante dos fluidos bucais e progressão da doença periimplantar.

Referências

- 1 – Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson, B, et al: Removal torque for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 3:21, 1988.
- 2 - Kesser-Liechti G, Zix J, Mericske-Stern R: Stability measurements of 1-stage implants in the edentulous mandible by means of resonance frequency analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 23:353, 2008.
- 3 – Faeda RS, Tavares HA, Sartori R, et al: Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associate with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibiae. *J Oral Maxillofac Surg* 67:1706, 2009.
- 4 - Thomas K, Cook SD: Relationship between surface characteristics and the degree of bone-implant integration. *J Biomed Mater Res* 26:831, 1992.
- 5 - Xavier SP, Carvalho PSP, Beloti MM, et al: Response of rat bone marrow cells to commercially pure titanium submitted to different surface treatments. *J Dent* 31:173, 2003.
- 6 - Qahash M, Hardwick R, Rohrer MD, et al: Surface-etching enhances titanium implant osseointegration in newly formed (rhBMP-2-induced) and native bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 22: 472, 2007.

- 7 - Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, et al: Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. Biomechanical study in rabbit tibias. *Bras Oral Res* 23:137, 2009.
- 8 - Buser D, Schenk RK, Steinemann S, et al: Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. a histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25:889, 1991.
- 9 - Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson, C, et al: Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits. *J Biomed Mater Res* 29:1223, 1995.
- 10 - Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J: Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. a study in the dog (II). *Clin Oral Implants Res* 12:196, 2001.
- 11 - Lima LA, Fuchs-Wehrle AM, Lang NP, et al: Surface characteristics of implants influence their bone integration after simultaneous placement of implant and GBR membrane. *Clin Oral Implants Res* 14:669, 2003.
- 12 – Piattelli A, Scarano A, DI Alberti L, et al: Histological and histochemical analysis of acid and alkaline phosphatases around hydroxyapatite-coated implants: a time course study in rabbit. *Biomaterials* 18:1191, 1997.

13 - – Uehara T, Takaoka K, Ito K: Histological evidence of osseointegration in human retrieved fractured hydroxyapatite-coated screw-type implants: a case report. Clin Oral Implants Res 15:540, 2004.

14 - Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, et al: Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. a torque removal study in the rabbit. Clin Oral Implants Res 8:442, 1997.

15 - Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, et al: A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. Clin Oral Implants Res Copenhagen 6:24, 1995.

16 - Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, et al: Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. Clin Oral Implants Res 13:252, 2002.

17 - Huang YH, Xiropaidis AV, Sorensen RG, et al: Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite) oral implants in type IV bone. Clin Oral Implants Res 16:105, 2005.

18 - Gaggl A, Schultes G, Muller, WD, et al: Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces – a comparative study. Biomaterials 21:1067, 2000.

- 19 - Cho SA, Jung SK: A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials* 24:4859, 2003.
- 20 - Braga FJC, Marques RFC, Filho EA: Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. *Appl Surf Scien* 253:9203, 2007.
- 21 - Tavares HS, Faeda RS, Guastaldi AC, et al: SEM-EDS and biomechanical evaluation of implants with different surface treatments: an initial study. *J Osseointegration* 1:25, 2009.
- 22 - Kokubo T, Kim HM, Kawashita M: Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* 24:2161, 2003.
- 23 - Schepers EJ, Ducheine P, Barbier L, et al: Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant Dent* 2:151, 1993.
- 24 - Chen QZ, Li Y, Jin LY, et al: A new sol-gel process for producing Na(2)O-containing bioactive glass-ceramics. *Acta Biomaterial* 4:, 2010.
- 25 – Suzuki M, Guimarães MVM, Marin C, et al: Histomorphologic and bone-to-implant contact evaluation of dual acid-etched and bioceramic grit-blasted implant surfaces: an experimental study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 68:1877, 2010.

26 - Coelho PG, Granato R, Marin C, Bonfante EA, Freire JN, Janal MN, Gil JN, Suzuki M: Biomechanical evaluation of endosseous implants at early implantation times: a study in dogs. J Oral Maxillofac Surg 68:1667, 2010.

27 – Cooper LFA: A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. J Prosthet Dent 84:522, 2000.

28 - Stach RM, Kohles, SS: A meta-analysis examining the clinical survivability of machined surface and osseotite implants in poor-quality bone. Implant Dent 12:87, 2003.

29 - Sandrini E, Giordano C, Busini V, et al: Apatite formation and cellular response of a novel bioactive titanium. J Mater Sci Mater Med 18:1225, 2007.

30 - Mendes VC, Moeineddin R, Davies JE: The effect of the discrete calcium phosphate nanocrystals on bone bonding to titanium surfaces. Biomaterials 28:4748, 2007.

31 - Meirelles L, Arvidsson A, Andersson M, et al: Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation. J Biomed Mater Res A, Appl Biomater 87A:299, 2008.

32 - Meirelles L, Currie F, Jacobsson M, et al: The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration. Int J Oral Maxillofac Implants 23:641, 2008.

33 – Aparecida AH, Fook MV, Guastaldi AC: Biomimetic apatite formation on ultra high molecular weight polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. J Mater Sci Mater Med 20:1215, 2009.

34 – Bloebaum RD, Beeks D, Dorr LD, et al: Complications with hydroxyapatite particulate separation in total hip arthroplasty. Clin Orthop Relat Res 298:109, 1994.

35 – Albrektsson T: Hydroxyapatite-coated implants: a case against their use. J Oral Maxillofac Surg 56:1312, 1998.

Figuras Capítulo II

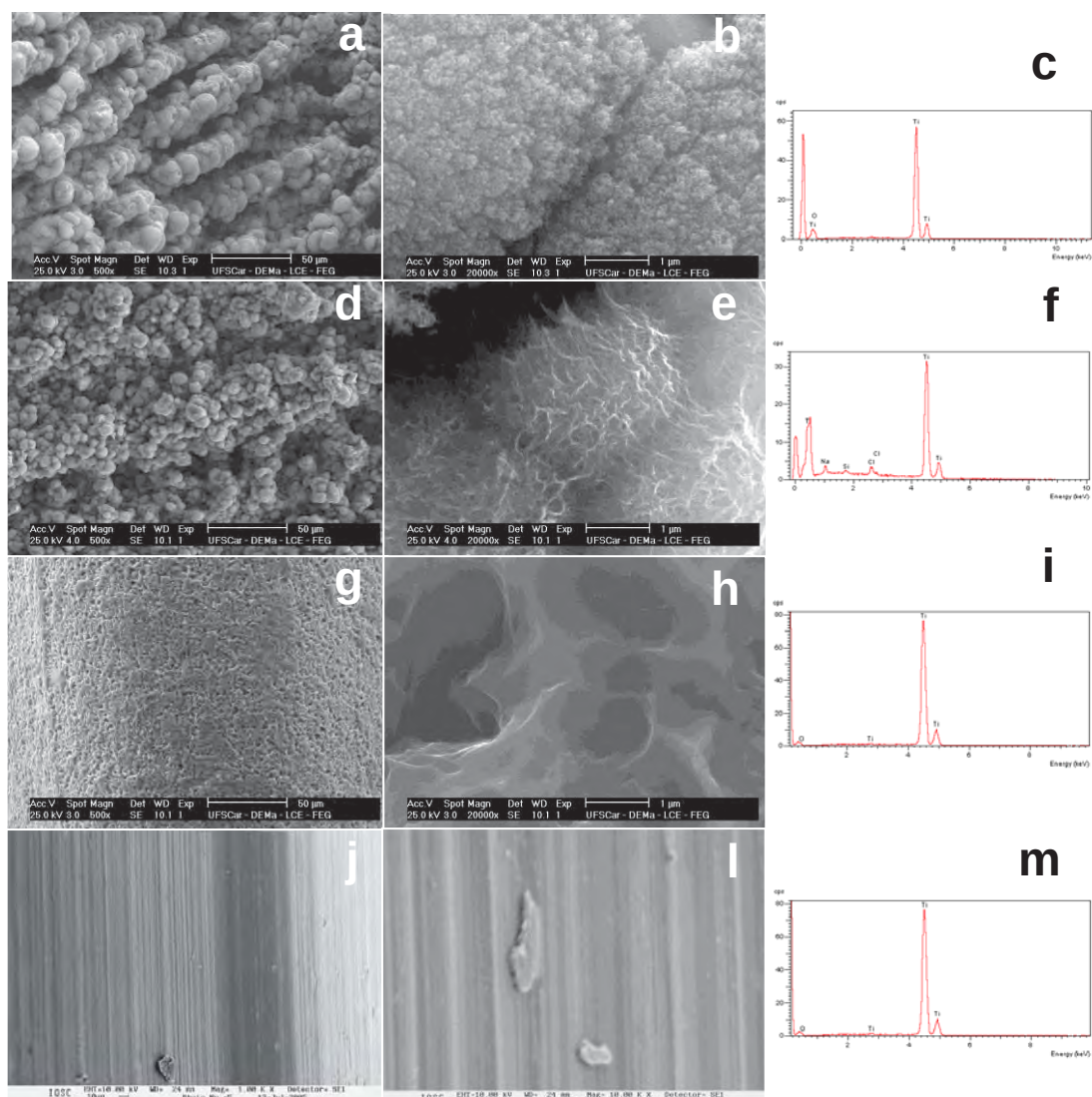


Figura 1 a b – MEV: SL (500X e 20000X) c – EDX pré-implantação
d e – MEV: SS (500X e 20000X) f – EDX pré-implantação
g h – MEV: SA (500X e 20000X) i – EDX pré-implantação
j l – MEV: SU (500X e 20000X) m – EDX pré-implantação

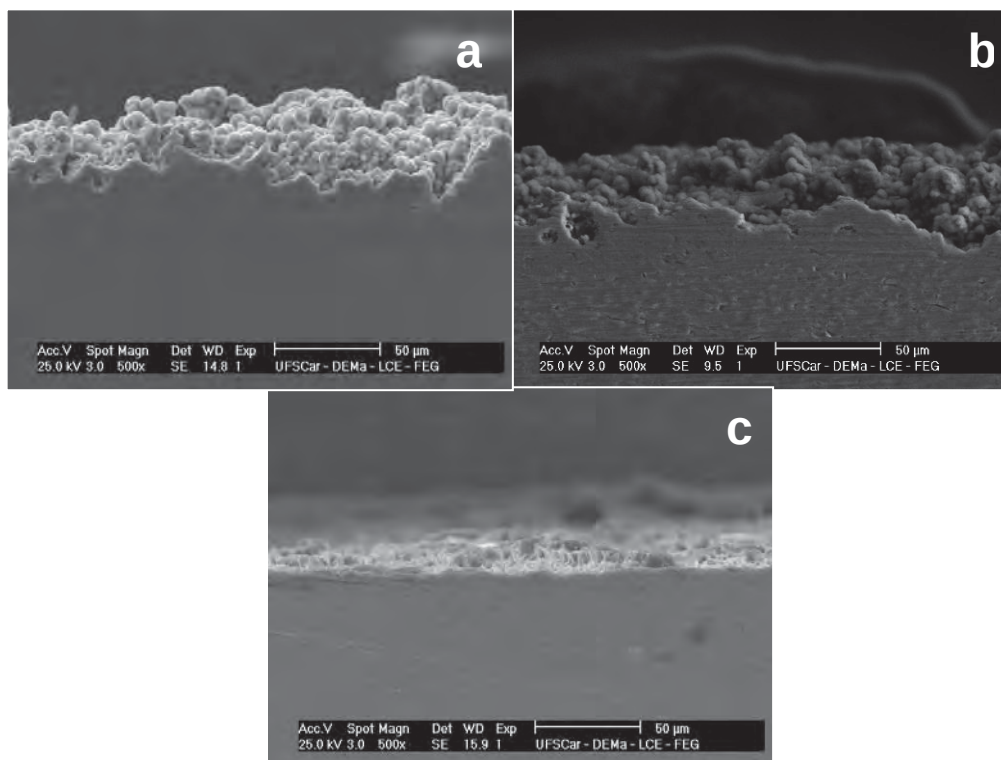


Figura 2 a – MEV: SL (500X secção transversal)

b – MEV: SS (500X secção transversal)

c – MEV: SA (500X secção transversal)



Figura 3: Rugosidade média e desvio-padrão (DP) das diferentes superfícies. Diferença significativa* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Bonferroni test.

GRÁFICO II

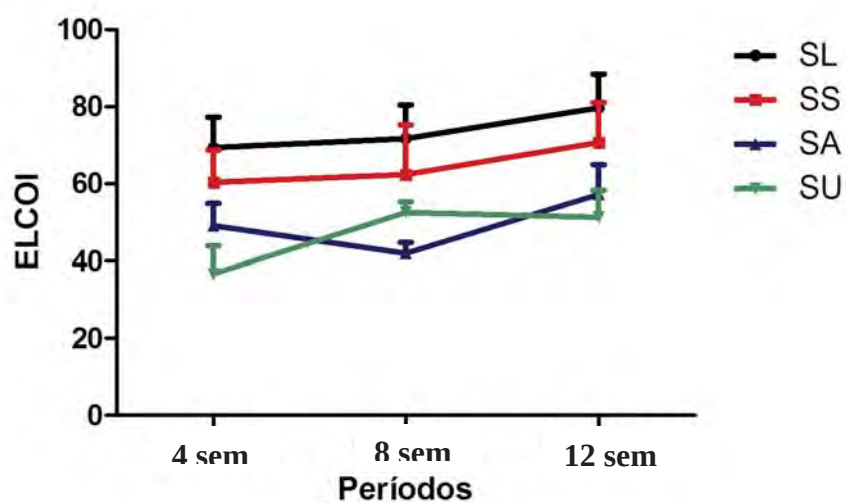


Figura 4: ELCOI das diferentes superfícies. Diferença significante* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Teste t Tukey.

