

LEONARDO PEREZ FAVERANI

**Efeitos de diferentes concentrações de
dextrose e lipopolissacarídeo no
comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V
com superfície usinada e tratada com duplo
ataque ácido**

Araçatuba – São Paulo

2013

LEONARDO PEREZ FAVERANI

**Efeitos de diferentes concentrações de
dextrose e lipopolissacarídeo no
comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V
com superfície usinada e tratada com duplo
ataque ácido**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, para obtenção do Título de DOUTOR EM ODONTOLOGIA (Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial).

Orientador: Prof. Adj. Wirley Gonçalves Assunção

Coorientador: Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão

Araçatuba – São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

F273e

Faverani, Leonardo Perez.

Efeitos de diferentes concentrações de dextrose e lipopolissacarídeo no comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V com superfície usinada e tratada com duplo ataque ácido / Leonardo Perez Faverani. - Araçatuba, 2013

85 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

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

Orientador: Prof. Dr. Wirley Gonçalves Assunção

Coorientador: Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão

1. Titânio 2. Corrosão 3. Microscopia I. T.

Black D7
CDD 617.64



DEDICATÓRIA

Dedicatória

Eu dedico esta conquista aos amores da minha vida, aos meus alicerces como pessoa e cidadão. Aqueles que fundamentam a minha história: **a minha família.**

Ao meu papai (Olissio Faverani), meu herói, um homem especial, um exemplo de vida a ser seguido. O senhor nos ensinou as maiores dádivas deste mundo: a honestidade e o amor a Deus sobre todas as coisas. Sempre defendeu a sua “prole” com muito amor e dedicação. Se hoje eu possuo dignidade e conheço o caminho da verdade é devido ao seu exemplo. Eu te amo meu pai e te amarei por toda a minha vida, com todas as minhas forças.

À minha mamãe (**Ester Perez Faverani**), por deixar de agarrar muitas oportunidades para se dedicar integralmente aos seus filhos. A educação, o amor e o carinho que sempre nos devotou são infalíveis. A senhora é sinônimo de bondade e amor ao próximo. Tudo o que eu disser neste momento ou por toda a minha vida, não retribui o que tens feito por nós. Eu te amo incondicionalmente.

Ao meu irmão “Olissinho” (**Olissio Perez Faverani**), que apesar da enorme distância que nos separa, participa ativamente das minhas conquistas. Você é muito mais que um irmão, é meu amigo, confidente e companheiro para todo o momento. Sou grato por tê-lo comigo. Deus o abençoe em tudo o que você se propor a fazer e que a paz, o amor e a caridade estejam sempre ao seu lado. Te amo meu irmão querido.

Ao meu irmão “Pi” (**Felipe Perez Faverani**), por ser tão especial, amoroso e compreensivo. As adversidades acontecem e você continua firme nos seus ideais. Desejo que a sua vida seja repleta de paz e com muito sucesso. Deus te guie em tudo. Eu te amo!

Ao meu irmãozinho, o “Guto” (**Augusto Perez Faverani**), a alegria da nossa casa. Você chegou para modificar as nossas vidas, com seu jeito carinhoso e todo especial. Eu te amo!





AGRADECIMENTOS

ESPECIAIS

Agradecimentos Especiais

O maior prazer na vida é ter a paz que excede o entendimento. Hoje as palavras embargam num choro de felicidade, da alegria de percorrer um caminho tão sonhado. Neste peregrinar, por vezes houve sofrimento, angústias e decepções, porém nada foi superior a paz e ao amor de Deus. Ele é o fundamento de todas as coisas e por ele caminho e desejo vê-lo na Cisão Celestial. Gratidão eterna é a palavra que resume o maior sentimento neste momento. A todos que representam a marca desta vitória, recebam meu carinho e admiração. Amo todos incondicionalmente!

Enalteço inicialmente ao Papai do Céu, **o nosso Deus**, imensurável é o teu amor. Graças te dou pelo privilégio do dom da vida e por não te ver pessoalmente, mas por te sentir em todos os momentos da minha vida. Obrigado Senhor por me proporcionar tanta coisa que nunca nem imaginava que aconteceria. Não tenho sido merecedor de tanto amor derramado por ti. Agradeço por ter enviado o filho do teu amor, Jesus Cristo e nos mostrar o caminho da verdade, oferecendo o seu unigênito filho para o sacrifício vivo e assim, salvar o mundo da condenação à morte eterna. Obrigado por me ensinar a cada dia como proceder diante das batalhas. Acima de tudo e de todos quero te adorar e no final, ver a tua face como ela é, numa festa que nunca findará. Te amo e adoro, Salvador!

Ao meu orientador, Prof. Adj. Wirley Gonçalves Assunção. Com certeza, a maior dádiva do professor é proporcionar ao aluno oportunidades que levam ao crescimento. Sou eternamente grato primeiramente pela oportunidade da convivência

com o senhor, além do privilégio de aprender dia-a-dia, seja na pesquisa, clínica ou no meu crescimento enquanto Ser humano. Nunca vou me esquecer da sua compreensão e ajuda constante. Deus abençoe o senhor e a sua família. Receba minha gratidão!

Ao Prof. Adj. Idelmo Rangel Garcia Júnior. Definitivamente, ser Mestre é o seu dom. Mestre, no maior significado da palavra. Serenidade, humildade e paciência são características marcantes que o faz um Ser humano especial. Aprendo com o senhor sempre. Muito obrigado por confiar em mim e nunca se esqueça de que a sua presença é fundamental para nós. Por toda a minha vida serei grato pela oportunidade que o senhor me deu, desde a graduação até a defesa do doutorado e continua em tudo o que fazemos na faculdade e na nossa vida. Meu muito obrigado e receba meu carinho!

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão. Por ser meu amigo e me guiar na pós-graduação. Agradeço imensamente pela confiança e paciência comigo. Por me proporcionar aprendizado constante e partilhar do privilégio da sua convivência. Você é um exemplo de competência, garra e coragem. Agora, graças a Deus, alcançou uma posição mais que merecida, você é professor da Unicamp (FOP). Obrigado por tudo e que Deus o abençoe!

Aos professores Cortino Sukotjo e Judy Chia-Chun Yuan da Universidade de Illinois em Chigado- EUA e **ao professor Mathew T Mathew** da Rush University Medical Center – Illinois, Chicago, EUA. Pela colaboração constante nesta pesquisa, desde a sua idealização, elaboração da estatística e finalização da mesma. Muito obrigado! Em especial, agradeço de coração ao professor Cortino, um pesquisador

excelente e uma pessoa fantástica. Muito obrigado por entender as minhas escolhas e tardar um sonho tão desejado. Espero trabalhar contigo brevemente.

À Professora Dra Roberta Okamoto, por sua humildade e enorme competência. Por me ensinar e proporcionar experiência com a pesquisa animal. Muito obrigado!

Ao Professor Paulo Sérgio Perri de Carvalho, por sua disponibilidade imediata em ajudar nesta pesquisa, na obtenção dos tratamentos de superfície das amostras. E especialmente, por seu respeito e carinho no trato com os alunos. Mesmo tão ocupado sempre me atendeu prontamente. Receba minha admiração.

À Professora Adj. Maria Cristina Rosifini Alves Rezende, por seu um exemplo para todos os alunos da FOA de professora. Sempre extremamente carinhosa e desde os primeiros passos da graduação, nos mostra o caminho desta linda profissão. Muito obrigado pelo incentivo e ensinamentos. Receba minha admiração!

À Professora Dra Maria da Gloria Chiarello de Mattos, por aceitar com prontidão o convite para participar da banca examinadora. Agradeço de coração a atenção e disponibilidade.

Ao Professor e amigo, Dr. Cláudio Maldonado Pastori. Por confiar e reconhecer algo bom em mim, mesmo sem me conhecer. O senhor foi um anjo na minha vida. Agradeço por sempre me encaminhar em tudo. Saiba que é uma dádiva a confiança depositada em mim e no Gabriel. Somos bem-aventurados por tê-lo conosco. Continuo agradecendo e será assim por toda a vida, por nos ensinar a Cirurgia Ortognática, grande objetivo das nossas vidas profissionais. Que Deus derrame sempre em sua vida chuvas de bênçãos.

Aos Professores da Disciplina da Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial Dr. Osvaldo Magro Filho, Michel Saad Neto, Alessandra Marcondes Aranega, Daniela Ponzoni, Ana Paula Farnezi Bassi, Francisley Àvila Campos e ao ilustríssimo Professor Tetuo Okamoto, pela amizade desfrutada em nosso departamento. Recebam o meu carinho e admiração.

Ao Professor Wilson Roberto Poi, pelo maior exemplo do “Ser Professor”. Muito obrigado por fazer parte da minha formação e me fazer descobrir o professor que está em mim.

Aos professores da Disciplina de Clínica Integrada (Sônia Regina Panzarini Barioni, Denise Pedrini, Daniela Brandini e Celso Sonoda), por serem os maiores exemplos de professores. Pela disposição e empenho com o crescimento da nossa faculdade. Pelo cuidado no trato com os alunos da graduação e da pós-graduação. Vocês são mestres por excelência. Recebam minha eterna gratidão, carinho e admiração neste momento.

À “Cleidinha” (Cleide Lemos Toquetão), a nossa mãezona de Araçatuba. Você faz a diferença nas nossas vidas. Agradeço pelo carinho, atenção, amor dispensado por nós da Cirurgia. Muito obrigado por fazer o nosso dia e a nossa vida muito mais fácil. Por acalantar o nosso sofrimento e nos agraciar com a sua presença. Meu eterno agradecimento!

À “Éllinha” (Éllen Cristina Gaetti Jardim). Pela eterna amizade e irmandade conquistada. Você é a irmã que eu não tive. Vendo a sua conquista, encho-me de orgulho e ainda é só o começo do sucesso que irá por vir na sua vida profissional. Agradeço a Deus por ter alguém como você ao meu lado. Sei que não tem hora para

falar contigo, chorar as mágoas ou te contar uma novidade. Muito obrigado por participar da minha vida. Minha eterna gratidão e admiração!