GRÁFICO III

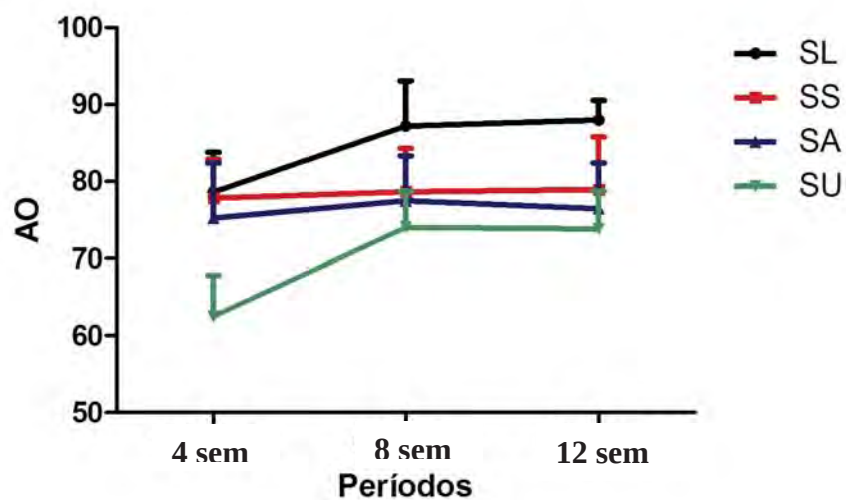


Figura 5: Área óssea das diferentes superfícies. Diferença significante* ($p < 0,05$) – ANOVA (one way) – Teste t Tukey.

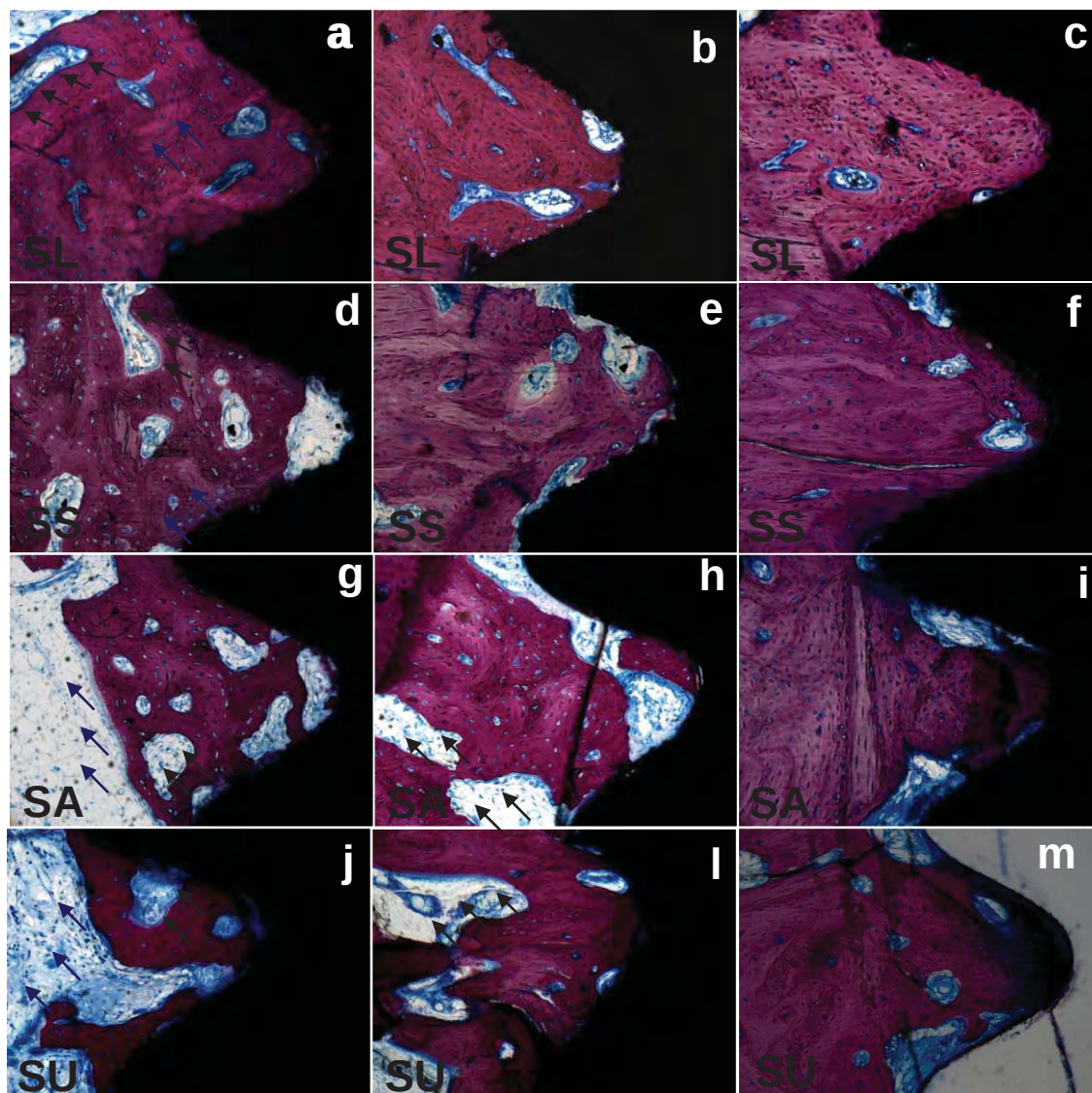


Figura 6: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X).

a-c, d-f, g-i, j-m: SL, SS, SA e SU nos períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

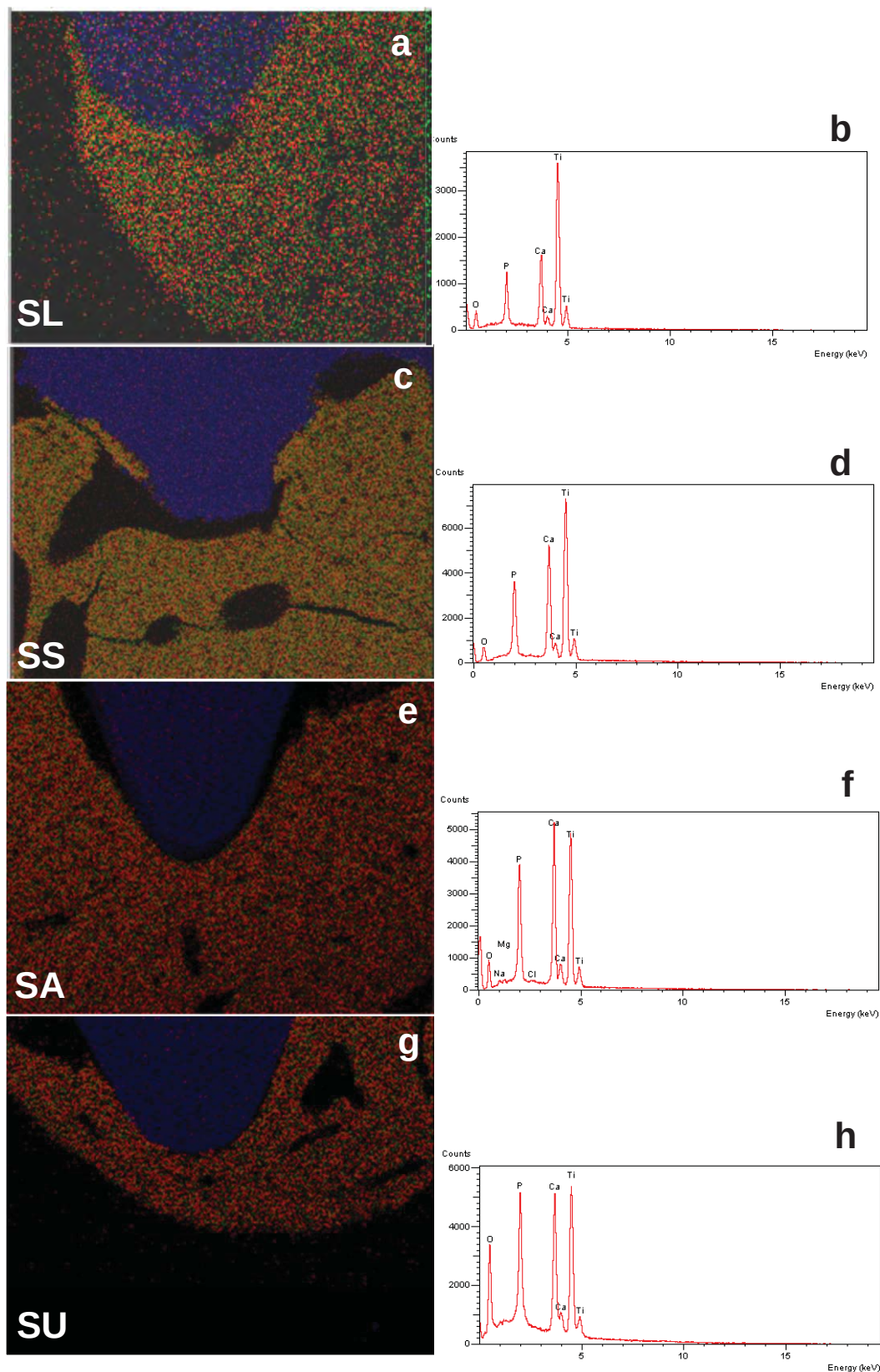


Figura 7: a-h – Sobreposição do mapeamento elemental de Ca (verde), P (vermelho), e Ti (azul) e EDX de SL, SS, SA e SU, respectivamente, período de 4 semanas.

Normas para Publicação Capítulo II

Journal of Oral and Maxillofacial Surgery

Guide for Authors

Notice to Contributors

Reprints of the notice are available from the Editor-in-Chief and are also available at www.joms.org. The JOURNAL publishes articles reflecting a wide range of opinions and techniques, provided they are original, contribute new information, and meet the standards of scientific thought, rational procedure, and literary presentation.

Journal of Oral and Maxillofacial Surgery uses an online, electronic submission system. By accessing the website <http://ees.elsevier.com/joms>, authors will be guided through the electronic submission process; original source files (text documents in Word, image files in TIFF or EPS) are required. The author should specify a category designation for the manuscript (original investigation, review article, letter to the editor, etc) and choose a set of classifications from the list provided online. All authors must download and fill out the [AAOMS disclosure statement](#) regarding dual commitment. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office (juliush@ohsu.edu). All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be sent via e-mail.

All author correspondence may be directed to the Editorin- Chief:

Dr Leon A. Assael

Oral and Maxillofacial Surgery

School of Dentistry?SD-522

Oregon Health & Science University

611 SW Campus Dr

Portland, OR 97239

Phone: (503) 494-0293

Fax: (503) 494-0294

E-mails: assaell@ohsu.edu, juliush@ohsu.edu

Original articles are considered and accepted for publication on the condition that they have not been published, or submitted for publication, elsewhere. The Editor reserves the right to edit manuscripts to fit articles within the space available and to ensure conciseness, clarity, and stylistic consistency. A title page should be included with each article that lists the title, the authors' names, degrees, affiliations, complete mailing address (including street number), and the telephone number, fax number, and e-mail address for the corresponding author. Titles of articles should be descriptive but as concise as possible. A structured abstract (introductory summary) of no more than 250 words should be included. It should be divided into four sections labeled *Purpose*, *Materials (or Patients) and Methods*, *Results*, and *Conclusions*.

All Contributors to *JOMS* should refer to the Consort statement on clinical research design and the Helsinki statement on medical protocols and ethics.

Consort statement:

<http://www.consort-statement.org/statement/revisedstatement.htm>

Helsinki:

<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>

References. Type with double spacing. All references given must be cited in numerical order in the text. Bibliographies and reading lists are not used. For journal references, give the author's name, article title, journal name as abbreviated in Index Medicus, volume, pagination, and year.

1. Regezi JA, Batsakis JG, Courtney RM: Granular cell tumors of the head and neck. *J Oral Surg* 37:402, 1979

For books, give the author's name, book title, location and name of publisher, and year of publication (exact page numbers are required for direct quotations):

1. Skinner EW, Phillips RW: Science of Dental Materials (ed 5). Philadelphia, PA, Saunders, 1960, p 246

Figures. All figures must be numbered and cited in the text in order.

Legends. All submitted figures require a legend. For photomicrographs, magnification and stain should be specified.

Photographs. Photographs should be high-quality, sharp images. Color art and color photography submissions are encouraged. Images must be high-resolution digital illustrations (EPS or TIFF files); Powerpoint is acceptable for review purposes, but not of sufficient quality for publication. Authors may contact Elsevier for more information or should download a copy of the Specifications for Supplying Digital Artwork from www.us.elsevierhealth.com/subguide.

Tables. Each table should be logically organized and should supplement the article. Each table should be numbered consecutively and cited in the body of the text in order. Title and footnotes should be on the same page with the table. Do not draw vertical rules in tables.

Acknowledgments. Only persons who have made significant contributions to an article can be acknowledged.

Permission and Waivers. These should accompany the manuscript when it is submitted for publication. Include the following statement in the covering letter: In consideration of the *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* taking action in reviewing and editing my (our) submission, the author(s) undersigned hereby transfer(s), assign(s), or otherwise convey(s) all copyright ownership to the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons in the event that such work is published in the JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY. Permission of original author and publisher must be obtained for direct use of material (text, photos, drawings) under copyright that is not your own. (Up to 100 words of prose material usually can be quoted without getting permission, provided the material quoted is not the essence of the complete work.) **Authors are responsible for applying for permission for both print and electronic rights for all borrowed materials and are responsible for paying any fees related to the applications of these permissions. Waivers must be obtained for full-face photographs unless eyes are masked to prevent identification. Waiver forms are available from the Editor-in-Chief.**

Financial Interests. As specified in the AAOMS disclosure statement regarding dual commitment, any commercial associations that might create a conflict of interest in connection with a submitted manuscript must be disclosed. All sources of external funds supporting the work must be indicated in a footnote, as should all corporate affiliations of the authors. A covering letter at the time of submission should inform the Editor about pertinent consultancies, stock ownership or other equity interests, or patent licensing arrangements. All information will remain confidential while the paper is

being reviewed and will not influence the editorial decision. If the manuscript is accepted, the Editor will discuss with the authors how best to disclose the relevant information.

ANEXOS

Anexo A

Comitê de Ética em Experimentação Animal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARO AO REDOR DE IMPLANTES USINADO E TEXTURIZADO EM TÍBIA DE COELHOS. ESTUDO BIOMECÂNICO, HISTOMORFOMÉTRICO E IMUNOISTOQUÍMICO"** sob responsabilidade do **Prof. Dr. CELSO KOOGI SONODA** e colaboração de **FRANCISLEY ÁVILA SOUZA** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 06 de julho de 2007, de acordo com o protocolo no. 2007- 005035.

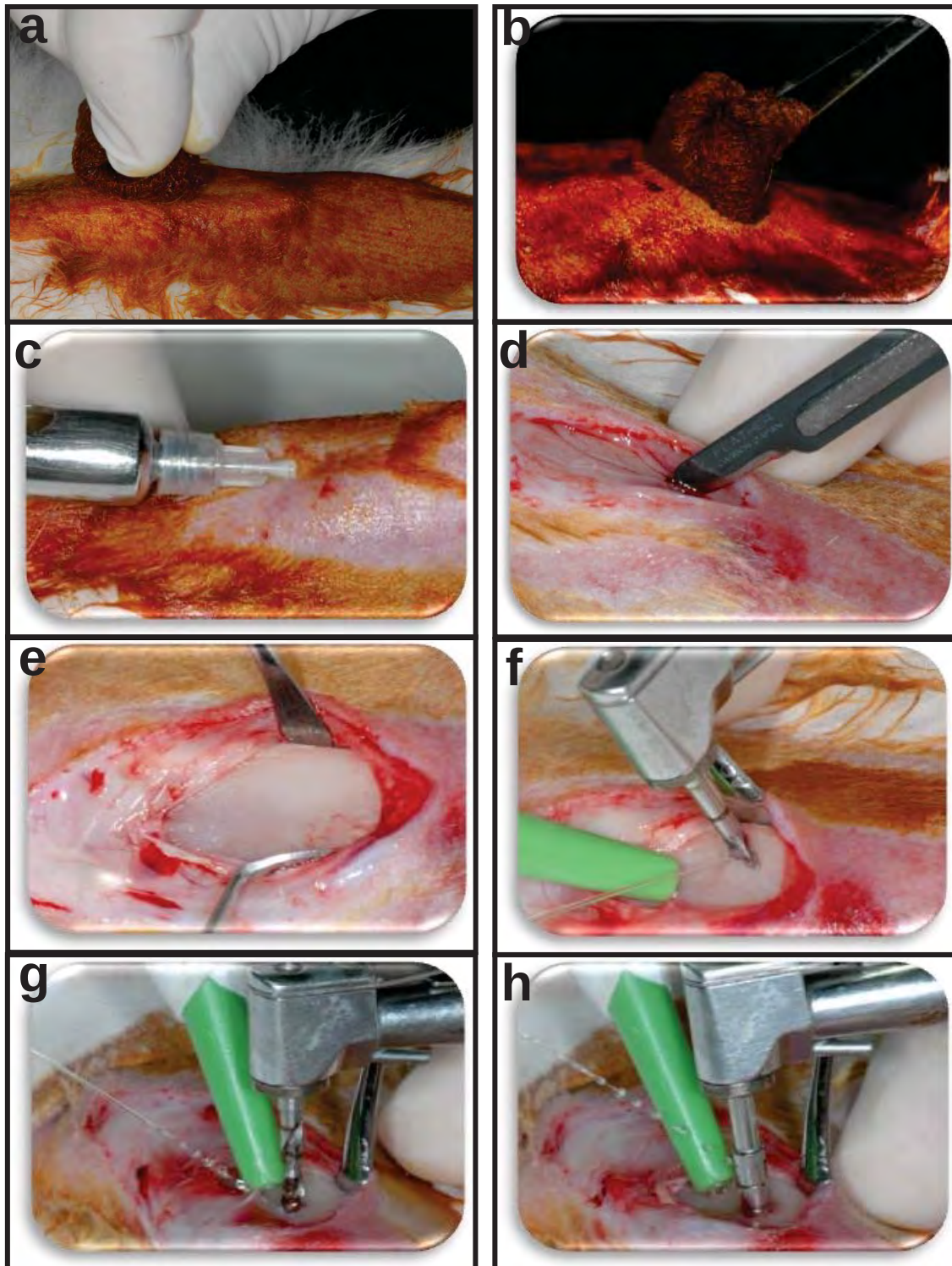
Araçatuba, 14 de setembro de 2007.

Profª Drª CRISTINA ANTONIALI SILVA

Presidente da CEEA - FOA/UNESP

Anexo B

Figuras do Procedimento Cirúrgico



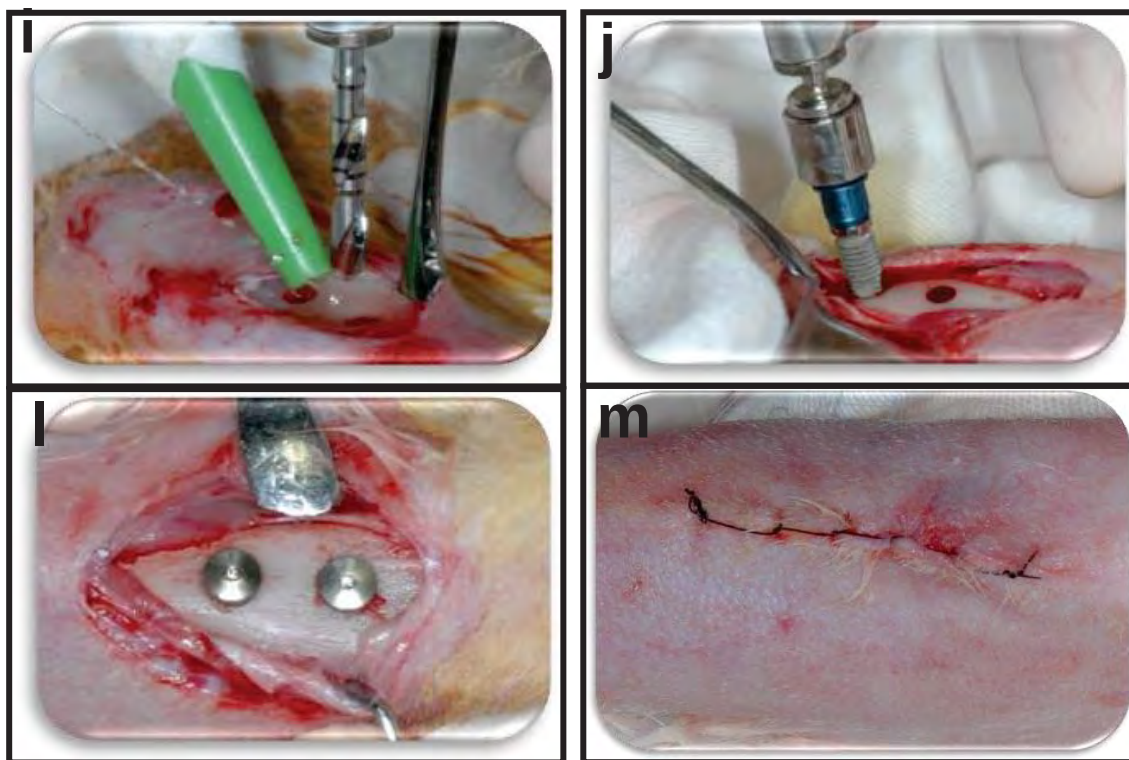


Figura 1 a - Degermação (PVPI Degermante)

b - Anti-sepsia (PVPI Tópico)

c - Complementação anestésica (Cloridrato de Mepivacaína)

d - Incisão dermo-periosteal

e - Tíbia exposta (Local de preparação do leito receptor)

f - Fresagem broca lança

g - Fresagem broca helicoidal 2.0mm

h - Fresagem broca piloto 2.0/30mm

i - Fresagem broca helicoidal 3.0mm

j - Instalação do implante

Anexo C

Figuras Complementares Análise Histométrica

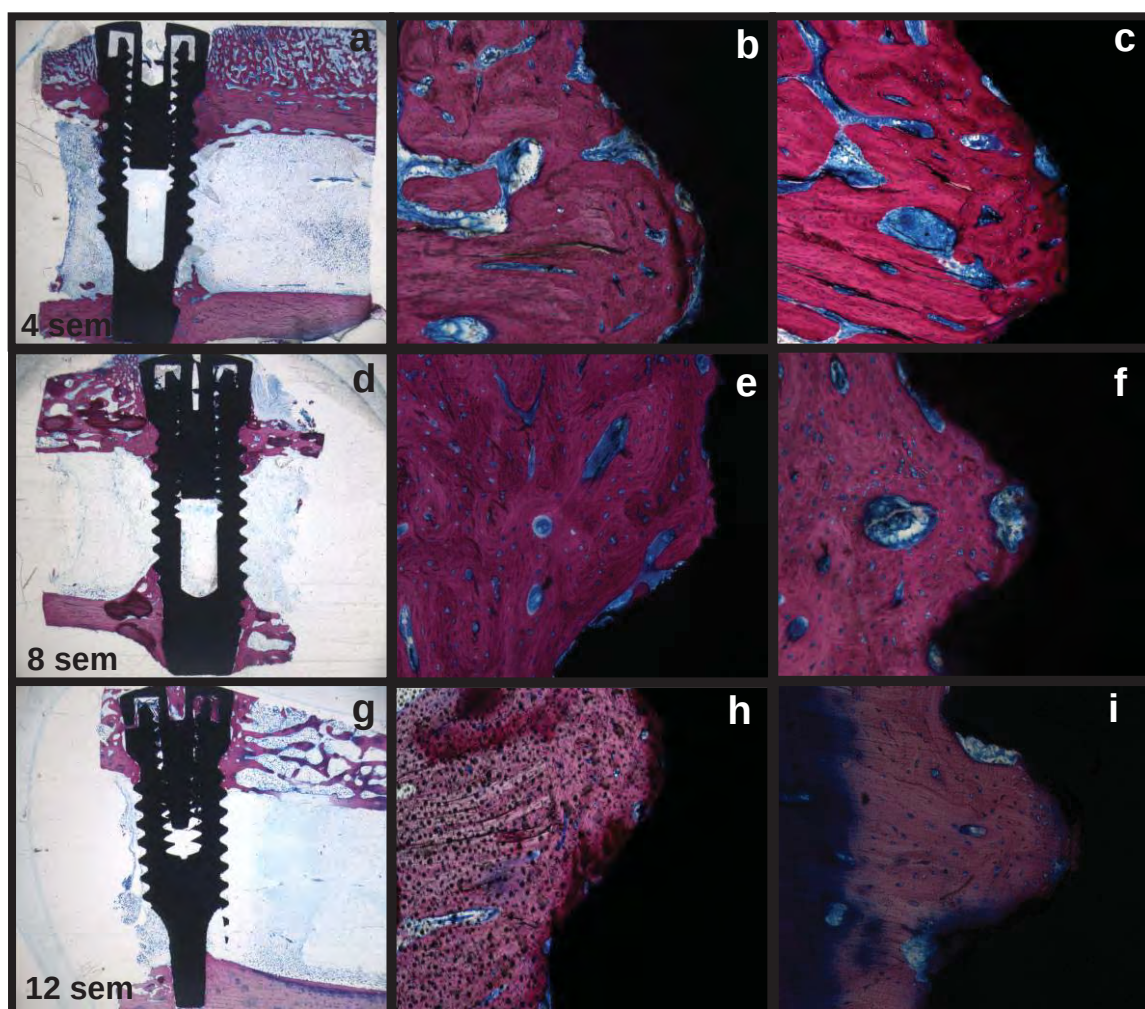


Figura 1 – SL: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevanel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X).
a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