Às Professoras Dra. Jéssica Lemos Gulinelli e Thallita Pereira Queiroz. Se neste momento conclui o doutorado, foi porque ainda na graduação tive o privilégio em conhecê-las e sonhar com a pós-graduação. Vocês são exemplo de determinação, coerência e amizade. Muito obrigado pela confiança e por proporcionar que já durante os primeiros passos na cirurgia fossem trilhados aqui.

Ao “Andrezinho” (André Luis da Silva Fabris). Por ser um amigo indescritível. Em todos os momentos dessa fase pude contar com você. Seja na faculdade ou na sua casa. Agradeço a você e sua família **(Maria Ivone e Gustavo Fabris)** por me fazer sentir em casa. Amo vocês!

À “Sassá” (Sabrina Ferreira), pelo imenso carinho e respeito que existe entre nós. O doutorado não seria tão legal sem a sua presença. Agradeço a Deus por ter conhecido você. És um exemplo de profissional, aluna de pós-graduação e amiga. Você vencerá porque há em ti um enorme desejo da justiça. Deus a abençoe e que a sua vida seja regada sempre com bençãos celestiais!

À “Ju Zorzi” (Juliana Zorzi Colete), pelo respeito, amor e amizade. Obrigado por estar ao meu lado.

À “Pili” (Maria del Pilar), pela amizade, carinho e alegria que você irradia. Receba meu carinho!

À “Mayarinha” (Mayara Barbosa Ferreira) e “Carolzinha” (Ana Carol Hipólito). Agradeço pela atenção, disposição em me ajudar e pela alegria da nossa convivência no departamento de Prótese.

Aos alunos da graduação, pela oportunidade em compartilharmos informações e aprendizado. Em especial, agradeço imensamente ao querido amigo **Tárik Ocon Braga Polo**, um aluno espetacular, um amigo que ficará para sempre. Muito obrigado pela confiança, auxílio nas nossas pesquisas, na clínica e na minha vida. O que precisar pode contar comigo. Ao amigo **Igor de Oliveira Puttini**, pela amizade e grande disposição em nos ajudar. Um abraço!

Ao meu segundo Pai (Paulo Martins Ferreira), por preocupar-se comigo, por ser um conselheiro e exemplo de pai. Aprendo muito com o senhor, com sua história de vida e com a sua família, amável e compassiva. Sinto-me honrado em me sentir tão amado por vocês. Nunca me esquecerei de tudo o que fizeram e ainda fazem por mim. Amo o senhor! E como o senhor mesmo diz, olha o “Big little Léo”, o “quiabeira” – risos!

À Marianne Ramalho de Azevedo Ferreira, por ser minha amiga e segunda mãe. Dou graças a Deus por me presentear com a amizade de vocês. Muito obrigado pelo acolhimento, pelas conversas que me fazem amadurecer constantemente, pela confiança que não me sinto merecedor. Enfim, amo a senhora. Neste momento, receba meu carinho!

Ao “Felipão” (Felipe Ramalho Ferreira). Um grande amigo, um irmão. Muito obrigado pelo carinho, respeito e confiança. Sempre conte comigo.

À Letícia Linhares, por sempre me tratar com respeito e admiração que eu nunca mereci. Agradeço por ter ao meu lado pessoas como você, verdadeira e leal.

Ao meu irmão do coração “Gabrielzinho” (Gabriel Ramalho Ferreira). Mesmo que eu andasse por muitos caminhos e procurasse incessantemente pela amizade

sincera, verdadeira, com certeza ficaria no meio do caminho, frustrado, uma vez que algumas dádivas não procuramos, nem alcançamos o mérito por meio da luta. Felizmente, o nosso Deus, por algum motivo que às vezes não é conhecido, nos traz presentes, na forma humana, que vem a cada dia nos auxiliar nesta caminhada. Neste contexto, apareceu você Gabriel, desde a residência em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial em Bauru, quando ainda no início conversávamos sobre a história das nossas vidas, os nossos anseios e angústias, na busca por este grande sonho. Você é um exemplo para mim, de homem, de servo de Deus e de amigo. A cada dia, agradeço ao Papai do Céu por me agraciar com a sua presença. Hoje, nesta data que certamente é uma das mais importantes da minha vida, aproveito a oportunidade para te agradecer pelo companheirismo, lealdade e fraternidade. Somos irmãos de coração, unicamente com um traço genético diferente, mas com muito amor fraternal. Sei que sabe disso, mas não se esqueça que eu sempre estarei ao seu lado, mesmo que distante fisicamente. Que o eterno Deus determine tudo o que o celeiro dele tenha de melhor na sua vida, atrelado a muita paz, saúde e muito sucesso que você merece. Eu te amo meu irmão!

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Doutorado durante os primeiros meses do curso. Meus sinceros agradecimentos por promover o apoio financeiro e com isso, permitir que fosse possível a realização do doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da Bolsa de Doutorado (Processo 2012/14282-5), indispensável para a realização deste estudo e minha sobrevivência na pós-graduação.



AGRADECIMENTOS



Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, na pessoa da diretora **Profa Adj. Ana Maria Pires Soubhia** pela oportunidade de realização dos cursos de Graduação, Mestrado e Doutorado. A cada dia admiro mais esta universidade, pela união e grande esforço para que a tríade fundamental da instituição representada pelo ensino, pesquisa e extensão universitária seja o maior lema desta casa. Agradeço de coração por permitir que estes sonhos se contrizem em minha vida.

À **Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” **Profa. Adj. Maria José Hitomi Nagata**, pela competência e afinco na condução da nossa pós-graduação. Estendo os meus sinceros agradecimentos ao vice-coordenador, o **Prof. Adj. Celso Koogi Sonoda**, um exemplo de professor e ser humano. Aprendo muito com a sua serenidade e humildade.

Ao Prof. Adj. Dr. Paulo Henrique dos Santos pela amizade e pelas sinceras palavras de confiança e carinho sempre.

Ao Prof. Adj. Eduardo Passos Rocha por sua sinceridade e honratez.

Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP pela disponibilidade e paciência em todas as etapas do doutorado. Pelo trabalho honesto e sempre ágil.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela prontidão em nos atender e carinho.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada (Dirce, Gilmar, Odair, Tina, Paulo Gratão, Renato e Joilson). Muito obrigado pelo carinho e respeito.

Aos colegas da pós-graduação de Odontologia, da área de Prótese (Mayara, Ana Carol, Brunamélia, Leonardo Torcato, Joel Santiago, Rosse, Aline, Douglas, Leonardo Viana, Ana Paula, Amália, Daniel, Thais, Leonardo, Emily, Liliane, Aljomar, Rodrigo, Adhara, Agda, Mariana, Vitor e Carol Catieri). Por me recepcionar no Departamento com muito respeito e me fazer sentir em casa na Prótese. Meu muito obrigado.

Aos colegas da pós-graduação da Ortodontia (Ana Carol, Laércio e Renato); da Periodontia (Maryelen, Paulinha Faleiros, Vivian, Nathalia Campos, Carol e Erivan); da Clínica Integrada (Vanessinha Ferreira); da Dentística (Letícia Cunha, André Godas, Rafael Simões e Lucas); da Estomatologia (Lígia e Gláucia), pela amizade e respeito que existe entre nós.

Aos colegas da pós-graduação em Odontopediatria (Carla, Daniele, Jackeline, Luciana e Marecele Danelon), pela disposição em ajudar sempre nas pesquisas e amizade.

Aos colegas da pós-graduação da área de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial (Pedrão, Fernando, Heloísa, Marcelo, Cassiano, Pâmela, Elisa, Igor, Lamis, Willian Moraes, Gustavo, Bianca, Carlos Timóteo, Julierme, Fernanda Boss, Juliana Zorzi, Patrícia, Ana Paula, Júlio César, Rafael e Willian Caetano); e da Implantodontia (Eduardo Facó, Flávia, Cristiano, Geraldo Griza, Maria del Pilar, Giovana Francisconi, Juceleia Maciel e Rodrigo). Tenho aprendido a cada momento

com cada um de vocês. Obrigado pelo auxílio constante na minha vida e na pós-graduação.

Aos pacientes, pela credibilidade e confiança depositadas a nós pós-graduandos, premitindo-nos aprimorar as habilidades cirúrgicas e, como sempre estaremos em nossas vidas, aprendendo constantemente. Minha eterna gratidão.



Epígrafe

Uma noite eu tive um sonho...

Sonhei que estava andando na praia com o Senhor e através do céu, passavam cenas da minha vida.

Para cada cena que passava, percebi que eram deixados dois pares de pegadas na areia: um era meu e o outro era do Senhor.

Quando a última cena passou diante de nós, olhei para trás, para as pegadas na areia e notei que muitas vezes, no caminho da minha vida, havia apenas um par de pegadas na areia.

Notei também que isso aconteceu nos momentos mais difíceis e angustiosos do meu viver. Isso me aborreceu deveras e perguntei então ao Senhor:

- Senhor, Tu me disseste que, uma vez que resolvi te seguir, Tu andarias sempre comigo, em todo o caminho. Contudo, notei que durante as maiores atribulações do meu viver, havia apenas um par de pegadas na areia. Não compreendo porque nas horas em que eu mais necessitava de Ti, Tu me deixaste sozinho.

O Senhor me respondeu:

- Meu querido filho. Jamais eu te deixaria nas horas de provas e de sofrimento. Quando viste, na areia, apenas um par de pegadas, eram as minhas. Foi exatamente aí que eu te carreguei nos braços.

Margareth Fishback Powers

Thank's Lord!



LISTAS E SUMÁRIO



Lista de Figuras

Figura 1 – Curva de polarização cíclica representativa da liga Ti-6Al-4V em simulador de fluido corporal – SBF (Controle) com diferentes concentrações de dextrose (DEX), lipopolissacarídeo (LPS) e associações de dextrose e lipopolissacarídeo (DEXLPS).

61

Figura 2 – Dados de corrosão da curva de polarização cíclica potenciodinâmica: potencial de corrosão (E_{corr}), densidade de corrente de corrosão (I_{corr}) e densidade de corrente de passivação (I_{pass}) para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com ácido, em SBF com diferentes concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS), isoladamente ou em associação (DEXLPS).