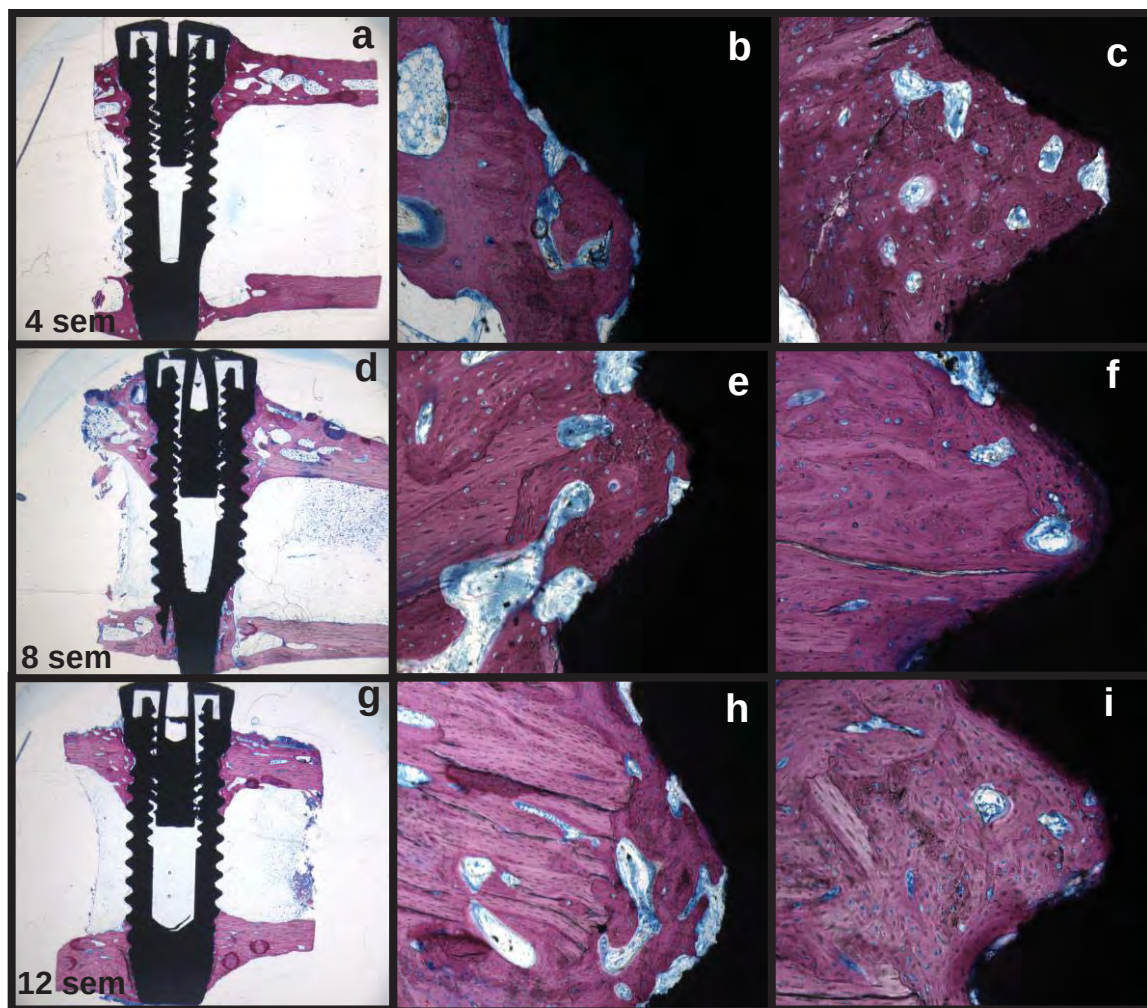


Figura 2 – SS: Cortes Histológicos não-desalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X).
a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas respectivamente.

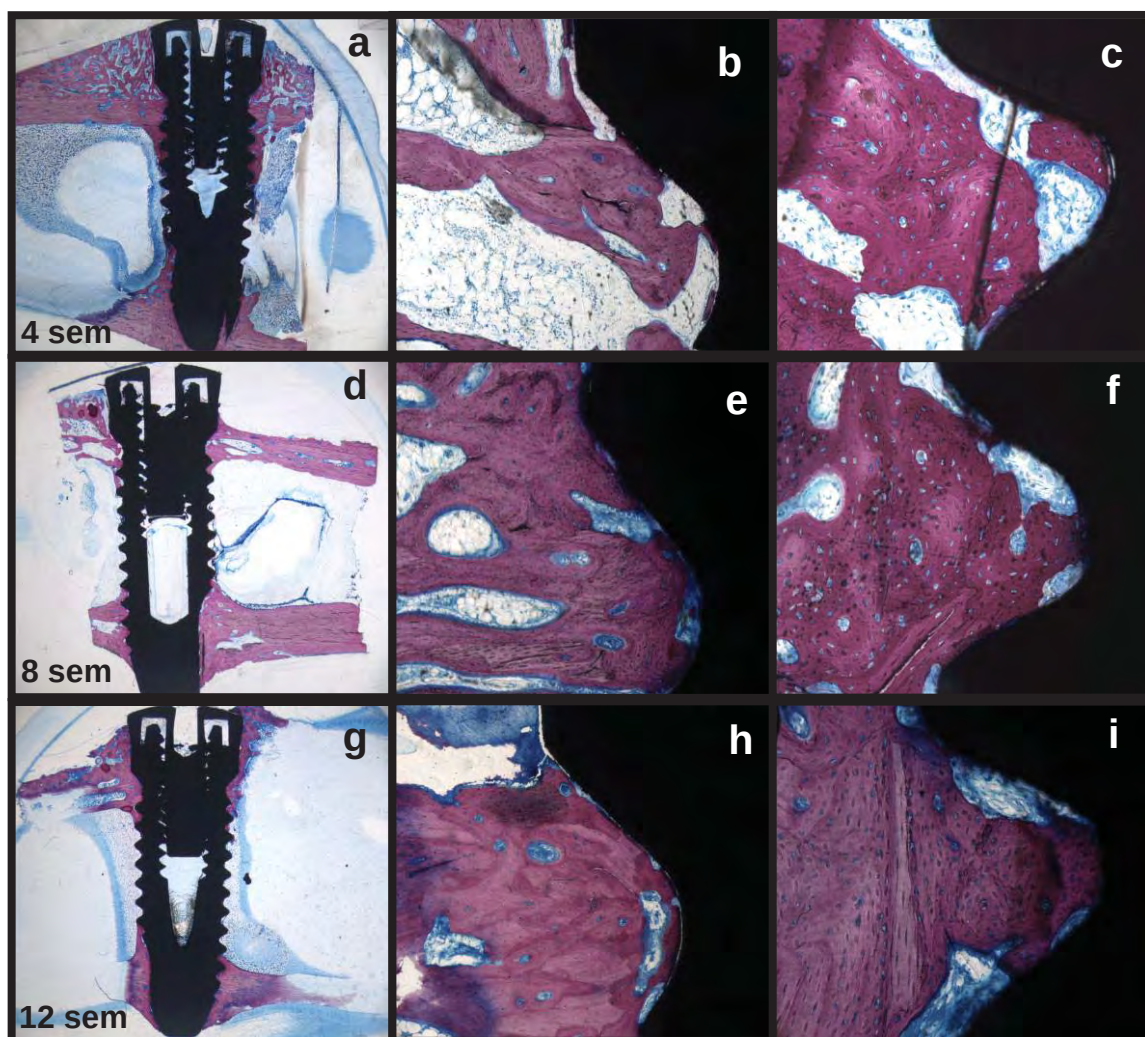


Figura 3 – SA: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X).
a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

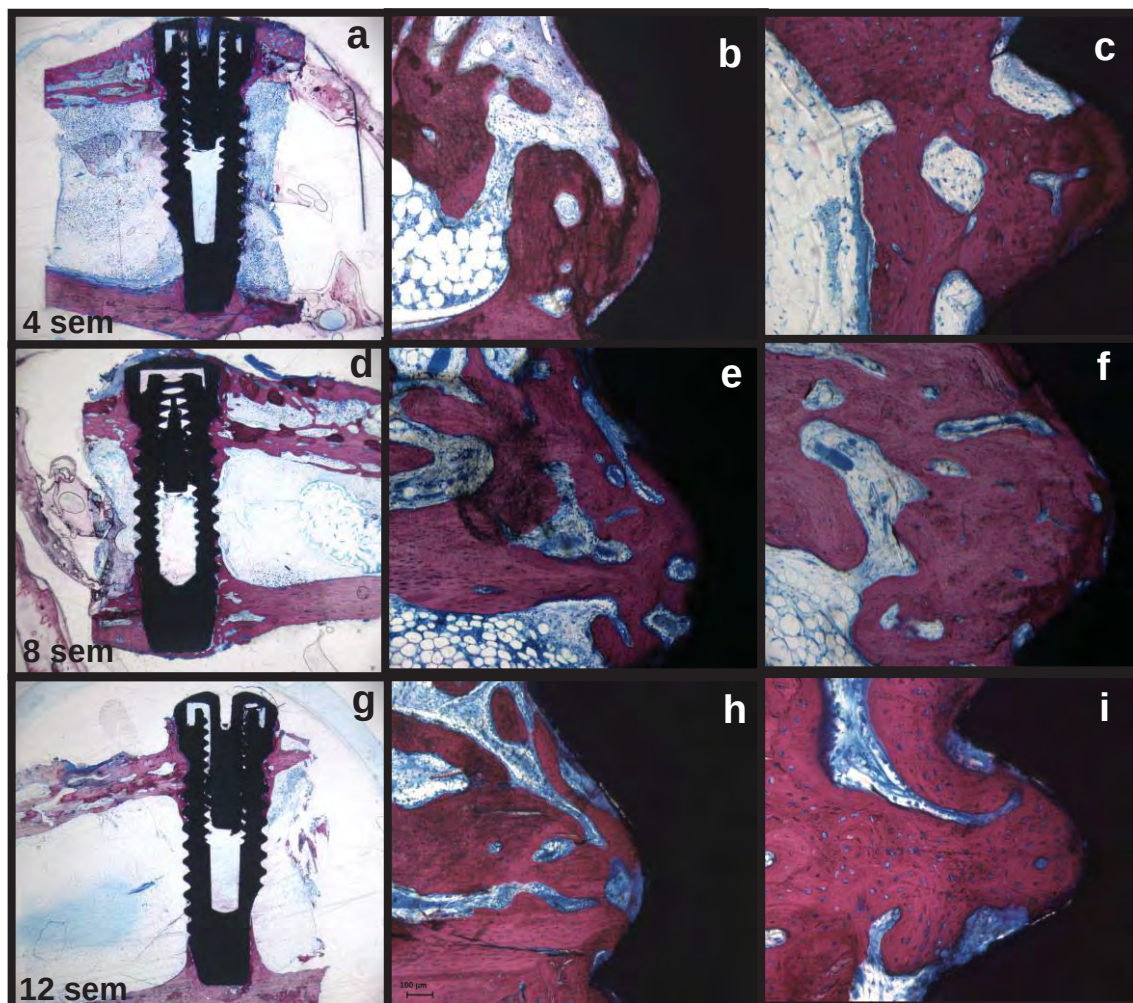


Figura 4 – SU: Cortes Histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 10X, 100X, 200X).
a-c, d-f, g-i: períodos de 4, 8, e 12 semanas, respectivamente.

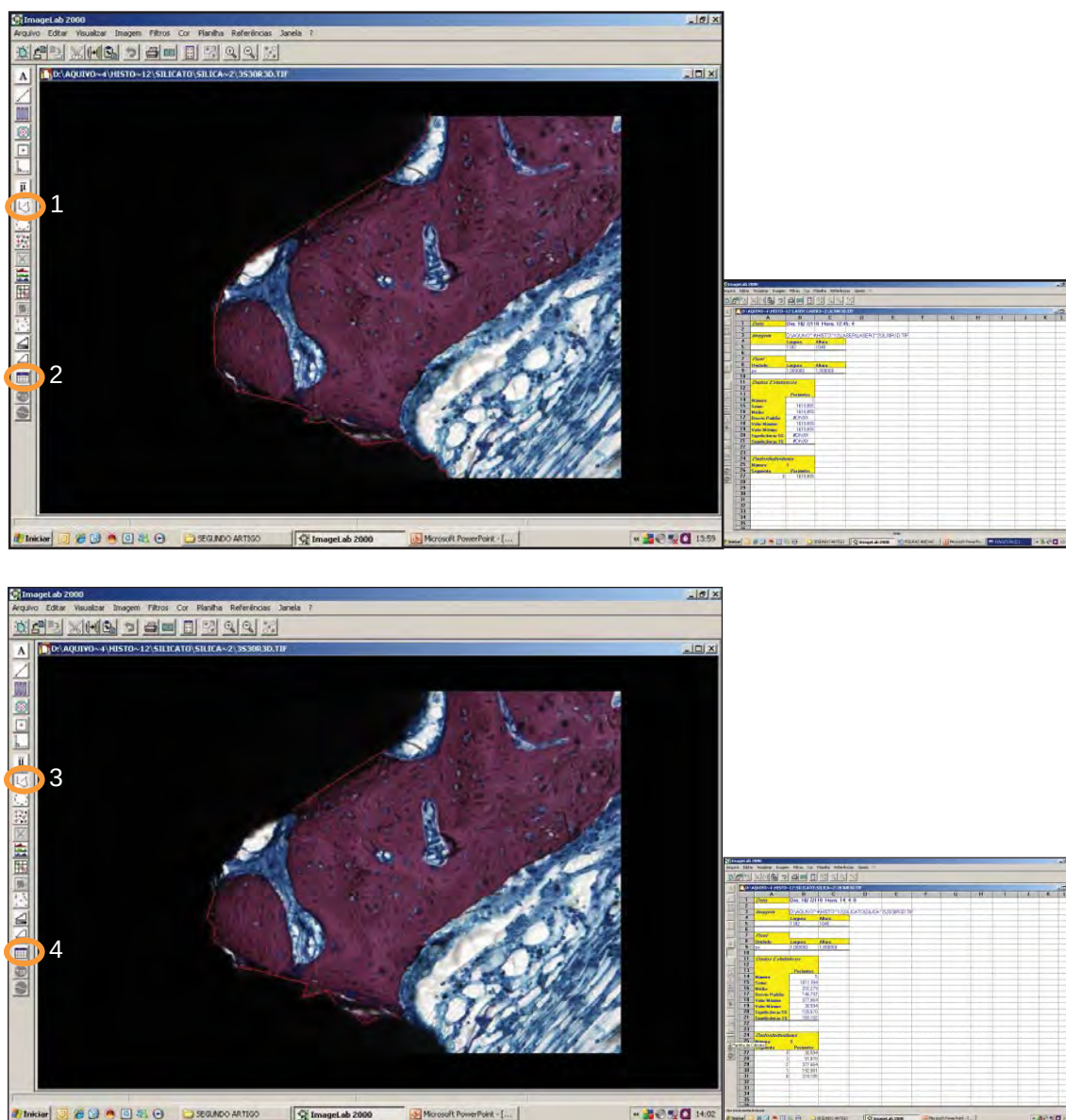


Figura 5 – Ilustração esquemática para o cálculo da ELCOI em porcentagem (regra de três simples) – Software IMAGELAB 2000, versão 2.4.

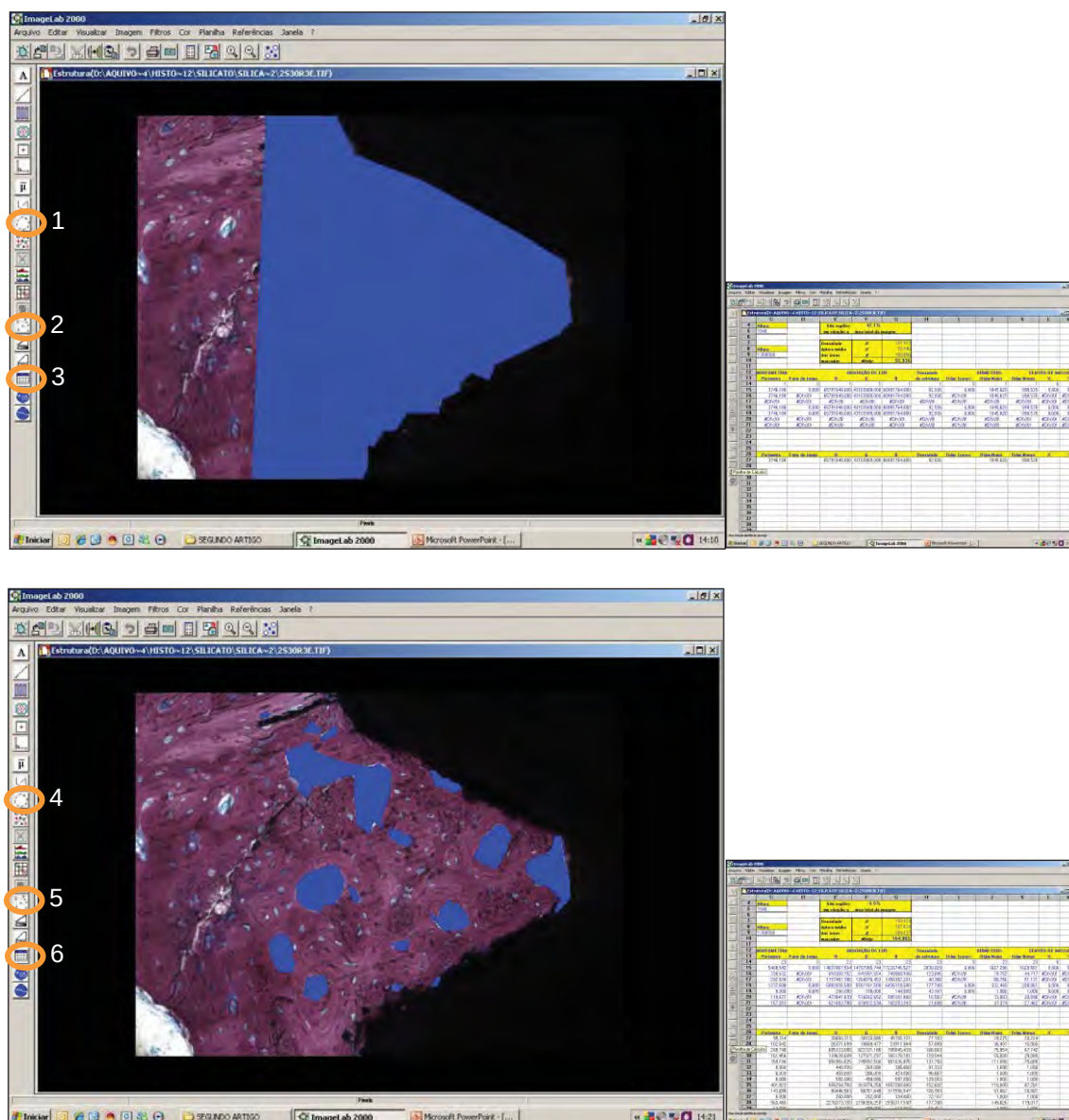


Figura 7 – Ilustração esquemática para o cálculo da AO em porcentagem (regra de três simples) – Software IMAGELAB 2000, versão 2.4.

Anexo D

Tabelas do Capítulo I e II

Período (Dias)	Grupos			
	SU	SA	SL	SS
30 dias	24,60 ± 7,46	43,00 ± 8,36	60,80 ± 9,12	63,00 ± 7,58
60 dias	43,60 ± 16,65	68,20 ± 6,64	76,60 ± 9,63	75,40 ± 9,12
90 dias	60,40 ± 9,65	63,80 ± 7,29	78,00 ± 7,87	80,60 ± 3,78

Tabela I – Valores de torque de remoção (Média e DP) dos implantes em N/cm nos períodos de 30, 60, e 90 dias. Anova e Teste *t* de Tukey (p,0,05)

SECÇÃO TRANSVERSAL - MEV		
SL	SS	SA
21,76 ± 9,05 µm	28,75 ± 10,12 µm	7,84 ± 3,73 µm

Tabela II – Valores em µm da espessura média em secção transversal

RUGOSIDADE MÉDIA			
SL *	SS *	SA	SU
4,73 ± 0,48 µm	5,12 ± 0,32 µm	1,34 ± 0,35 µm	0,4 ± 0,06 µm

Tabela III – Valores em µm da rugosidade média
ANOVA e Teste *t* de Tukey (p<0,05)

Períodos (Semanas)	Grupos			
	SL	SS	SA	SU
4 sem	69,36 ± 7,91	60,34 ± 7,49	49,15 ± 5,76	36,69 ± 7,2
8 sem	71,67 ± 8,79	62,34 ± 9,10	41,94 ± 2,85	52,52 ± 2,75
12 sem	79,69 ± 3,30	70,67 ± 7,96	57,18 ± 7,81	51,31 ± 6,96

Tabela IV – ELCOI em porcentagem das superfícies nos períodos de 4, 8, e 12 semanas

Período (semanas)	Grupos			
	SL	SS	SA	SU
4 sem	78,59 ± 5,19	77,81 ± 3,89	75,21 ± 7,17	62,52 ± 5,30
8 sem	87,17 ± 5,90	78,64 ± 3,37	77,49 ± 5,83	74,01 ± 4,68
12 sem	87,99 ± 2,52	78,92 ± 3,46	76,42 ± 5,98	73,81 ± 4,91

Tabela V – AO em porcentagem das superfícies nos períodos de 4, 8, e 12 semanas.

Anexo E

Capítulo I - Versão em Inglês

Comparative *in vivo* Study of *cp Ti* Implants with surfaces modified by laser with and without silicon deposition: Biomechanical and SEM Analysis

Abstract

The purpose of this study was to evaluate commercially pure titanium (*cp Ti*) implant surfaces modified by laser beam (LS) and laser beam associated with sodium silicate deposition (SS), and compare them with surfaces modified by dual-acid etching (AS) and with machined surfaces (MS). Thirty rabbits received two implants each (one in each tibia). After 30, 60 and 90 days postoperatively, the implants were removed by reverse torque for biomechanical analysis and surfaces were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS). Results: The mean values of reverse torque at 30, 60 and 90 days postoperatively were 24.60, 43.60 and 60.40 N.cm respectively for MS Group; 43.00, 68.20 and 63.80 N.cm for AS Group; 59.80, 76.60 and 78.00 N.cm for LS Group, and 63.00, 75.40 and 80.60 N.cm for SS Group. At 30 days, SL and SS groups showed statistically significant difference ($p<0.05$) when compared with the other groups. At 60 days, LS and SS Groups showed statistically significant difference ($p<0.05$) when compared with MS Group. It was concluded that the biomechanical and topographical properties of SL and SS implants showed increased bone-implant interaction when compared with that of AS and MS implants.

Key Words: Osseointegrated Implant, Osseointegration, Removal Torque, Laser Beam, Biocompatibility Materials.

Introduction

Nowadays the placement of osseointegrated implants has become an efficient and well accepted method of replacing lost teeth. Worldwide, millions of implants are placed annually to reestablish dental occlusion in patients. This treatment modality has increasingly aroused dentists' interest in view of the high level of success and safety achieved with osseointegration, and as a result of the availability of a large number of researches.

Branemark et al. [1] defined osseointegration as the stable, direct structural and functional connection between orderly and healthy bone and the implant surface at optical microscopic level, capable of bearing the masticatory forces. However, biologically there is no evidence of complete contact between the bone and titanium surface, but there is a larger or smaller quantity of conjunctive tissue, without clinical failure or loss of the implant occurring [2]. This entire process being with the migration of osteogenic cells derived from the layer of bone marrow, including undifferentiated mesenchymal cells, osteocytes and osteoblasts, directly onto a structure provided by the blood clot [3,4,5]. Anabolic modeling appears to be the first response to bone repair after an implant is placed in the cortical bone, similar to the process occurring in fracture healing [6,7].

With the goal of providing better healing around dental implants, various measures have been suggested over the last few years. These measures have almost always been related surface characteristics [8], more precisely material, topographic and physico-chemical [9]. Therefore, the modifications made to the implant surface assume a significant value in osseointegration, representing an advancement in implant dentistry, since an increase in the percentage of bone

tissue contact at the interface has been observed [10], diminishing the osseointegration period [11], and improving the repair process in low bone density areas, when compared with implants with a machined surface [12].

Implant surface characteristics can be modified by addition or subtraction methods. In the subtraction method, modification by acid etching is pointed out, its purpose being to increase the surface area by altering the microtopography [10,12,13,14]. This method can be used alone [15], or in association with airborne particle abrasion using aluminum oxide [13,16], or titanium oxide particles [16]. Studies have shown their superiority to machined surfaces by means of biomechanical [10,12,17] and histomorphometric [13,18,19,20] analyses, as well as in experimental studies and meta-analyses evaluating the success rate of implants in low quality bone in humans [21].

New surface modification methods have been studied with promising results. Among these, laser surface modification is outstanding. This method provides a complex and homogeneous surface morphology, with a high degree of purity, in addition to being carried out in a controlled and reproducible manner [22,23,24,25]. Recent studies have been directed towards bioactive lining materials [14,25,26,27], and new biomaterials have appeared, among them silicon oxide [27], also present in bioactive glass-ceramics which, when in contact with blood, allow bone formation by osteoconduction [28]. The end objective is to make the implant surface reactive, to favor stabilization of the blood clot, and consequently, bone cell chemotaxis to the implant surface [5].

Therefore, the aim of this study was to compare the behavior of the bone tissue around implants (*cp Ti*) of machined surfaces, modified by Dual-acid etching, laser, and laser with silicon deposition, using biomechanical testing,

scanning electron microscopy, and X-ray energy dispersive spectroscopy (EDS).

Materials and Methods

1.1 Implants

In this study, 60 external hexagon implants were used, measuring 3.75x10mm (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brazil), with 4 different surfaces, 2 of which were commercially available and constituted the control groups, the other 2 were test surfaces, which were modified by the Biomaterials Group of the “Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista de Araraquara” – UNESP. The analyzed implant surfaces were as follows:

- 1- Commercially pure titanium implant (cp *Ti*) and machined surface (SU), commercially available (Master Screw, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brazil);
- 2- Commercially pure titanium implant (cp *Ti*) and surface modified by Dual-acid etching, commercially available (SA) (Master Porous, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brazil);
- 3- Implant (cp *Ti*) and surface modified by Laser Beam (SL);
- 4- Implant (cp *Ti*) and surface modified by laser beam and sodium silicate deposition (SS);

1.2 Preparation of Test Surfaces:

1.2.1 Surface Modification by Laser Beam

The implants (cp *Ti*) and machined surface were fixed on a rotary lathe, under a pulsed Yb laser appliance (Pulsed Ytterbium Fiber Laser, Sistema

Omnimark 20F, Ominitek Tecnologia Ltda, São Paulo, Brazil). The laser beam was projected onto the entire surface of the implant spirals in an ambient atmosphere.

1.2.2 Surface Modification by Laser Beam and Sodium Silicate Deposition

After laser beam irradiation of the surface, the implants were immersed in a NaOH (5.0 Mol.L⁻¹) solution, and placed in an oven for a period of 24 hours at 60 °C. After this, they were removed from the solution and kept in the oven for 3 hours at 60 °C. After this stage, the implants were immersed in a sodium silicate solution, pH 7.25, and remained in the oven for 24 hours, at a temperature of 37°C.

After the surface modifications were performed in the test group, the implants were sent to the company (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brazil) sterilization and vacuum packing.

1.3 Animals and Implants

Thirty white male *albinus* rabbits, approximately 5 months old, with a body weight of 3 to 4 Kg were used. They were divided into 3 groups of 10 animals, according to the periods of sacrifice. The animals were kept in individual cages and fed standard solid rations (Procoelho, Primor) and water “*ad libitum*” , at the vivarium of the School of Dentistry of Araçatuba – FOA, UNESP. The study was submitted to the Ethics Committee on Animal Experimentation of FOA-UNESP for approval, and received a favorable report for its development (Protocol Number 2007-005035). Sixty external hexagon implants were used. Each animal received 2 implants with different surfaces, 1 implant of each surface being placed in each right and left tibial metaphysis.