62

Figura 3 – Espectroscopia de impedância eletroquímica representativa (EIS) da liga Ti-6Al-4V em simulador de fluido corporal – SBF (Controle) com diferentes concentrações de dextrose (DEX), lipopolissacarídeo (LPS) e associações de dextrose e lipopolissacarídeo (DEXLPS).

63

Figura 4 – Dados de corrosão da EIS: resistência de polarização (R_p) e capacitância (C_{dl}) para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com ácido, em SBF com diferentes concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS), isoladamente ou em associação (DEXLPS).

64

Figura 5 – Dados da topografia de superfície: média e desvio padrão da rugosidade de superfície (Ra) (em nm) e microdureza de Vicker's para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com ácido, em SBF com diferentes concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS), isoladamente ou em associação (DEXLPS).

65

Figura 6 – Imagens do microscópio eletrônico de varredura (300x e 10000x) da liga Ti-6Al-4V com superfície polida, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

66

Figura 7 – Imagens do microscópio eletrônico de varredura (300x e 10000x) da liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

67

Figura 8 – Imagens 3D da microscopia de força atômica da liga Ti-6Al-4V com superfície polida, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

68

Figura 9 – Imagens 3D da microscopia de força atômica da liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

69

Figura 10 – Espectroscopia de energia dispersiva (EDS) representativa (a) liga Ti-6Al-4V com superfície polida antes do ensaio de corrosão. (b) liga Ti-6Al-4V com superfície polida após o ensaio de corrosão. (c) liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido antes do ensaio de corrosão. (d) liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido após o ensaio de corrosão.

70

Lista de Tabelas

Tabela 1. Grupos para o ensaio corrosivo em SBF em função da concentração de dextrose (DEX), lipopolissacarídeo (LPS) e associação de dextrose e LPS (DEXLPS).

58

Tabela 2 - Correlações entre os parâmetros de corrosão, rugosidade e microdureza com as concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS) (usados isoladamente ou em conjunto) para liga Ti-6Al-4V com superfície polida e tratada com duplo ataque ácido.

59

Tabela 3 - Comparações (T-teste independente) entre a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e com duplo ataque ácido para os parâmetros de corrosão, rugosidade e microdureza.

60


Lista de Abreviaturas

Ti	= Titânio
Al	= Alumínio
V	= Vanádio
Nb	= Nióbio
Ni	= Níquel
Co	= Cobalto
Cu	= Cobre
Cr	= Cromo
Fe	= Ferro
C	= Carbono
Pd	= Paládio
Pt	= Platina
Ta	= Tântalo
Ticp	= Titânio Comercialmente Puro
TiAlV	= Titânio-Alumínio-Vanádio
TiO₂	= Dióxido de Titânio
O₂	= Oxigênio
H₂	= Hidrogênio
N₂	= Nitrogênio
Mo	= Molibdênio

EED /EDS	= Espectroscopia de energia dispersiva/ <i>Energy dispersive spectroscopy</i>
MEV	= Microscopia eletrônica de varredura
MFA/AFM	= Microscopia de força atômica/ <i>Atomic force microscopy</i>
Å	= Angström
mm	= Millímetro
mM	= milimol
nm	= Nanômetro
µg	= Micrograma
µm	= Micrômetro
Co	= grupo Controle
SFC/SBF	= simulador de fluido corporal/ <i>Simulator body fluid</i>
DEX	= Dextrose
LPS	= lipopolissacarídeo
Ra	= média aritmética da rugosidade de superfície
E_{corr}	= Potencial de corrosão
I_{corr}	= Densidade de corrente de corrosão
I_{pass}	= Densidade de corrente de passivação
R_p	= Resistência de polarização
C_{dl}	= Capacitância

Sumário

1. Efeitos de diferentes concentrações de dextrose e lipopolissacarídeo no comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V com superfície usinada e tratada com duplo ataque ácido	26
1.1 Resumo	27
1.2 Abstract	29
1.3 Introdução	31
1.4 Materiais e métodos	34
1.5 Resultados	41
1.6 Discussão	44
1.7 Referências	50
1.8 Anexo	72



Efeitos de diferentes concentrações de dextrose e lipopolissacarídeo no comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V com superfície usinada e tratada com duplo ataque ácido

**Este trabalho foi formatado de acordo com as normas do periódico Clinical Oral Implants Research*

1.1 Resumo

Objetivos: Avaliar o comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V em função de sua superfície polida ou condicionada por meio de duplo ataque ácido, em simulador de fluidos corporais (SFC) com diferentes concentrações de dextrose (0; 5mM; 7,5 mM e 15 mM) e lipopolissacarídeo (LPS) (0; 0,15 µg/mL; 15 µg/mL; 150 µg/mL), usados isolados ou associados.

Materiais e Métodos: Discos de liga Ti-6Al-4V (2 mm de espessura e 15 mm de diâmetro) foram confeccionados com diferentes padrões de superfície. Para o ensaio eletroquímico (n=3), testes padrões como potencial de circuito aberto, espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) e teste potenciodinâmico foram conduzidos em solução de fluido corpóreo (SBF) com diferentes concentrações de dextrose e LPS. As superfícies dos discos foram caracterizadas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de força atômica (MFA), e por meio da rugosidade de superfície e da microdureza. Os dados quantitativos foram analisados pelo teste de correlação de Pearson e T-teste independente, com nível de significância de 5%.

Resultados: Nos parâmetros de corrosão, houve forte correlação do LPS com os valores de I_{pass} (densidade de corrente de passivação), C_{dl} (capacitância) e R_p (resistência de polarização) ($p < 0,05$) para o titânio (Ti) com tratamento de superfície por duplo ataque ácido. A associação de dextrose e LPS foi correlacionada com I_{corr} (densidade de corrente de corrosão) e I_{pass} ($p < 0,05$). Em relação à cinética de corrosão, os grupos tratados com ácido apresentaram aumento significativo nos valores de C_{dl} e redução nos valores de R_p ($P < 0,05$, T-teste). Quanto à topografia, houve aumento da

rugosidade de superfície para ambas as superfícies ($R^2=0,726$, $p=0,0001$ para Ti polido; $R^2=0,405$, $p=0,036$ para Ti ácido). A microdureza do Ti polido diminuiu ($p<0,05$) e do Ti ácido aumentou ($p=0,0001$). A MFA mostrou alteração na microestrutura do Ti por meio do aumento da espessura superficial principalmente no grupo com associação dextrose e LPS.

Conclusões: A associação de dextrose e LPS afetou o comportamento corrosivo da liga Ti-6Al-4V com superfície tratada com duplo ataque ácido. Estes resultados indicam maior susceptibilidade à corrosão dos implantes de Ti em pacientes diabéticos com infecções associadas.

Palavras-chave: Titânio, Corrosão, Microscopia.

Effects of different concentrations of dextrose and lipopolysaccharide on the corrosion behavior of cpTi with machined and double acid-etched surfaces

1.2 Abstract

Objectives: To analyse the corrosion behavior of Ti-6Al-4V with different surfaces (machined and modified by treatment with double acid-etching), on simulator body fluids (SBF) with different concentrations of dextrose (0; 5 mM, 7.5 mM and 15 mM) and lipopolysaccharide (LPS) (0; 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$), used isolated or in combination.

Materials and Methods: Ti-6Al-4V disks (2 mm in thickness and 15 mm in diameter) were fabricated with different surfaces. For electrochemical assay ($n = 3$), open circuit potential, electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and potentiodynamic tests were conducted in SBF with different concentrations of dextrose and LPS. The surfaces of the disks were characterized by scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM) and by surface roughness and microhardness. Data were analyzed by Pearson correlation and independent t-test at a significant level of 5%.

Results: For the corrosion parameters, a strong correlation of LPS with I_{pass} (passivation current density), C_{dl} (capacitance) and R_{p} (polarization resistance) values ($P < .05$) for Ti surface treated by double acid-etching was noted. The combination of dextrose and LPS was correlated with I_{pass} and I_{corr} (corrosion current density) ($P < .05$). Regarding the corrosion kinetics the acid-treated groups showed significant increase in C_{dl} values and reduced values of R_{p} ($P < .05$, T-test). In terms of topography, there was an increase in

surface roughness for both surfaces ($R^2 = 0.726$, $p = 0.0001$ for machined Ti, $R^2 = 0.405$, $p = 0.036$ for Ti acid). The machined Ti exhibited reduction in microhardness ($P < .05$), while Ti acid showed increased microhardness ($p = 0.0001$) vs baseline. The AFM showed changes in the microstructure of Ti by increasing the thickness of surface mainly in the association of dextrose and LPS.

Conclusions: The combination of dextrose and LPS affected the corrosion behavior of Ti-6Al-4V surface treated with double acid-etching. These results indicate greater susceptibility of Ti implants to corrosion in diabetic patients with associated infections.

Key-words: Titanium, Corrosion, Microscopy.

1.3 Introdução

Os implantes dentários são constituídos principalmente por titânio (Ti) e apresentam forte ligação com moléculas de água ou ar da atmosfera, o que promove a formação imediata de uma camada de óxido de titânio na superfície desse metal. Esta propriedade possibilita aos implantes adequada energia de superfície para a osseointegração, biocompatibilidade, resistência mecânica (Cortada et al. 2000; Schiff et al. 2002; Mabboux et al. 2004; Vieira et al. 2006) e resistência à corrosão (Cortada et al. 2000; Schiff et al. 2002).

Entretanto, alterações no ambiente eletrolítico, tais como mudanças de pH, presença de biofilme, oscilações térmicas, químicas e mecânicas, podem degradar a camada de óxido permitindo a troca de íons de Ti com o organismo. Desta forma, instala-se o processo de corrosão na superfície dos implantes (Nikolopoulou 2006; Chaturvedi 2009; Correa et al. 2009). Isso afeta substancialmente as propriedades mecânicas e a biocompatibilidade dos implantes, culminando em falhas do tratamento reabilitador (Messer et al. 2009, Messer et al. 2010, Barao et al. 2011, Gittens et al. 2011, Barao et al. 2012).

A resistência à corrosão do Ti para confecção de implantes médico-odontológicos foi avaliada em simulações *in vitro* de condições fisiológicas e sistêmicas (Strietzel et al. 1998; Horwitz et al. 2005; Zhoua et al. 2007; Oliveira & Guastaldi, 2009; Marecia et al. 2009, Messer et al. 2009, Messer et al. 2010, Barao et al. 2011, Barao et al. 2012). Até o momento, na literatura, poucos relatos clínicos evidenciaram a corrosão dos implantes dentários de Ti. Olmedo et al (2010) relataram 2 casos de lesão reacional da mucosa periimplantar, o que sugeriu tratar-se de partículas de Ti liberadas

para os tecidos adjacentes, culminando na corrosão da superfície dos implantes osseointegrados. Neste contexto, 153 pacientes reabilitados com implantes unitários, no período da osseointegração (4 a 6 meses), foram submetidos à biópsia da mucosa adjacente ao “cover screw” dos implantes. Um total de 41% destes pacientes exibiu partículas de Ti liberadas da superfície dos implantes, por vezes livres ou envolvidas por macrófagos, denotando reação de corpo estranho com provável corrosão do metal (Olmedo et al. 2012).

Com o intuito de aumentar a resistência mecânica e à corrosão dos implantes de Ti, além de proporcionar aumento da porcentagem de contato osso-implante, principalmente em áreas de tecido ósseo de baixa densidade e favorecer as respostas biológicas acelerando à osseointegração, a engenharia biomédica tem promovido modificações topográficas e físico-químicas da superfície dos implantes dentários (Trisi et al. 2003; Xavier et al. 2003; Buser et al. 2004; Tavares et al. 2007; Pai et al. 2008; Lin et al. 2009; Wennerberg & Albrektson, 2009; Gotfredsen et al. 2011).

Em se tratando de falhas com os implantes osseointegráveis, a diabetes mellitus continua sendo um impasse para os pacientes que se submeterão ao tratamento reabilitador com os implantes de Ti (Oates et al. 2011). A hiperglicemia induz à superprodução de superóxido que contribui para a patogênese das complicações diabéticas micro e macrovasculares (Manfredi et al. 2004; Scamagas et al. 2008; Deshpand et al. 2010), predispondo no mínimo a um atraso do reparo ósseo periimplantar ou até causar a periimplantite (Darnell & Saunder, 1990; Lamey et al. 1992; Manfredi et al. 2004; Scamagas et al. 2008; Deshpand et al. 2010).

Com relação às infecções oriundas da predisposição pelos pacientes diabéticos, bactérias periodontopatogênicas, como a *Porphyromonas. gingivalis*, ocorrem mais comumente nos tecidos periimplantares com inflamação (Nelson et al. 1997) e podem contribuir para periimplantites em pacientes parcialmente e completamente desdentados (George et al. 1994), além de diminuir a resistência corrosiva do Ti (Messer et al. 2009, Messer et al. 2010). As *P. gingivalis* e outras bactérias gram-negativas produzem endotoxina, que é um lipopolissacarídeo (LPS) presente nas paredes celulares bacterianas (Nelson et al. 1997; Knoernschild et al. 2001). Assim como no sulco natural, o LPS produzido pela *P. gingivalis* e outras bactérias Gram-negativas na região periimplantar é um fator que influencia a inflamação periimplantar e o prognóstico do tratamento com implante (Knoernschild et al. 1994; Knoernschild et al. 1996; Robinson et al. 1996; Nelson et al. 1997).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o comportamento corrosivo e microestrutural da liga Ti-6Al-4V em função da superfície do Ti: usinada e modificada por tratamento com duplo ataque ácido em SBF com diferentes concentrações de dextrose (0; 5mM; 7,5 mM e 15 mM) e LPS (0; 0,15 µg/mL; 15 µg/mL; 150 µg/mL).

A hipótese testada foi que a liga Ti-6Al-4V com tratamento de superfície por meio de duplo ataque ácido iria gerar um padrão de corrosão diferente daquele observado na superfície usinada, tanto na associação das elevadas concentrações de dextrose e LPS, bem como avaliados isoladamente. Ainda, foi hipotetizado que a presença de dextrose e LPS diminuiriam a resistência corrosiva da liga Ti-6Al-4V.

1.4 Materiais e métodos

Para o teste de corrosão, um total de 96 discos de liga Ti-6Al-4V nas dimensões de 15 mm de diâmetro e 2 mm de espessura foi confeccionado. As superfícies testadas foram como discriminado a seguir:

1- Disco de liga Ti-6Al-4V modificado por tratamento com duplo ataque ácido (n=48);

2 – Disco de liga Ti-6Al-4V com superfície polida, mimetizando implantes com superfície usinada (n=48).

Preparação dos Discos

Os espécimes foram divididos em 32 grupos (n=3) em função do tipo de superfície (condicionados com ácido e com superfície usinada), concentração de dextrose (0; 5mM; 7,5 mM e 15 mM) (Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) e concentração de LPS (0; 0,15 µg/mL; 15 µg/mL; 150 µg/mL) (055:B5, Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) (Tabela 1). Os discos foram polidos e limpos através de métodos padronizados de metalografia (Barao et al. 2011). Para tanto, inicialmente os espécimes foram polidos com lixas sequenciais de gramatura 320, 400, 600 e 800 (Carbimet 2, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), em polidora automática (ECOMET 250PRO/AUTOMET 250, Buehler). Ainda na polidora, com pano de polimento (TextMet Polishing Cloth, Buehler), utilizou-se a pasta diamantada (MetaDi 9-micron, Buehler) e lubrificante (MetaDi Fluid, Buehler).

O próximo passo foi o polimento com pano (Chemomet I, Buehler) e sílica coloidal (MasterMed, Buehler), até que a superfície do Ti ficasse espelhada. Finalmente, os discos foram lavados com água deionizada e propanol 70%. A fim de

garantir que toda a sílica proveniente do polimento fosse removida, os espécimes foram mantidos por 10 minutos em cuba ultrassônica (Lavadora ultrassônica THORTON, modelo USC 2850, Tecnal Equipamentos para Laboratório Ltda, Piracicaba, SP, Brasil) e finalmente, secos por meio de jatos de ar quente a 250°C. A rugosidade de superfície de todos os espécimes foi determinada a fim de proporcionar uma padronização no acabamento dos discos de Ti.

A dextrose foi eleita na concentração de 15 mM porque equivale a 270 mg/dL de glicose sanguínea, comumente encontrada nos pacientes com diabetes não controlados ou em pacientes com diabetes tipo II não diagnosticados (Klokkevold & Han, 2007; Tawil, 2008; Tamam & Ankara, 2012). Da mesma forma, para a simulação da diabetes nos estágios iniciais foi utilizada a concentração de 7,5 mM de dextrose, a qual corresponde a 135 mg/dL de glicose sanguínea.

Para a simulação de pacientes saudáveis, com nível de glicose sanguínea dentro dos padrões de normalidade, foi utilizada a concentração de 5 mM de dextrose, correspondente a 90 mg/dL de glicose no sangue. Por fim, como grupo controle, foi utilizada a concentração zero de dextrose para a comparação entre os grupos.

As concentrações de LPS (0; 0,15 µg/mL; 15 µg/mL; 150 µg/mL) foram utilizadas conforme os trabalhos de Barao et al. (2011) e Mathew et al. (2012), para a simulação de processo infeccioso.

Discos com superfície polida (“usinada”)

Após o protocolo de polimento dos discos de liga Ti-6Al-4V, foram escolhidos aleatoriamente 48 discos para o teste correspondente à superfície usinada.

Modificações da superfície por ácido

Quarenta e oito discos foram submetidos à modificação da superfície de acordo com a disponibilidade do mercado. Para a obtenção da superfície tratada, os discos polidos foram tratados quimicamente com duplo ataque de ácido nítrico, conforme normas patenteadas da empresa.

Ensaio eletroquímico

O protocolo do teste de corrosão seguiu aquele descrito previamente na literatura (Barao et al. 2011; Barao et al. 2012). Os testes foram realizados em uma célula eletroquímica feita de polissulfona. Todas as mensurações foram realizadas em um método padronizado de três células de eletrodo de acordo com as instruções da Sociedade Americana para Testes de Materiais (*American Society for Testing of Materials* (ASTM) (G61-86 e G31-72). Um eletrodo saturado de cloreto de mercúrio (SCE) foi utilizado como eletrodo de referência, um bastão de grafite como contra-eletrodo (auxiliar) e a superfície exposta do disco de liga Ti-6Al-4V como eletrodo de trabalho (área exposta do Ti polido = $1,77 \text{ cm}^2$; e do Ti com duplo ataque ácido = $2,62 \text{ cm}^2$). Um potenciostato (Interface 1000, Gamry Instruments, Warminster, PA, EUA) ligado ao computador foi utilizado para realizar as mensurações de corrosão. Um total de 10 ml de eletrólito (Solução de fluido corpóreo (SBF), associado ou não à dextrose e/ou LPS) foi utilizado para cada experimento de corrosão. O eletrólito para simulação do plasma sanguíneo (SBF) possui características fisiológicas de temperatura (37°C) e pH (7,4) (Abe et al. 1990), a fim de mimetizar algumas condições clínicas.

Inicialmente, os discos de Ti foram submetidos a um potencial catódico (-0,9 V vs SCE) a fim de garantir uma padronização da camada de óxido da superfície dos mesmos. O potencial de circuito aberto foi monitorado por um período de 3600 segundos para avaliar o potencial do material perante a solução e estabilizar o sistema. A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foi usada para investigar a formação eletroquímica da camada de óxido na superfície do Ti e as propriedades desse filme (cinética de corrosão). Por meio da EIS, o processo eletroquímico pode ser representado por um circuito elétrico equivalente e as propriedades do filme de óxido (capacitância e resistência) foram quantificadas para determinar o processo de corrosão. As mensurações da EIS foram efetuadas na frequência de 100 KHz a 5 mHz, com a curva AC numa amplitude de 10 mV aplicada ao eletrodo no seu potencial de corrosão (Barao et al. 2011; Barao et al. 2012; Mathew et al. 2012). Esses valores foram usados para determinar os componentes real (Z') e imaginário (Z'') da impedância no qual foram plotados no plote de Bode ou impedância total ($|Z|$) e ângulo de fase. Finalmente, os espécimes foram polarizados anodicamente de -1,8 V a 1,8 V a uma taxa de varredura de 2 mV/s.