1.4 Experimental Surgery

The animals were kept in pre-operative fasting for 8 hours. The surgical procedure began with general anesthesia with the use of 50mg/kg ketamin chloride (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brazil), and 5mg/Kg xylazin chloride (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, Brazil) administered intramuscularly. After this, trichotomy and antisepsis were performed with degerming and topical PVPI (PVPI 10%, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brazil). As complementary anesthesia the animals received local infiltration of mepivacaine chloride (0.3 ml/Kg, 2% Scandicaine with adrenalina 1:100.000, Septodont, France). An incision approximately 3 cm long was made in the tibial metaphysis, with the use of a No.15 scalpel blade (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japan), mounted in a No.3 scalpel handle. After this the full thickness of the soft tissue was separated, exposing the bone tissue in order to insert the implants. To prepare the surgical bed, an electric motor with a final speed of 1500 r.p.m. and reduction counter-angle of 20:1 (Kavo do Brasil, Joinville, Brazil) were used. Preparation began with the spear drill to rupture the cortical bone. After this, 2.0 mm helicoidal, 2.0mm/3.0mm pilot and 3.0mm helicoidal drills were used (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brazil), sequentially, with abundant irrigation with a 0.9% Sodium Chloride solution (Darrow, Rio de Janeiro, Brazil). The implants were inserted at the speed of 20 r.p.m and fixed torque at 45 N/cm. Suturing was performed in planes, with the use of absorbable thread (Polygalactin 910 – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brazil) with continuous stitches in the muscular plane and non-absorbable thread (Nylon 4.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brazil) with interrupted stitches in the dermal plane. In the post-operative period the animals

received IM administration of Pentabiotic (0.1ml/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brazil) and a single dose of Sodium Dipyrone (1mg/Kg/day, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brazil).

Form of Analyzing the Results

1.5.1 Surface Rugosimetry

The mean roughness (R_m) was analyzed on previously prepared three disks of each surface, with the use of a roughness meter (**Mitutoyo SJ-400, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, Brazil**). The results obtained were submitted to statistical analysis of variance and Bonferroni's multiple comparisons test ($p < 0.05$).

1.5.2 Biomechanical Analysis

In the periods of 30, 60 and 90 days the pre-operative procedure from fasting through to antisepsis was performed. The tibial metaphysis of 10 rabbits per each period were opened to expose the implants and perform *in vivo* reverse-torque with the use of an analogic torquemeter (15-BTG, Tohnichi, Tokyo, Japan). The values obtained were grouped and submitted to statistical analysis of variance and to the Tukey Test for multiple comparisons among the different groups and periods, adopting the level of significance of 5%. After biomechanical analysis the animals were submitted to euthanasia by IM administration of a lethal dose of 30% Chloral Hydrate (2ml/Kg).

Results

1.1 Implant Surface Topography – SEM and EDS

Scanning Electron Microscopy of the analyzed surfaces demonstrated topographical differences among them. Group (SU) presented a smooth surface

topography, contaminated with machining remainders (Figs.1 a, b, c), whereas Group (SA) presented a topography with a morphologic pattern of subtraction, formation of valleys of different depths and sizes (Figs 2 a, b, c). Group (SL) (Figs3 a, b, c), and (SS) (Figs.4 a, b, c) produced rough surfaces with a more regular and homogeneous morphological pattern.

Analysis by EDS revealed no contamination whatever of the analyzed surfaces, and showed peaks of Ti for Groups (SU) (Fig.1 d) and (SA) (Fig.2 d). For Group (SL), peaks of Ti and oxygen were observed (Fig. 3 d). However, Group (SS) revealed the presence of peaks of Ti, oxygen, silica, chloride and sodium (Fig.4 d).

Surface analysis of the implants removed in the period of 30 days demonstrated complete coverage by bone tissue in the Groups (SL) (Fig.7 a, b, c), and (SS) (Fig.8 a, b, c), however, the analysis of Groups (SU) (Fig.5 a, b, c) and (SA) (Fig.6 a, b, c) revealed reduced bone coverage of the implants. The EDS of all the surfaces (Figs. 5d, 6d, 7d, and 8d) showed peaks of Ti, O, Ca and P, and the latter two elements presented higher concentration in Groups (SL) and (SS). Group (SS) showed peaks of Si (Fig. 8d).

1.2 Rugosimetry

The microtopographic analysis revealed statistically significant differences ($p < 0.05$) between the roughness of Groups (SS) ($R_m = 5.12 \pm 0.32$), and (SL) ($R_m = 4.73 \pm 0.48 \mu m$), when compared with Groups (SA) ($R_m = 1.34 \pm 0.35 \mu m$) and (SU) ($0.4 \pm 0.06 \mu m$), according to Graph 1 (Fig. 9).

1.3 Biomechanical Analysis

In a macroscopic observation absence of secretion and bone fracture were noted. No implant was lost and all were stable and without marginal bone

loss. It was observed that some implants (SS) and (SL) were covered by neoformed bone tissue, and it was necessary to remove it carefully with a Number 2 spherical bur to expose the covering screw and enable the biomechanical tests to be performed. The reverse-torque means of the implants in the periods of 30, 60 and 90 days were 24.60, 43.60 and 60.40 N.cm respectively for Group (SU); 43.00, 68.20 and 63.80 N.cm for (SA); 60.80, 76.60 and 78.00 N.cm for (SL); and 63.00, 75.40 and 80.60 N.cm for (SS), and are highlighted in Graph 2 (Fig. 10). In the statistical comparison between the surfaces, at 30 days it was found that the removal torque of implants in Group (SS), and (SL) was statistically higher than in Group (SU) ($p < 0.05$). In the same period the removal torque of implants in group (SA) was statistically higher than in Group (SU) ($p < 0.05$). At 60 days the implants in Groups (SS) and (SL) presented statistically higher reverse torque ($p < 0.05$) in comparison with Group (SU). At 90 days only Group (SS) presented statistically higher torque removal values ($p < 0.05$) in comparison with Group (SU).

Discussion

Surface modification by laser beam has been shown to be a promising method for the treatment of implant surfaces, because it is clean, reproducible and economically feasible [25,29]. It presents the physico-chemical property of forming an oxygen-rich layer, and the incorporation of nitrogen during rapid fusion and solidification of the titanium [22,24,25,29]. Cho & Jung [24] compared laser-modified machined implant surfaces by means of topographic analysis (SEM). The authors related that the laser modified surface presented

regular cavities similar to those of a honeycomb, whereas the machined surface was shown to be relatively smooth and with typical signs of machining.

The topography of the surfaces analyzed by SEM-EDS showed evidence of Groups (SL) and (SS) presenting a complex morphology, which favored the deposition of bone tissue, when compared with the Groups (SU) and (SA). The physico-chemical and morphologic properties of the implant surface has a direct function in osteogenesis, favoring the stages of the repair process at the interface formed between the bone and implant [30]. Faeda et al. [14] evaluated titanium implants with laser beam modified surfaces by means of biomechanical analysis and concluded that the physico-chemical properties increased the bone/implant interaction when compared with machined implants.

Sodium silicate deposition was performed on the laser modified surface with the purpose of making it bioactive. Kokubo et al [27] related that a physico-chemical interaction of this surface with the organic fluids occurs, for later bone deposition. The interaction occurs through the sodium titanate link, which is formed by the reaction between sodium hydroxide (NaOH) on the laser irradiated surface and sodium silicate, thus making the surface reactive. The end result is to facilitate the differentiation and proliferation of cells of osteoblastic origin. In the EDS analysis the presence was verified of Na, Cl, and Si, which are elements coming from the deposition solution.

The morphology of the surfaces measured by the mean roughness appears to be related to the bone/impact level of contact [22,31,32,33]. From the results obtained in the rugosimetry analysis, it was observed that (SL) and (SS) presented statistically higher mean roughness values ($p < 0.05$) when compared with Groups (SU) and (SA). Vercaigne et al. [34] evaluating implant

surfaces covered by Ti (TPS) plasma-spray, TPS associated with acid etching, and TPS covered by HÁ implanted in goats, verified correlation among the mean roughness values directly proportional to their removal torque values.

The reverse torque force for the removal of implants has been used in many studies for the evaluation of osseointegration [24,35], even in an indirect manner, and has been shown to be reliable when compared with the percentage of bone tissue in contact with the implant [36]. This analysis was introduced with the aim of measuring the force required to rupture the interface formed between the bone and implant [11].

The statistical analysis performed using the data from the biomechanical test showed that the removal torque of the implants in Group (SU) presented lower values ($p < 0.05$) than those of the other surfaces in the periods of 30 and 60 days. This demonstrates that the machined surface implants are dependent on the healing time [10,14,37]. The method of surface modification by acid etching, widely discussed in the literature, has presented favorable results [10,15,17,18,19,38], as observed in this study, in which Group (SA) showed superior results to those of Group (SU) in the periods of 30 and 60 days. However, when compared with Group (SL) and (SS), Group (SA) presented a lower reverse torque value ($p < 0.05$) in the period of 30 days. Similar results were found by Faeda et al. [14], who used biomechanical analysis to compare implants with laser modified surfaces with implants in which surfaces were modified by the association of airborne particle abrasion and acid etching (SMC). The authors obtained higher removal torque values for the laser modified surface when compared with SMC in the initial periods. The Group (SS) constituted an experimental surface not yet reported in the literature, and

which presented morphological, physio-chemical and biochemical results similar to those of Group (SL). The reverse torque values obtained for Group (SS) were higher than those for (SL), although no statistically significant difference were observed between them.

The data obtained by biomechanical analysis could be ratified by evaluating the topography by SEM in the implants removed in the period of 30 days. The images obtained indicated that bone rupture occurred predominantly at the bone/implant interface for (SU) and (SA), whereas in (SL) and (SS) rupture occurred in the bone adjacent to the interface, confirmed by the results obtained in EDS, in which higher peaks of Ca and P were shown in the (SL) and (SS) surfaces when compared with those of (SU) and (SA).

CONCLUSION

- 1 – The characterizations of (SL) and (SS) surfaces produced important modifications in the physico-chemical properties and topographies when compared with (SU) and (SA), favoring the interaction of bone tissue with the implant in the initial periods of the bone repair process;
- 2 – For (SL) and (SS) the fracture promoted by the biomechanical test occurred and the bone/bone interface.

References

- [1] Bränemark PI, Nemark PI, Adell R, Albrektsson T et al. Osseointegrated titanium fixtures In the treatment of edentulousness. *Biomaterials* 1983; 4: 25-28.
- [2] Carvalho PSP, Ponzoni D. Aspectos biológicos da osseointegração. In: Gomes, LA. *Implantes osseointegrados: técnica e arte*. São Paulo: Ed. Santos. 2002: 1-9.
- [3] Gottlander M, Johansson CB, Wennerberg A, Albrektsson T, Radin S, Ducheyne P. Bone tissue reactions to an electrophoretically applied calcium phosphate coating. *Biomaterials* 1997; 18: 551-557.
- [4] DAVIES JE. *Bone engineering*. (ed 1). Toronto, 2000; 1-14.
- [5] DAVIES JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003; 67: 932- 940.
- [6] Roberts WE. Bone tissue interface. *J Dent Educ* 1988; 52: 804-809.
- [7] Watzek G, Zechner W, Ulm C, et al. Histologic and histomorphometric analysis of three types of dental implants following 18 months of occlusal loading: A preliminary study in baboons. *J Clin Oral Impl. Res* 2005; 16: 408-416.
- [8] Shibli JA, Grassi S, de Figueiredo LC, Feres M, Marcantônio E Jr., Lezzi G, Piatelli A. Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007 Feb; 80 (2): 377-385.
- [9] Albrektsson T, Wennerberg A. Oral Implant Surfaces: Part 1-Review Focusing on Topographic and Chemical Properties of Different Surfaces and in Vivo Responses to Them. *Int J Prosthodont* 2004; 17 (5): 536-543.
- [10] Klokkevold PR, Jhonson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD. Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12 (4): 350-357.
- [11] Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T et al. Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1988; 3 (1): 21-24.

- [12] Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran D, Nolte LP. Removal torque values of titanium Implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard 1998; 13(5): 611- 619.
- [13] Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface on bone integration of titanium implants. a histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res Hoboken* 1991; 25(7): 889-902.
- [14] Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio EJR. Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associated with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibiae. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67(8): 1706-1715.
- [16] Veis AA, Trisi P, Papadimitriou S, Tsirlis AT, Parissis NA, Desiris AK, Lazzara RJ. Osseointegration of osseotite and machined titanium implants in autogenous bone graft. a histologic and histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 2004; 15(1): 54-61.
- [17] Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Krol JJA. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 1995; 6(1): 24-30.
- [18] Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, Caputo A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res Copenhagen* 1997; 8(6): 442-447.
- [19] Lazzara RJ, Testori T, Trisi P, Porter SS, Weinstein RL. A human histologic analysis of ossetite and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent Chicago* 1999; 19(2): 117-129.
- [20] Trisi P, Lazzara R, Rao W, Rebaudi A. Bone-implant contact and bone quality: evaluation of expected and actual bone contact on machined and ossetite implant surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent Chicago* 2002; 22(6): 535-545.
- [21] Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol Chicago* 2003; 74(7):945-956.
- [22] Stach RM, Kohles SS. A meta-analysis examining the clinical survivability of machined surface and ossetite in poor quality bone. *Implant Dent Baltimore* 2003; 12(1): 87-96.