Os parâmetros de corrosão foram obtidos por meio das curvas de polarização potenciodinâmica. O método de Tafel foi usado para investigar a taxa de corrosão (densidade de corrente de corrosão - I_{corr}) e o potencial de corrosão (E_{corr}) do Ti-6Al-4V. A corrente de densidade de passivação (I_{pass}) correspondeu ao valor da corrente na transição entre a região ativa e passiva expressas na curva de polarização da liga Ti-6Al-4V. Os resultados da EIS foram usados para modelar o processo de corrosão (cinética de corrosão) e entender as propriedades do filme de óxido formado

na superfície dos discos de Ti, usando o circuito elétrico mais apropriado. Para simulação dos dados da EIS (capacitância da camada de óxido (dupla camada) - C_{dl} e resistência de polarização - R_p), o software Gamry Echem Analyst (Gamry Instruments) foi utilizado. Um valor de Qui-quadrado menor que 0,01 foi considerado, indicando uma excelente concordância entre os dados experimentais e os valores ajustados (Zhang et al. 2013).

Caracterização de superfície

A avaliação das superfícies corroídas desempenha um papel essencial na compreensão dos mecanismos de degradação do material.

Microscopia de Força Atômica

Os discos de liga Ti-6Al-4V de superfície polida e com tratamento de superfície foram analisados em MFA (AFM; Veeco Metrology Inc., Santa Barbara, CA, EUA). As imagens foram transportadas do microscópio para um computador e no programa Nanoscope Analysis (2004 Veeco Instruments Inc., Santa Barbara, CA, EUA), as imagens foram inicialmente submetidas aos filtros (“lowpass” e medium”). Em seguida, as imagens em três dimensões (3D) foram obtidas, e com o intuito de possibilitar uma análise comparativa visual entre os grupos, foi padronizada a escala do eixo z.

Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva

Os discos de liga Ti-6Al-4V de superfície polida e com tratamento de superfície foram analisados em MEV (Jeol, modelo JSM-7401F, Oregon, EUA), para análise e caracterização das possíveis irregularidades presentes nas superfícies. Foram

realizadas comparações das imagens obtidas entre as superfícies de Ti, por meio da análise pré e pós-corrosão das substâncias testadas.

Além disso, foram realizadas análises químicas elementares em volumes pequenos, da ordem de $1 \mu\text{m}^3$ (micrômetro cúbico), por meio da técnica de EDS, que utiliza o espectrômetro. Esse possibilita a observação do espectro inteiro de raios X de modo simultâneo, o que permite a análise qualitativa rápida (mapeamento) dos elementos constituintes principais das superfícies dos discos de Ti, para comparação da composição química das diferentes superfícies analisadas, prévia e posteriormente ao teste de corrosão.

Análise da rugosidade de superfície

A fim de entender as alterações na superfície do Ti promovidas pelo processo de corrosão, um parâmetro de rugosidade de superfície (Ra - média aritmética da rugosidade de superfície) foi investigado antes (*baseline*) e após o processo de corrosão por meio de um perfilômetro (Dektak d-150; Veeco, Plainview, Nova York, EUA). Cada espécime foi individualmente posicionado no centro do equipamento e a ponta medidora do perfilômetro na superfície do espécime. Três mensurações em áreas distintas foram realizadas em cada disco (*cut-off* de 0,25 mm à velocidade de 0,05 mm/s), e o valor médio calculado.

Análise da microdureza

A microdureza dos discos de Ti foi verificada em dois momentos do experimento, *baseline* nos espécimes que não se submeteram ao processo de

corrosão, para a comparação com a segunda leitura da microdureza nos grupos após o ensaio de corrosão, por meio de um microdurômetro (Shimadzu HMV-2000 Micro Hardness Tester; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). Esse teste foi realizado em temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). A carga aplicada foi de 500 gF por 15 segundos e, a microdureza foi expressa em unidade de dureza de Vicker (VHN) (Al Jabbari et al. 2008; Assunção et al. 2011). Os valores de microdureza de Vicker's foram calculados usando a seguinte fórmula: $VHN = 2P \sin(136^\circ / 2) / d^2$, em que P = carga aplicada e d = comprimento das endentações de diagonais. O teste foi repetido 4 vezes em 4 pontos randomizados distribuídos na superfície de cada disco. A média dessas 4 repetições correspondeu ao valor da microdureza de Vicker.

Análise estatística

Correlações de Person foram utilizadas para identificar as relações entre os parâmetros de corrosão (E_{corr} , I_{corr} , I_{pass} , C_{dl} e R_p), e as concentrações de LPS ou dextrose (usados isolados ou associados). Correlações entre rugosidade ou microdureza e as concentrações de LPS ou dextrose (usados isolados ou associados) foram também investigadas.

T-teste independente foi usado para comparar as duas condições de superfície do Ti (polida ou tratada com duplo ataque ácido) para todos os parâmetros descritos anteriormente. Todos os testes foram conduzidos com nível de significância de 5% (SPSS version 17.0 – Statistical Package for the Social Sciences, Inc., Chicago, IL, EUA).

1.5 Resultados

Dados eletroquímicos

Os dados obtidos da curva de polarização cíclica potenciodinâmica e pela EIS podem ser observados nas figuras 1, 2, 3 e 4.

Para o Ti com superfície polida, somente a associação dextrose com LPS (DEXLPS) foi significativamente correlacionada com algum parâmetro de corrosão. Correlação negativa com E_{corr} foi notada ($R^2=-0,589$, $p=0,001$) (Tabela 2). Já para o Ti com superfície condicionada com duplo ataque ácido, a presença de dextrose foi correlacionada de forma significativa com R_p ($R^2= 0,960$, $p<0,01$) (Tabela 2). O LPS foi correlacionado com os valores de I_{pass} ($R^2=0,789$, $p=0,011$), C_{dl} ($R^2=0,808$, $p=0,008$) e R_p ($R^2=-0,931$, $p<0,01$) (Tabela 2). A associação de dextrose e LPS foi correlacionada com I_{corr} ($R^2=0,391$, $p=0,044$) e I_{pass} ($R^2=0,435$, $p=0,023$) (Tabela 2).

O tratamento de superfície da liga Ti-6Al-4V por meio de duplo ataque ácido aumentou significativamente os valores de I_{corr} para a maioria dos grupos analisados ($P<0,05$, T-teste) (Tabela 3 e Figura 2). A passivação dos grupos tratados com duplo ataque ácido tendeu a ser retardada para a maioria dos grupos tratados com duplo ataque ácido, fato esse evidenciado pelos valores de I_{pass} . Contrariamente, os valores de E_{corr} foram menores para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida (Tabela 3 e Figura 2).

Foi observada na curva de polarização cíclica do Ti regiões de transição ativa-passiva no grupo controle (SBF) e para todos os grupos testes (Figura1). Ficou evidente nas curvas a formação de histérese negativa, como indicado pelas setas, o que permite afirmar que o Ti na presença de dextrose e/ou LPS não é susceptível à corrosão por “pites” ou frestas.

A cinética de corrosão por meio do plote de Bode está representada na Figura 3. No ângulo de fase, foi observado para todos os grupos somente uma constante, o que denota a formação do filme de óxido de Ti compacto, homogêneo e protetor à superfície do metal. Em alta e baixa frequências os valores de impedância total foram menores na presença de 15 mM de dextrose, tanto para o Ti com superfície polida quanto para aquele com tratamento ácido.

Em relação à cinética de corrosão, fica evidente que o tipo de superfície da liga Ti-6Al-4V exerceu forte influência, como observado nos valores de C_{dl} e R_p . Os grupos tratados com duplo ataque ácido apresentaram aumento significativo nos valores de C_{dl} e redução nos valores de R_p ($P < 0,05$, T-teste), com exceção do grupo controle e dos grupos com dextrose, em que a superfície polida promoveu maiores valores de R_p (Tabela 3 e Figura 4)

Dados topográficos

Os valores médios de rugosidade de superfície (R_a) e microdureza estão representados na figura 5.

Apenas a associação dextrose e LPS mostrou correlação com os dados topográficos para ambos os tipos de superfície do Ti. Correlação positiva com o parâmetro R_a foi notada ($R^2=0,726$, $p=0,0001$ para Ti polido; $R^2=0,405$, $p=0,036$ para Ti ácido). Enquanto que para o Ti polido houve correlação negativa para os dados de microdureza ($R^2=-0,915$, $p=0,0001$), para o Ti com duplo ataque ácido houve correlação positiva ($R^2=0,781$, $p=0,0001$).

Comparando as duas condições de superfície da liga Ti-6Al-4V, pode-se notar que o tratamento com duplo ataque ácido resultou em aumento significativo ($P < 0,05$, T-teste) na rugosidade de superfície desse material para todos os grupos analisados (Tabela 3 e Figura 5). No geral, a liga Ti-6Al-4V com superfície polida apresentou menores valores de microdureza quando comparado com a liga Ti-6Al-4V com superfície tratada por meio de duplo ataque ácido (Tabela 3 e Figura 5).

As imagens da MEV do Ti com superfície polida não mostraram alterações na microestrutura do Ti, com exceção do grupo dextrose (na concentração de 15 mM) associada ao LPS (concentrações de 15 e 150 $\mu\text{g/mL}$), o qual apresentou incrustações, provavelmente dos substratos utilizados (dextrose e/ou LPS) (Figura 6). Para o Ti com a superfície condicionada com duplo ataque ácido, na comparação entre o período *baseline* e após o ensaio de corrosão, não foi evidenciada qualquer alteração entre os grupos testados (Figura 7). O Ti polido possuiu uma superfície lisa, bastante plana (magnificações de 300X e 10.000X). As manchas brancas identificadas principalmente no aumento de 10.000X são devido a presença do alumínio da liga Ti-6Al-4V, confirmado pela EDS (Figura 10). O Ti com superfície tratada com ácido apresentou estriações em toda a superfície, com a microestrutura rugosa bem evidente.

A análise tridimensional da superfície do Ti por meio da microscopia de força atômica evidenciou, tanto para os discos com superfície polida quanto para o condicionado por ácido, a alteração superficial do material após o teste de corrosão, com maior espessura aparente nos grupos de associação da dextrose com LPS (DEXLPS) (Figuras 8 e 9).

A composição química elementar do Ti por meio da EDS, nos dois momentos do experimento, *baseline* e após o ensaio de corrosão, não mostrou modificação nos constituintes do Ti. (Figura 10).

1.6 Discussão

A hipótese apresentada de que a liga Ti-6Al-4V com tratamento de superfície por meio de duplo ataque ácido iria gerar um padrão de corrosão diferente daquele observado na superfície usinada, tanto na associação das elevadas concentrações de dextrose e LPS, bem como avaliados isoladamente e, que a presença de dextrose e LPS iriam diminuir a resistência corrosiva da liga Ti-6Al-4V foi parcialmente aceita. Os parâmetros analisados evidenciaram maior tendência à corrosão na presença da associação de dextrose e LPS para o Ti polido. O Ti com modificação na superfície por ataque ácido apresentou maior tendência à corrosão.

Corrosão

Diante dos resultados obtidos pelos parâmetros de corrosão, ficou claro que somente quando a liga de Ti-6Al-4V com superfície polida foi exposta à dextrose e LPS (DEXLPS) houve aumento da taxa de corrosão, em razão da diminuição significativa do E_{corr} ($p < 0,01$). Deste modo, quanto maior a concentração de DEXLPS, maior o potencial de corrosão do Ti polido e, por conseguinte, maior susceptibilidade à corrosão. A presença isolada da dextrose e do LPS não aumentou a taxa de corrosão do Ti em nenhuma das concentrações testadas ($p > 0,05$).

Messer et al. (2009) também avaliaram o comportamento corrosivo de implantes de Ti em condições inflamatórias e hiperglicêmicas. O potencial de corrosão foi alto em elevadas concentrações de dextrose (15 mM), na mesma concentração que utilizamos, em função de culturas de monócitos e de células sanguíneas. Porém não encontraram alteração da taxa de corrosão quando o meio utilizado foi o tampão fosfato-salino (PBS). Acreditamos que esta inconsistência ocorreu pela diferença nos eletrólitos utilizados. Enquanto Messer et al. utilizaram cultura de células sanguíneas de composição desconhecida e PBS, uma solução isotônica, em nosso estudo foi utilizado o simulador de fluido corporal (SBF), o qual possui composição similar ao plasma sanguíneo e permite mimetizar situações clínicas mais próximas da realidade. Outro fator a ser discutido em relação a não observação de susceptibilidade à corrosão quando exposto as elevadas concentrações de dextrose, pode estar relacionado ao curto período de contato da superfície do Ti com as condições hiperglicêmicas.

A presença de dextrose foi correlacionada positivamente para R_p no Ti com superfície condicionada com duplo ataque ácido ($p < 0,01$). Isso denota que a resistência do material aumentou com o aumento das concentrações de dextrose e desta forma, protegendo a superfície do material. Acredita-se que as proteínas e sacarídeos na superfície dos implantes dentários podem aumentar a corrosão do Ti pela afinidade de ligação de algumas proteínas e provocar a liberação de íons metálicos da superfície do material para a região periimplantar (Messer et al. 2009, Messer et al. 2010). Entretanto, a interação dos metais e as proteínas, células sanguíneas e seus produtos para as alterações no ambiente eletrolítico no tocante à corrosão, depende de diversos fatores, tais como rugosidade, carga de superfície,

composição do material e afinidade do agente às moléculas do metal (Bundy, 1994), podendo até proteger a superfície do Ti pela absorção de proteínas pelo meio eletrolítico (Messer et al. 2010).

Ainda para o Ti com superfície tratada com ácido em contato com o LPS, notou-se que com o aumento da concentração de LPS houve aumento nos valores de capacitância e diminuição nos valores de resistência (ação negativa do LPS na cinética de corrosão do Ti ácido). Além disso, a passivação demorou mais para ocorrer com o aumento da concentração de LPS, uma vez que houve correlação positiva para I_{pass} . A dextrose isoladamente não provocou efeito algum nas propriedades corrosivas da liga Ti-6Al-4V. Em contrapartida, quando adicionada ao LPS (DEXLPS), observou-se aumento da taxa de corrente de corrosão e menor potencial de passivação do Ti, reafirmando o efeito deletério do LPS na superfície do Ti com tratamento ácido.

Neste contexto, a ação do LPS no comportamento corrosivo (Barao et al. 2011) e tribocorrosivo do Ti (Mathew et al. 2012) foi avaliada *in vitro*. Estes autores afirmaram que a porção polissacarídea do LPS pode induzir a liberação de ions de Ti, comprovada pela cinética de corrosão, por meio dos valores de C_{dl} e R_p . Provavelmente isso ocorre devido a maior área de superfície para as reações eletroquímicas no Ti tratado com duplo ataque ácido. Os nossos resultados contrariam os obtidos por Messer et al. (2010), em que avaliaram o Ti com modificação na superfície com óxido de Ti acrescido de fosfato e, observaram menores taxas de corrosão em função de condições hiperglicêmicas e inflamatórias (concentração de LPS = 1µg/mL). Acreditamos que as concentrações de LPS utilizadas no trabalho de Messer et al. (2010), na simulação de efeitos inflamatórios, não são capazes de afetar as

propriedades corrosivas do Ti. No nosso estudo, as concentrações de LPS (15 e 150 $\mu\text{g/mL}$) mimetizam infecções, sem dúvidas podem ocasionar efeito mais maléfico à superfície do Ti. Sendo assim, na superfície polida, apresentando menor área de contato com o LPS, houve menor ligação da porção polissacarídea com a superfície do Ti, permitindo a ação do ambiente eletrolítico, desde a absorção até a proteção do material, como observado pelo aumento dos valores de R_p .

A utilização do LPS em concentrações que simulem infecções na superfície do titânio comercialmente puro (Ticp) de superfície polida, foi verificada por Barao et al. (2011). Foi observado que o aumento da concentração do LPS provocou aumento significativo da taxa de corrosão do Ticp em saliva artificial. Esta incongruência com o nosso trabalho se dá principalmente porque utilizamos o simulador de fluido corporal como eletrólito e, o material testado foi a liga Ti-6Al-4V. Com isso, fica claro que o comportamento corrosivo do Ti é dependente do ambiente eletrolítico e dos componentes do material.

Topografia de Superfície

A literatura é congruente em afirmar que o processo de corrosão pode aumentar a rugosidade superficial do Ti (Correa et al. 2009, Mabileau et al. 2006, Mathew et al. 2012). As alterações na rugosidade do Ti podem implicar na maior adesão de microorganismos (Morgan & Wilson, 2001). Barao et al. (2011) e Mathew et al. (2012) inferiram que a corrosão e/ou desgaste na presença de LPS pode causar maior acúmulo de biofilme na superfície do Ti, aumentando-se a propensão às periimplantites (Bollen et al. 1996), culminando na falha dos implantes de Ti. Essas

assertivas estão de acordo com os resultados obtidos por este trabalho no que diz respeito aos valores de rugosidade média, em que tanto para o Ti polido quanto para o Ti com tratamento de superfície, houve uma correlação fortemente positiva na associação de dextrose e LPS (DEXLPS), corroborando com os parâmetros de corrosão.

O aumento dos valores de Ra com a dextrose e LPS foram visualmente confirmados por meio das imagens 3D da microscopia de força atômica, especialmente no Ti polido, por meio do aumento aparente da espessura superficial. A MEV é uma análise adicional, tendo em vista que somente uma deteriorização substancial pode ser evidenciada na superfície do Ti, como mostrado por Faverani et al. (2013). Mesmo assim, nós observamos na magnificação de 10.000X pela MEV, alteração na microestrutura da liga Ti-6Al-4V na associação DEXLPS, provavelmente pela impregnação dos substratos utilizados.

Os dados de microdureza mostraram forte correlação negativa para o Ti polido e correlação positiva para o Ti com tratamento de superfície, na presença de dextrose associada ao LPS. Neste contexto, Yang et al. (2011) avaliaram a dureza e o módulo de elasticidade de Young's do TiCP com tratamento de superfície, por meio da implantação de íon imerso no plasma de oxigênio (O-PIII). Foi observado aumento significativo de ambas as variáveis após o ensaio de corrosão para o grupo tratado quando comparado ao Ti polido. Isso nos leva a crer que a maior área superficial dos discos de Ti tratados com ácido ($2,62 \text{ cm}^2$) comparada com o Ti polido ($1,77 \text{ cm}^2$), promova maior resistência mecânica ao material.

Por mais que os dados de corrosão deste estudo mostraram maior taxa de corrosão, principalmente na presença do LPS no grupo com superfície tratada, a maior

área de superfície de contato possibilita maior adesão de substâncias presentes no ambiente eletrolítico, e esta maior afinidade pode explicar o aumento substancial da microdureza após o contato com as substâncias testadas. Entretanto, clinicamente a maior adesão de açúcares e endotoxinas, certamente elevam as taxas de insucesso dos implantes osseointegráveis (Bollen et al. 1996, Morgan & Wilson, 2001, Chaturvedi, 2009).

Limitações e proposta de futuros estudos

Neste estudo foi investigado o efeito estático da dextrose, LPS e a associação entre dextrose e LPS em simulador de fluido corporal. Todavia, sabemos que o ambiente eletrolítico periimplantar é constantemente submetido à ação de oscilações mecânicas, principalmente pela carga mastigatória (Tada et al. 2003, Winter et al. 2013). Desta forma, corroborados por Mathew et al. 2012, novos estudos que avaliem estas condições devem ser analisadas por meio da corrosão atrelada ao desgaste (tribocorrosão).