- [23] Gaggl A, Schultes G, Müller WD, Karcher H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces- a comparative study. *Biomaterials* Guilford 2000; 21(10): 1067-1073.
- [24] Lavis L, Grevey D, Langlade C, Vannes B. The early stage of the laser induced oxidation of titanium substrates. *Appl surface Sci*, Amsterdam 2002; 186(1-4): 150-155.
- [25] Cho AS, Jung SK. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials* 2003; 24(26): 4859-4863.
- [26] Braga FJC, Marques RFC, Almeida-Filho E, Guastaldi, AC. Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. *Applied Surface Science* 2007; 253(23): 9203-9208.
- [27] Aparecida AH, Fook MV, Guastaldi AC. Biomimetic apatite formation on ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. *J Mater Sci: Mater Med* 2009; 20(6): 1215-1222.
- [28] Kokubo T, Kim HM, Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* 2003; 24(13): 2161-2175.
- [29] Shepers ET. Bioactive glass particles of narrow size range: A new material for the repair of bone defects. *Implant Dent* 1993; 2: 151-156.
- [30] Faeda, RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio E JR. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. biomechanical study in rabbit tibiae. *Brazilian Oral Research* 2009; 23(2): 137-143.
- [31] Sandrini E, Giordano C, Busini V, Signorelli E, Cigada A. Apatite formation and cellular response of a novel bioactive titanium. *J Mater Sci Mater Med* 2007; 18: 1225-1237.
- [32] Cooper LF. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosthet Dent Saint Louis* 2000; 85(5): 522-534.
- [33] Wennerberg A, Albrektsson T. Structural influence from calcium phosphate coatings and its possible effect on enhanced bone integration. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 333-340.
- [34] Coelho PG, Cardaropoli G, Suzuki M, Lemons JE. Early healing of nanothickness bioceramic coating on dental implants. an experimental study in

dogs. *J Biomed Mater Res B Applied Biomater Hoboken* 2009; 88B(2): 387-393.

[35] Vercaigne S, Wolke JG, Naert I, Jansen JA. Bone healing capacity of titanium plasma-sprayed and hydroxyapatite-coated oral implants. *Clin Oral Implants Res* 1998; 9: 261-271.

[36] Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants Lombard* 1992; 7(1): 62-71.

[37] Moroni A, Faldini C, Marchetti S, Manca M, Consoli V, Gianini S. Improvement of the bone pin interface strength in osteoporotic bone with use hydroxyapatite-coated tapered external-fixation pin. a prospective randomized clinical study of wrist fractures. *J Bone Joint Surg Am Boston* 2001; 83A(5): 717-721.

[38] Son WW, Zhu X, Shin HI, Ong JL, Kim KH. In vivo histological response to anodized and anodized-hydrothermally treated titanium implants. *J Biomed Mater Res B Applied Biomater Hoboken* 2003; 66B(2): 520-525.

[39] Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snetivy D, Nolte LP. Interface shear strength of titanium implants with sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res B Applied Biomater Hoboken* 1999; 45B(2): 75-83.

Anexo F

Capítulo II - Versão em Inglês

Histometric Analysis of *cp Ti* Implants with surfaces modified by laser with and without silica deposition

Abstract

Purpose: Considering that the repair process at the interface formed between bone and implant is dependent on a series of factors, among these the properties of the surface, the aim of this study was to evaluate the biologic behavior of the bone tissue around implants towards the experimental surfaces modified by laser (SL); modified by laser with sodium silicate deposition (SS); and commercially available surfaces modified by acid etching (SA) and machined surfaces (SU).

Materials and Methods: Topographic characterization of the surfaces was performed by SEM-EDX, and by mean roughness measurement before experimental surgery. Thirty rabbits received 60 external hexagon implants measuring $3.75 \times 10\text{mm}$ in their right and left tibias, one implant of each surface being placed in each tibia. After periods of 4, 8 and 12 weeks animals submitted to euthanasia. The tissues obtained were cut by a microtome without decalcification. Histometric analysis was performed using an optical microscope. The bone interface contact (*BIC*), and the bone area (*AO*) were measured in percentages. The results obtained were submitted to the analysis of variance and the Tukey *t*-test. A slide of each surface in the period of 4 weeks was metalized in order to analyze the element mapping by means of scanning electron microscopy.

Results: The topographic characterization showed differences between the analyzed surfaces, and the mean roughness values of SL and SS were statistically higher than those of SA. The (*BIC*) of SL implants was statistically higher than those of SA and SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks. The (*BIC*) of SS implants was statistically higher than that of SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks, and statistically higher than that of SA in the periods of 8 and 12 weeks. The (*BIC*) of SA implants was statistically higher than that of SU in the period of 4 weeks. Element mapping showed high peaks of calcium and phosphorous in all groups in the period of 4 weeks.

Conclusion: In view of the results obtained, it was concluded that the experimental modifications SL and SS promoted on the surfaces of the implants accelerated the stages of the bone tissue repair process around the implants, providing better levels of osseointegration.

Key Words: Bone Repair; Laser; Surface Roughness.

Introduction

The changes made in the morphological, chemical and physico-chemical properties of the implant surface and their influence on the osseointegration process have been the objective of many studies over the last few years. These studies have demonstrated that surface treatment has enabled higher removal torque^{1,2,3} and bone/implant contact^{4,5,6} values to be obtained, when compared with machined-surface implants. It has been suggested that this occurs not only because of the increase in surface area, but also by potentiating the biological responses, leading to acceleration of the initial stages of the process of bone repair around implants.⁷

Therefore, surface treatment has assumed a role of great relevance in osseointegration. This process originated from the intention of improving the quality and quantity of bone at the interface formed between the bone and implant,^{4,5} favoring the repair process in low density areas,⁸ and in situations in which the biological responses are known to be compromised, such as patients with diabetes, who have been submitted to radiotherapy and are immunosuppressed.⁶ Up to now these were patients for whom the use of osseointegratable implants was contra-indicated.

The changes in the implant surface may be performed by methods of addition, such as titanium plasma spray,^{9,10,11} and hydroxyapatite coating,^{12,13} or methods of subtraction, such as modification by acid etching,^{6,14} airborne particle abrasion,^{8,15} anodic oxidation,^{16,17} and laser beam ablation.^{3,7,18,19} Laser beam modification is a recent method that has presented promising results.^{3,20} It has the advantage of clean processing with a high degree of

purity, in addition to being performed in a controlled and reproducible manner.^{7,18,19,20,21}

At present, researches have been directed towards texturing and coating surfaces with biomaterial to make them bioactive. Among these coatings, sodium silicate is outstanding.²² This compound is similar to silica oxide, present in bioactive glass ceramics which, when in contact with blood and mesenchymal cells present at the site, the latter differentiate into osteoblasts and allow bone formation by osteoconduction.^{23,24} The final objective is to favor the migration and differentiation of cells of osteoblastic origin directly to structure provided by the blood coagulum. In view of the above discussion, the aim of this study was to evaluate the biologic behavior the bone tissue around implants towards experimental surfaces modified by laser (SL), modified by laser with sodium silicate deposition (SS), and commercially available surfaces modified by acid etching (SA), and machined surfaces (SU).

Materials and Methods

SURFACE PREPARATION

In this study, 60 external hexagon implants were used, measuring 3.75x10mm (Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brazil), with 4 different surfaces, 2 of which were experimental surfaces that were modified by the Biomaterials Group of the “Instituto de Química UNESP,” Araraquara” and the other 2 were commercially available and constituted the control groups, as shown below:

- 3 (SL): Implant (cp *Ti*) and surface modified by Laser Beam (SL);
- 4 (SS): Implant (cp *Ti*) and surface modified by laser beam and sodium

silicate deposition (SS); (SA): Implant (cp Ti) modified by acid etching (Master Porous, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brazil);

6 (SU) Implant cp Ti and machined surface (Máster Screw, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, Brazil).

Surface Modification by Laser Beam

The cp Ti implants were fixed to a rotary lathe under the Yb laser equipment: 20W pulsed (Pulsed Ytterbium Fiber Laser, Sistema Omnimark 20F, Ominitek Tecnologia Ltda, São Paulo, Brazil), with the parameters of nominal power 140mJ, and pulse frequency 20 KHz. The laser beam was projected onto the entire surface of the implant spirals in an ambient atmosphere.

Coating by sodium silicate deposition

After laser beam irradiation of the surface, the implants were immersed in a NaOH (5.0 Mol.L^{-1}) solution, and placed in an oven for a period of 24 hours at 60 °C. After this, they were removed from the solution and kept in the oven for 3 hours at 60 °C. After this stage, the implants were immersed in a sodium silicate solution, pH 7.25, and remained in the oven for 24 hours, at a temperature of 37°C.

After the surface modifications of the experimental surfaces were performed, the implants were sent to the company (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brazil) to be sterilized and vacuum packed.

SURFACE CHARACTERIZATION

Before the implants were placed in the rabbit tibias, their surface topography was analyzed by means of scanning electron microscopy (SEM model XL 30 TMP, FEG, Philips XL Series, with Oxford incaX-sight detector, Holland, 97), coupled to the energy dispersive X-ray spectrometry system

(EDX), for semi-quantitative analysis of the chemical composition of the surfaces. In addition to this, cp Ti disks were modified with the different surfaces and analyzed in cross section by SEM, to determine the mean thickness of 10 points measured on the surfaces.

In these same discs the mean roughness (R_m) of each surface was measured, using a digital rugosimeter (Mitutoyo SJ-400, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, Brazil).

EXPERIMENTAL MODEL

Thirty male rabbits (*albinus*, New Zealand) rabbits aged approximately 5 months, with body weight between 3 and 4 Kg were used. They received 60 implants (15 implants of each type of surface), 1 implant of each surface being placed in each tibial epiphysis. The animals were kept in individual cages and fed a standard diet of solid rations (Procoelho, Primor) and water “*ad libitum*”, at the vivarium of the School of Dentistry of Araçatuba – UNESP. The study was submitted to the Ethics Committee on Animal Experimentation of the School of Dentistry of Araçatuba for approval, and received a favorable report for its development (Protocol Number 2007-005035).

SURGICAL PROCEDURE

The surgical procedure began with pre-operative fasting for 8 hours before anesthesia. The animals were anesthetized by intramuscular infiltration (IM) of 50mg/kg ketamine hydrochloride (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brazil), and 5mg/Kg xylazine chloride (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, Brazil).

After this trichotomy was performed in the right and left tibias. Degerming and antisepsis of the region to be incised was performed with polyvinyl

pyrrolidone iodine degerming agent (PVPI 10% Degermante, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brazil), followed by topical PVPI (10% Topical PVPI, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brazil). After this, the animals received local anesthetic by means of mepivacaine chloride infiltration (0.3 mL/Kg, 2% Scandicaine with adrenalin 1:100.000, Septodont, France) to help with hemostasis.

An incision approximately 3 cm long was made in the proximal region of the tibia, bilaterally, and the soft tissue was divulsed through its entire thickness, exposing the bone tissue for implant placement. The surgical beds were prepared by means of a counter angle reducer 20:1 (Kavo do Brasil, Florianópolis, Brazil) coupled to an electric motor (Conexão Sistema de Próteses, São Paulo, Brazil) at 1400 rpm. A progressive sequence of cutters, lance, 2.0mm helical cutter, 2.0/3.0mm pilot cutter and 3.0mm helical cutter were used, with abundant irrigation with 0.9% sodium chloride solution (Darrow, Rio de Janeiro, Brazil). Next, one implant with each type of surface per tibia was placed, with bicortical anchorage, at a speed of 20 rpm.

Suturing was performed in planes, with the use of absorbable thread (Polygalactin 910 – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brazil) with continuous stitches in the muscular plane and non-absorbable thread (Nylon 4.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brazil) with interrupted stitches in the dermal plane.

In the post-operative period the animals received IM administration of Pentabiotic (0.1ml/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brazil) and a single dose of Sodium Dipyrone (1mg/kg/Kg, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brazil). In the periods of 4, 8, and 12 weeks

post-operatively, the animals were submitted to euthanasia by means of IM administration of a lethal dose of chloral hydrate.

SAMPLE PREPARATION AND HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS

The tissue samples taken from the right and left tibias containing the implants were removed and placed in 10% neutral buffered formalin for a period of 72h. After this, the tissues were dehydrated in increasing concentrations of alcohol (ethanol 60-100%) and afterwards, infiltration in light polymerizable resin (Technovit 7200 VLC, Kultzer Heraeus GmbH & Co., Wehrheim, Germany). The blocks containing the implant and peri-implant bone tissue were cut in a central point, using a microtome with a cut and wear system (Exakt Apparatebau, Hamburg, Germany). The slides obtained were approximately 50 µm thick and were stained with Stevenel blue and acid fuchsin. The images were analyzed under an optical microscope (Diastar, Leica Reichert & Jung Products, Germany) and captured by means of a digital photographic camera (Leica Microsystems DFC-300-FX, Germany), with a resolution of 1.3 megapixels, coupled to a common light microscope and a computer.

The histometric analysis was performed by means of image analysis software IMAGELAB 2000, version 2.4. Calculations in percentage were made of the bone interface contact (*BIC*), and the area of bone tissue present (*AO*) between the 3 most coronally situated spirals, located in cortical bone on each side of the implant.

The element mapping was analyzed in a part from each group in the period of 4 weeks, which was processed again, using the other half of the block containing the implant section in the central point, as described above. These

slides obtained were metalized to verify the distribution and homogeneity of Ca and P, with the use of SEM-EDX coupled to an electronic microsound system.

STATISTICAL ANALYSIS

The values obtained in the rugosimetry analysis presented normal distribution, when tested by the Kolmogorov-Smirnov test, and were compared by means of the analysis of variance (ANOVA one-way) and Tukey's multiple comparison test ($p < 0.05$).

The *BIC* and *AO* values in percentage obtained in the histometric analysis were compared in each group among them, in the 3 periods, and for the different groups in each period of evaluation. The data obtained also presented normal distribution. The results obtained were submitted to statistical analysis of variance (ANOVA one-way) and Tukey's multiple comparison test ($p < 0.05$).

Results

SURFACE TOPOGRAPHY OF IMPLANTS - SEM AND EDX

Scanning Electron Microscopy of the analyzed surfaces demonstrated topographical differences among them. The SL (Figs.1a,b), and SS (Figs.1d,e) produced rough surfaces with a more regular and homogeneous morphological pattern, with structures on a nanometric scale (Figs.1b and e). Group SA presented a topography with a morphologic pattern of subtraction, with the formation of valleys of different depths and sizes (Figs 1 g,h) whereas Group SU presented a smooth surface topography, contaminated with machining remainders (Figs.1j,l). Analysis by EDX revealed not contamination whatever of the analyzed surfaces. For SL, peaks of Ti and oxygen were observed

(Fig.1c), whereas SS revealed the presence of peaks of Ti, oxygen, silica and sodium chloride (Fig1f). Ti peaks were observed for SA (Fig.1l) and SU (Fig.1m).

RUGOSIMETRY

The cross section of the discs showed a mean thickness of 21.76 ± 9.05 μm for SL (Fig.2a). 28.75 ± 10.12 μm for SS (Fig.2b). and 7.84 ± 3.73 μm for SA (Fig.2c). In the cross section of surface SS (Fig.2b) SEM showed the presence of a “hybrid” layer produced by laser beam irradiation followed by sodium silicate deposition, and it was not possible to distinguish the modification by laser beam from the sodium silicate deposit, evidenced by EDX (Fig.1j).

Microtopographic analysis revealed statistically significant differences ($p < 0.05$) among the surfaces. The mean roughness values of SS ($R_m = 5.12 \pm 0.32$ μm). and SL ($R_m = 4.73 \pm 0.48$ μm) were statistically higher than those of SA ($R_m = 1.34 \pm 0.35$ μm) e SU (0.4 ± 0.06 μm). according to Graph 1 (Fig.3).

HISTOMETRIC ANALYSIS

The *ELCOI* of SL implants was statistically higher ($p < 0.05$) than those of SA and SU in the periods of 4, 8 and 12 weeks, whereas the *BIC* of SS implants was statistically higher than those of SU the periods of 4, 8 and 12 weeks, and statistically higher than those of SA in the periods of 8 and 12 weeks. Whereas the *BIC* of SA implants was statistically higher ($p < 0.05$) than that of SU only in the period of 4 weeks. The mean and standard deviation values in percentage of *BIC* of all the surfaces and periods are shown in the chart below, and illustrated in Graph II (Fig.4).

The *AO* of SL implants SL was statistically higher ($p < 0.05$) than those of SA and SU in the three analyzed periods. The *BIC* of SS implants was

statistically higher than those of SU in the periods of 8 and 12 weeks. The AO of SA implants was statistically higher than ($p < 0.05$) that of SU in the period of 4 weeks. The mean and standard deviation values in percentage of AO of all the surfaces in all periods are shown in the chart below, and illustrated in Graph III (Fig.5).

The qualitative analysis of bone tissue around implants SL and SS in the period of 4 weeks revealed a more mature cortical bone tissue due to the more regular and homogeneous deposition of collagen fibers, with the formation of concentric lamella, and small areas of immature conjunctive tissue (stained with Stevenel blue), with the presence of osteoblasts disposed in palisade formation. In the periods of 60 and 90 days greater tissue maturation and significant maintenance of the contact interface between the surfaces and bone tissue was verified (Fig). In the SS implants SS it was not possible to note any detachment of the sodium silicate material deposited on the surface (Fig).

Whereas in the SA (Fig) and SU (Fig) implants, in the period of 4 weeks there was a smaller quantity of bone trabeculae between the spirals of the implants in the cortical region, and these were interlaced with immature conjunctive tissue. It was also verified that the collagen fibers were disposed in a less orderly manner and there was less tissue maturity (Fig). In some regions clear separation between the pre-existent bone tissue and neoformed bone tissue was verified (Fig). In the periods of 8 and 12 weeks, the bony pattern of SA (Fig.) and SU (Fig.) was more mature, with a larger contact interface of the surface with bone tissue, although it was possible to note the presence of some areas of immature conjunctive tissue among the bone trabeculae (Fig.) and the

permanence of pre-existent bone tissue was still not remodeled in some regions (Fig.).

ELEMENT MAPPING

The analysis of distribution and homogeneity of Ca and P in the slides revealed the presence of high peaks of these elements in all the groups, highlighting the colors blue for Ti, red for P and green for Ca. Superimposition of the images of the different elements for each group is shown in Figure 7.

Discussion

The different methods of texturization in osseointegratable implants give their surfaces a rougher topography, which interferes directly in the cell responses, and consequently in the levels and speed of bone deposition.^{3,25,26} This study showed that the topographical changes made in the implant surface made it possible to have positive effects on the bone deposition process when compared with machined-surface implants. Nevertheless, the experimental topographical modifications made by laser ablation SL and laser ablation and sodium silicate deposition SS were those that showed the best results, accelerating the stages of the process of bone repair around implants and providing better levels of osseointegration.

This biological response modulation was proved by the *BIC* and *AO* values in percentages found in the SL and SS implants, which were generally higher than those of the SU and SA implants in all the analyzed periods. These findings are the consequences of implant surface modification by laser beam. The interaction of the laser beam with the titanium surface in an ambient atmosphere led to the physico-chemical interaction of oxygen, nitrogen and

carbon, caused by the rapid heating and cooling of the surface . Ratifying the above findings, pervious studies,^{3,7,18,19} have found results similar to those of the present study, in which the physico-chemical properties of the surface modified by laser beam accelerated the stages of bone repair around implants.

This same level of contact between the implant surface and bone tissue, in this study evidenced by the percentage of *BIC*, appears to be related to the mean roughness values.^{27,28,29} From the results obtained in the microtopographic analysis it was observed that the SL and SS presented statistically higher mean roughness values ($p < 0.05$) when compared with those of SU and SA, data that were directly proportional to the percentage of *BIC* and AO, which showed higher values than those of SL and SS.

The topographic morphology of the surfaces analyzed by SEM-EDX before the implants were placed, showed that the SL and SS presented a complex morphology, with regular cavities, similar to those of a honey-comb, free of impurities and with structures on a nanometric scale. The application of nanotechnology corresponds to yet another stage in the process of development of osseointegratable implant surfaces, and indicates a modulation in tissue response. Recent studies^{30,31,32} have indicated that the most probable hypothesis for this better tissue response was the existence of nanostructures in the bone tissue, and tht the interaction between the bone tissue and biomaterial also occurs on this scale.

Sodium silicate was deposited on the laser-modified surface to make it bioactive. The process of biological incorporation is based on the physico-chemical reaction of this surface with the organic fluids for later bone deposition.²² The interaction occurs by the sodium titanate link formed by the

reaction of the sodium hydroxide (NaOH) with the laser irradiated surface, thus leaving the surface reactive. The goal was to facilitate the differentiation and proliferation of cells of osteoblastic origin. In this study the behavior of this surface presented favorable results in the interaction with bone tissue, according to the results of the histometric analysis.

At present there is concern about the use of coating materials on implant surfaces, which is due to the risk of displacement of the deposited material, causing an inflammatory process and bone loss as a result of phagocytosis of the incorporated material, and leading to the rupture of the interface formed between the bone tissue and implant surface. The deposition of sodium silicate on the surface previously modified by laser beam did not present this problem, since the *ELCOI* values in percentage of SS were very close to those of SL. Aparecida et al. 2009³³ affirmed that laser presents the physico-chemical property of forming a layer rich in oxygen and nitrogen incorporation during the rapid fusion and solidification of titanium, leaving the surface reactive, and facilitating the incorporation of the coating material. Furthermore, in general, this concern does not affect the methods of texturization by subtraction, such as ablation by laser, since the majority of problems of displacements that have occurred up to now were related to the method of addition of plasma sprayed hydroxyapatite.^{34,35}

Therefore, within the limitations of the present study, the results obtained suggest that the experimental characterizations performed in the surfaces of implants SL and SS promoted important physico-chemical modifications, favoring the interaction between the bone tissue and implant during the repair process. Further studies will be necessary for better understanding of the

modulation of biologic responses promoted by these experimental modifications, as well as of the behavior of these towards oral fluids and the progression of peri-implant disease.

References

- 1 – Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson, B, et al: Removal torque for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 3:21, 1988.
- 2 - Kesser-Liechti G, Zix J, Mericske-Stern R: Stability measurements of 1-stage implants in the edentulous mandible by means of resonance frequency analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 23:353, 2008.
- 3 – Faeda RS, Tavares HA, Sartori R, et al: Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associate with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibiae. *J Oral Maxillofac Surg* 67:1706, 2009.
- 4 - Thomas K, Cook SD: Relationship between surface characteristics and the degree of bone-implant integration. *J Biomed Mater Res* 26:831, 1992.
- 5 - Xavier SP, Carvalho PSP, Beloti MM, et al: Response of rat bone marrow cells to commercially pure titanium submitted to different surface treatments. *J Dent* 31:173, 2003.
- 6 - Qahash M, Hardwick R, Rohrer MD, et al: Surface-etching enhances titanium implant osseointegration in newly formed (rhBMP-2-induced) and native bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 22: 472, 2007.

- 7 - Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, et al: Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. Biomechanical study in rabbit tibias. *Bras Oral Res* 23:137, 2009.
- 8 - Buser D, Schenk RK, Steinemann S, et al: Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. a histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25:889, 1991.
- 9 - Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson, C, et al: Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study with rabbits. *J Biomed Mater Res* 29:1223, 1995.
- 10 - Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J: Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. a study in the dog (II). *Clin Oral Implants Res* 12:196, 2001.
- 11 - Lima LA, Fuchs-Wehrle AM, Lang NP, et al: Surface characteristics of implants influence their bone integration after simultaneous placement of implant and GBR membrane. *Clin Oral Implants Res* 14:669, 2003.
- 12 – Piattelli A, Scarano A, DI Alberti L, et al: Histological and histochemical analysis of acid and alkaline phosphatases around hydroxyapatite-coated implants: a time course study in rabbit. *Biomaterials* 18:1191, 1997.

13 - – Uehara T, Takaoka K, Ito K: Histological evidence of osseointegration in human retrieved fractured hydroxyapatite-coated screw-type implants: a case report. Clin Oral Implants Res 15:540, 2004.

14 - Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, et al: Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. a torque removal study in the rabbit. Clin Oral Implants Res 8:442, 1997.

15 - Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, et al: A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. Clin Oral Implants Res Copenhagen 6:24, 1995.

16 - Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, et al: Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. Clin Oral Implants Res 13:252, 2002.

17 - Huang YH, Xiropaidis AV, Sorensen RG, et al: Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite) oral implants in type IV bone. Clin Oral Implants Res 16:105, 2005.

18 - Gaggl A, Schultes G, Muller, WD, et al: Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces – a comparative study. Biomaterials 21:1067, 2000.

- 19 - Cho SA, Jung SK: A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials* 24:4859, 2003.
- 20 - Braga FJC, Marques RFC, Filho EA: Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. *Appl Surf Scien* 253:9203, 2007.
- 21 - Tavares HS, Faeda RS, Guastaldi AC, et al: SEM-EDS and biomechanical evaluation of implants with different surface treatments: an initial study. *J Osseointegration* 1:25, 2009.
- 22 - Kokubo T, Kim HM, Kawashita M: Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* 24:2161, 2003.
- 23 - Schepers EJ, Ducheine P, Barbier L, et al: Bioactive glass particles of narrow size range: a new material for the repair of bone defects. *Implant Dent* 2:151, 1993.
- 24 - Chen QZ, Li Y, Jin LY, et al: A new sol-gel process for producing Na(2)O-containing bioactive glass-ceramics. *Acta Biomaterial* 4:, 2010.
- 25 – Suzuki M, Guimarães MVM, Marin C, et al: Histomorphologic and bone-to-implant contact evaluation of dual acid-etched and bioceramic grit-blasted implant surfaces: an experimental study in dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 68:1877, 2010.

26 - Coelho PG, Granato R, Marin C, Bonfante EA, Freire JN, Janal MN, Gil JN, Suzuki M: Biomechanical evaluation of endosseous implants at early implantation times: a study in dogs. J Oral Maxillofac Surg 68:1667, 2010.

27 – Cooper LFA: A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. J Prosthet Dent 84:522, 2000.

28 - Stach RM, Kohles, SS: A meta-analysis examining the clinical survivability of machined surface and osseotite implants in poor-quality bone. Implant Dent 12:87, 2003.

29 - Sandrini E, Giordano C, Busini V, et al: Apatite formation and cellular response of a novel bioactive titanium. J Mater Sci Mater Med 18:1225, 2007.

30 - Mendes VC, Moeineddin R, Davies JE: The effect of the discrete calcium phosphate nanocrystals on bone bonding to titanium surfaces. Biomaterials 28:4748, 2007.

31 - Meirelles L, Arvidsson A, Andersson M, et al: Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation. J Biomed Mater Res A, Appl Biomater 87A:299, 2008.

32 - Meirelles L, Currie F, Jacobsson M, et al: The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration. Int J Oral Maxillofac Implants 23:641, 2008.

33 – Aparecida AH, Fook MV, Guastaldi AC: Biomimetic apatite formation on ultra high molecular weight polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. J Mater Sci Mater Med 20:1215, 2009.

34 – Bloebaum RD, Beeks D, Dorr LD, et al: Complications with hydroxyapatite particulate separation in total hip arthroplasty. Clin Orthop Relat Res 298:109, 1994.

35 – Albrektsson T: Hydroxyapatite-coated implants: a case against their use. J Oral Maxillofac Surg 56:1312, 1998.