Além disso, mesmo que ocorra uma bacteremia transitória periimplantar ou nas hiperglicemias dos pacientes diabéticos, o tempo destas alterações sistêmicas ocorrem num período maior em relação ao realizado pelos testes de corrosão deste trabalho. Sendo assim, novos estudos que avaliem o efeito destas condições testes em longo prazo (por exemplo, após 24 e 48 horas de imersão) devem ser realizados.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à FAPESP (2012/14282-5), pela concessão de bolsa Doutorado ao primeiro autor (Faverani LP) e pelo auxílio pesquisa regular concedido (2011/20021-7). Também expressamos nosso agradecimento ao Laboratório de Plasmas Tecnológicos na pessoa do Prof. Dr. Nilson Cruz, da Faculdade de Engenharia de Sorocaba – UNESP, pela facilitação da perfilometria.

1.7 Referências

Abe Y, Kokubo T & Yamamuro T. Apatite Coating on Ceramics, Metals and Polymers Utilizing a Biological Process (1990). *Journal of Materials Science Materials Medicine* 1(4): 233-38.

Al Jabbari YS, Fournelle R & Ziebert G. Mechanical behavior and failure analysis of prosthetic retaining screws after long-term use in vivo. Part 2: metallurgical and microhardness analysis (2008). *Journal of Prosthodontics* 17:181-191.

Assunção WG, Jorge JRP, dos Santos PH, Barao VAR, Gomes EAG & Delben JA (2011). The Effect of Mechanical Cycling and Different Misfit Levels on Vicker's Microhardness of Retention Screws for Single Implant-Supported Protheses. *Journal of Prosthodontics* 20: 523–527.

Barao VA, Mathew MT, Assuncao WG, Yuan JC, Wimmer MA & Sukotjo C (2011). The role of lipopolysaccharide on the electrochemical behavior of titanium. *Journal of Dentistry Research* 90:613-618.

- Barao VA, Mathew MT, Assuncao WG, Yuan JC, Wimmer MA & Sukotjo C (2012). Stability of cp-Ti and Ti-6Al-4V alloy for dental implants as a function of saliva pH – an electrochemical study. *Clinical Oral Implants Research* 23(9):1055-62.
- Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Shepers E, Quirynen M & van Steenberghe D (1996). The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clinical Oral Implants Research*. 7: 201-211.
- Bundy KJ. Corrosion and other electrochemical aspects of biomaterials (1994). *Crit Rev Biomedical Engineering*. 22: 139-251.
- Buser D, Broggini N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL, et al (2004). Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *Journal of Dentistry Research* 83:529-533.
- Chaturvedi TP (2009). An overview of the corrosion aspect of dental implants (titanium and its alloys). *Indian Journal of Dentistry Research* 20: 91-98.
- Correa CB, Pires JR, Fernandes-Filho RB, Sartori R & Vaz LG (2009). Fatigue and fluoride corrosion on *Streptococcus mutans* adherence to titanium-based implant/component surfaces. *Journal of Prosthodontics* 18:382-387.
- Cortada M, Giner LL, Costa S, Gil FJ, Rodriguez D & Planell JA (2000). Galvanic corrosion behavior of titanium implants coupled to dental alloys. *Journal Materials Science Materials Medicine* 11:287-293.
- Darnell J & Saunders M (1990). Oral manifestations of the diabetic patient. *Tex Dentistry Journal* 107: 34–38.
- Deshpand K, Jain A, Sharma R, Prashar S & Jain R (2010). Diabetes and Periodontitis. *Journal of Indian Society of Periodonthis*. 14: 207-212.
-

Faverani LP, Barao VA, Ramalho-Ferreira G, Ferreira MB, Garcia-Júnior IR & Assunção WG (2013). Effect of bleaching agents and soft drink on titanium surface topography. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*. May 10. doi: 10.1002/jbm.b.32949. [Epub ahead of print] PMID: 23661581 [PubMed - as supplied by publisher].

Flatebo RS, Hol PJ, Leknes KN, Kosler J, Lie SA & Gjerdet NR (2011). Mapping of titanium particles in peri-implant oral mucosa by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and high-resolution optical darkfield microscopy. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 40:412-420.

George K, Zafiropoulos GG, Murat Y, Hebertus S & Nisengard RJ (1994). Clinical and microbiological status of osseointegrated implants. *Journal of Periodontology* 65:766-70.

Gittens RA, Olivares-Navarrete R, Tannenbaum R, Boyan BD & Schwartz Z (2011). Electrical implications of corrosion for osseointegration of titanium implants. *Journal of Dentistry Research* 90:1389-1397.

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

Horwitz J, Machtei EE, Zuabi O & Peled M (2005). Amine fluoride-stannous fluoride and chlorhexidine mouthwashes as adjuncts to single-stage dental implants: a comparative study. *Journal of Periodontology* 76: 334-340.

Klokkevold PR & Han TJ (2007). How do smoking, diabetes, and periodontitis affect outcomes of implant treatment? *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 22 Suppl:173-202.

Knoernschild KL, Lefebvre CA, Schuster GS, Payant LM & Gagnon FM (1994). Endotoxin adherence to and elusion from two casting alloys. *International Journal of Prosthodontics* 7:22-9.

Knoernschild KL, Tompkins GR, Lefebvre CA, Griffiths LL & Schuster GS (1996). Effect of pH on *Porphyromonas gingivalis* endotoxin affinity for resins. *International Journal of Prosthodontics* 9:239-46.

Knoernschild KL, Bacon WL, Fischman GS & Campbell SD (2001). Effect of pH on endotoxin affinity for metal-ceramic alloys. *Journal of Prosthetic Dentistry* 86:644-9.

Lalor PA, Revell PA, Gray AB, Wright S, Railton GT & Freeman MA (1991). Sensitivity to titanium. A cause of implant failure? *Journal Bone Joint Surgery* 73:25-28.

Lamey P-J, Darwazeh AMG & Frier BM (1992). Oral disorders associated with diabetes mellitus. *Diabetics Medicine* 9: 410–416.

Landolt D, Mischler S & Stemp M (2001). Electrochemical methods in tribocorrosion: a critical appraisal. *Electrochemical Acta* 46:3913-3929.

Lin A, Wang CJ, Kelly J, Gubbi P & Nishimura I (2009). The role of titanium implant surface modification with hydroxyapatite nanoparticles in progressive early bone-implant fixation in vivo. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 24:808-816.

Mabilleau G, Bourdon S, Joly-Guillou ML, Filmon R, Basle MF & Chappard D (2006). Influence of fluoride, hydrogen peroxide and lactic acid on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Acta Biomaterialia* 2: 121-129.

Mabboux F., Ponsonnet L. Morrier J.-J., Jaffrezic N. & Barsotti O (2004). Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials – an in vitro study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 39: 199–205.

Manfredi M et al (2004). Update on diabetes mellitus and related oral diseases. *Oral Diseases* 10: 187–200.

Marecia D, Romeu C, Margareta DG, Gina U & Gloriant T (2009). Comparative corrosion study of Ti–Ta alloys for dental applications. *Acta Biomaterialia* 5: 3625-3639.

Matthew IR, Frame JW, Browne RM & Millar BG (1996). In vivo surface analysis of titanium and stainless steel miniplates and screws. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 25:463-468.

Mathew MT, Barao VA, Yuan JC, Assunção WG, Sukotjo C & Wimmer MA (2012). What is the role of lipopolysaccharide on the tribocorrosive behavior of titanium? *Journal Mechanical Behavior Biomedical Materials* 2012;8:71-85.

Messer RL, Seta F, Mickalonis J, Brown Y, Lewis JB & Wataha JC (2010). Corrosion of phosphate-enriched titanium oxide surface dental implants (TiUnite) under in vitro inflammatory and hyperglycemic conditions. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied biomaterials* 92:525-534.

Messer RL, Tackas G, Mickalonis J, Brown Y, Lewis JB & Wataha JC (2009). Corrosion of machined titanium dental implants under inflammatory conditions. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied biomaterials* 88:474-481.

Morgan TD & Wilson M (2001). The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in a constant depth film fermentor. *Journal Applied Microbiology* 91: 47-53.

Nelson KE et al. (1997). In: Nelson KE, Fleischmann RD & Deboy RT. Complete genome sequence of the oral pathogenic *Bacterium Porphyromonas gingivalis* strain W83 (2003). *Journal of Bacteriology* 185: 5591-5601.

Nikolopoulou F (2006). Saliva and dental implants. *Implant Dentistry* 15:372-376.

Oates TW, Huynh-Ba G, Vargas A, Alexander P & Feine J (2011). A critical review of diabetes, glycemic control, and dental implant therapy. *Clinical Oral Implants Research* 1–11. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02374.x

Olmedo DG, Paparella ML, Brandizzi D & Cabrini RL (2010). Reactive lesions of peri-implant mucosa associated with titanium dental implants: a report of 2 cases. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 39:503-507.

Olmedo DG, Paparella ML, Spielberg M, Brandizzi D, Guglielmotti MB & Cabrini RL (2012). Oral Mucosa Tissue Response to Titanium Cover Screws. *Journal of Periodontology* 2012; 83(8):973-80.

Oliveira NTC & Guastaldi AC (2009). Electrochemical stability and corrosion resistance of Ti-Mo alloys for biomedical applications. *Acta Biomaterialia* 5: 3998-405.

Pai PS, Mathew MT, Stack MM & Rocha LA (2008). Some thoughts on neural network modelling of microabrasion-corrosion processes. *Tribology International* 41:672-681.

Robinson FG, Knoernschild KL, Sterrett JD & Tompkins GR (1996). *Porphyromonas gingivalis* endotoxin affinity for dental ceramics. *Journal of Prosthetic Dentistry* 75:217-27.

Scamagas M, Breen TL & Le Roith D (2008). Update on diabetes mellitus: prevention, treatment and association with oral diseases. *Oral Diseases* 2008; 14: 105-114.

Schiff N, Grosgeat B, Lissac M & Dalard F (2002). Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys. *Biomaterials* 23:1995-2002.

Strietzel R, Hösch A, Kalbfleisch & Buch D (1998). In vitro corrosion of titanium. *Biomaterials* 19: 1495-99.

Tada S, Stegaroiu R, Kitamura E, Miyakawa O & Kusakari H (2003). Influence of implant design and bone quality on stress/strain distribution in bone around implants: a 3-dimensional finite element analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 18(3):357-68.

Tamam E & Ankara T (2012). Effects of pH and Elevated Glucose Levels on the Electrochemical Behaviour of Dental Implants. *Journal of Oral Implantology*, inpress.

Tavares MG et al (2007). Treatment of a commercial, machined surface titanium implant with H₂SO₄/ H₂O₂ enhances contact osteogenesis. *Clinical Oral Implants Research* 18, 452–458.

Tawil G, Younan R, Azar P (2008) Sleilati G. Conventional and advanced implant treatment in the type II diabetic patient: surgical protocol and long-term clinical results. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 23:744-752.

Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T & Porter SS (2003). Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *Journal of Periodontology* 74:945-956.

Vieira AC, Ribeiro AR, Rocha LA & Celis JP (2009). Influence of pH and corrosion inhibitors on the tribocorrosion of titanium in artificial saliva. *Wear* 261:994-1001.

Wennerberg A & Albrektsson T (2009). Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 20 Suppl 4:172-184.

Wilson M. Biological activities of lipopolysaccharides from oral bacteria and their relevance to the pathogenesis of chronic periodontitis. *Science Prognostic* 1995;78:19-34.

Winter W, Klein D & Karl M (2013). Effect of model parameters on finite element analysis of micromotions in implant dentistry. *Journal of Oral Implantology* 39(1):23-9.

Xavier SP, Carvalho PS, Beloti MM & Rosa AL (2003). Response of rat bone marrow cells to commercially pure titanium submitted to different surface treatments. *Journal of Dentistry* 31:173-180.

Yang CH, Wang YT, Tsai WF, Ai CF, Lin MC & Huang HH (2011). Effect of oxygen plasma immersion ion implantation treatment on corrosion resistance and cell adhesion of titanium surface. *Clinical Oral Implants Research* 22(12): 1426-1432.

Zhang SM, Qiu J, Tian F, Guo XK, Zhang FQ & Huang QF (2013). Corrosion behavior of pure titanium in the presence of *Actinomyces naeslundii*. *Journal Materials Science Materials Medicine* 24:1229-1237.

Zhou LY, Mitsuo N, Toshikazu A, Hisao F & Todaa H (2007). Corrosion resistance and biocompatibility of Ti-Ta alloys for biomedical applications. *Materials* 48(3): 380-384.

Tabelas

Tabela 1. Grupos para o ensaio corrosivo em SBF em função da concentração de dextrose (DEX), lipopolissacarídeo (LPS) e associação de dextrose e LPS (DEXLPS) (n=3).

Tipos de superfície dos discos:	Concentração de Dextrose (mM)	Concentração de LPS (µg/mL)
USINADA	0	0
	0	0,15
	0	15
	0	150
	5	0
	5	0,15
	5	15
	5	150
	7,5	0
	7,5	0,15
	7,5	15
	7,5	150
	15	0
	15	0,15
	15	15
15	150	
CONDICIONADA (Duplo ataque ácido)	0	0
	0	0,15
	0	15
	0	150
	5	0
	5	0,15
	5	15
	5	150
	7,5	0
	7,5	0,15
	7,5	15
	7,5	150
	15	0
	15	0,15
	15	15
15	150	

Tabela 2. Correlações entre os parâmetros de corrosão, rugosidade e microdureza com as concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS) (usados isoladamente ou em conjunto) para liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com duplo ataque ácido.

variável	Polida						Condicionada (Ácido)					
	Dextrose		LPS		Dextrose+LPS		Dextrose		LPS		Dextrose+LPS	
	R ²	P	R ²	P	R ²	P	R ²	P	R ²	P	R ²	P
Ecorr	-0,479	0,192	-0,615	0,078	-0,589*	0,001	0,639	0,064	-0,246	0,523	-0,121	0,547
Icorr	-0,664	0,051	0,469	0,203	0,250	0,208	0,382	0,311	0,347	0,361	0,391*	0,044
Ipass	0,534	0,139	0,069	0,860	-0,134	0,504	0,500	0,170	0,789*	0,011	0,435*	0,023
Cdl	0,070	0,858	0,477	0,194	0,008	0,967	-0,172	0,658	0,808*	0,008	0,104	0,605
Rp	-0,557	0,119	0,224	0,562	0,217	0,277	0,960*	0,0001	-0,931*	0,0001	0,259	0,193
Rugosidade	0,0001	1,000	0,105	0,788	0,726*	0,0001	-0,326	0,392	0,601	0,087	0,405*	0,036
Microdureza	-0,551	0,124	0,218	0,573	-0,915*	0,0001	-0,342	0,368	0,175	0,653	0,781*	0,0001

* correlação é significativa ao nível de 0,05 (2-tailed)

Tabela 3. Comparações (T-teste independente) entre a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e com duplo ataque ácido para os parâmetros de corrosão, rugosidade e microdureza.

Grupos	Variável						
	Ecorr	Icorr	Ipass	Cdl	Rp	Rugosidade	Microdureza
Baseline	-	-	-	-	-	0,015*	0,127
SBF (controle)	0,008*	0,123	0,040*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,168
DEX5	0,083	0,161	0,105	0,0001*	0,0001*	0,002*	0,070
DEX7,5	0,002*	0,004	0,162	0,0001*	0,0001*	0,001*	0,0001*
DEX15	0,221	0,003*	0,186	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,005*
LPS0,15	0,019*	0,022*	0,024*	0,0001*	0,565	0,0001*	0,042*
LPS15	0,010*	0,012*	0,677	0,0001*	0,009*	0,0001*	0,259
LPS150	0,001*	0,027*	0,897	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,093
DEX5 LPS0,15	0,001*	0,008*	0,908	0,0001*	0,0001*	0,008*	0,747
DEX5 LPS15	0,003*	0,776	0,010*	0,0001*	0,003*	0,001*	0,391
DEX5 LPS150	0,002*	0,002*	0,001*	0,0001*	0,006*	0,0001*	0,161
DEX7,5 LPS0,15	0,014*	0,004*	0,652	0,001*	0,007*	0,0001*	0,023*
DEX7,5 LPS15	0,003*	0,726	0,029*	0,0001*	0,098	0,001*	0,0001*
DEX7,5 LPS150	0,003*	0,019*	0,215	0,0001*	0,001*	0,0001*	0,001*
DEX15 LPS0,15	0,015*	0,001*	0,009*	0,0001*	0,0001*	0,0001*	0,0001*
DEX15 LPS15	0,006*	0,725	0,010	0,0001*	0,006*	0,0001*	0,0001*
DEX15 LPS150	0,0001*	0,0001*	0,007*	0,0001*	0,009*	0,0001*	0,0001*

* significante ao nível de 0,05 (T-teste independente)

Figuras

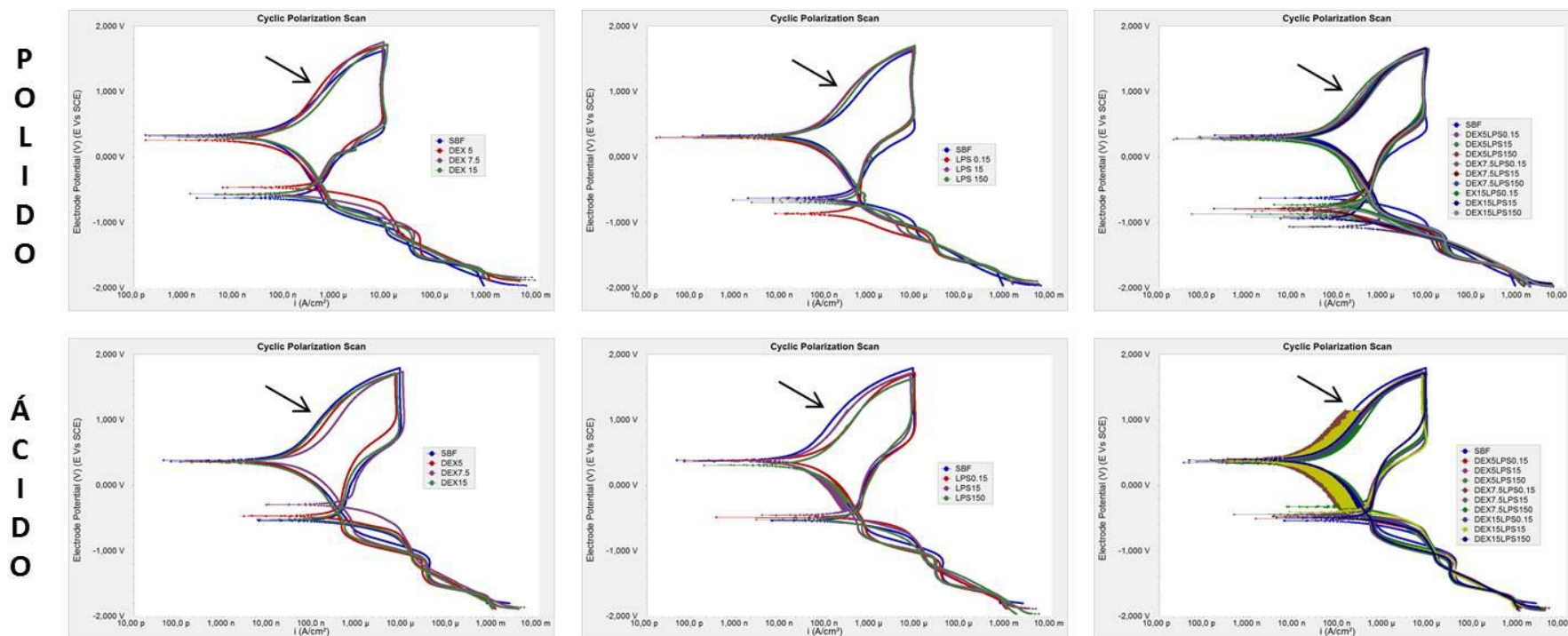


Figura 1 – Curva de polarização cíclica representativa da liga Ti-6Al-4V em simulador de fluido corporal – SBF (Controle) com diferentes concentrações de dextrose (DEX), lipopolissacarídeo (LPS) e associações de dextrose e lipopolissacarídeo (DEXLPS).

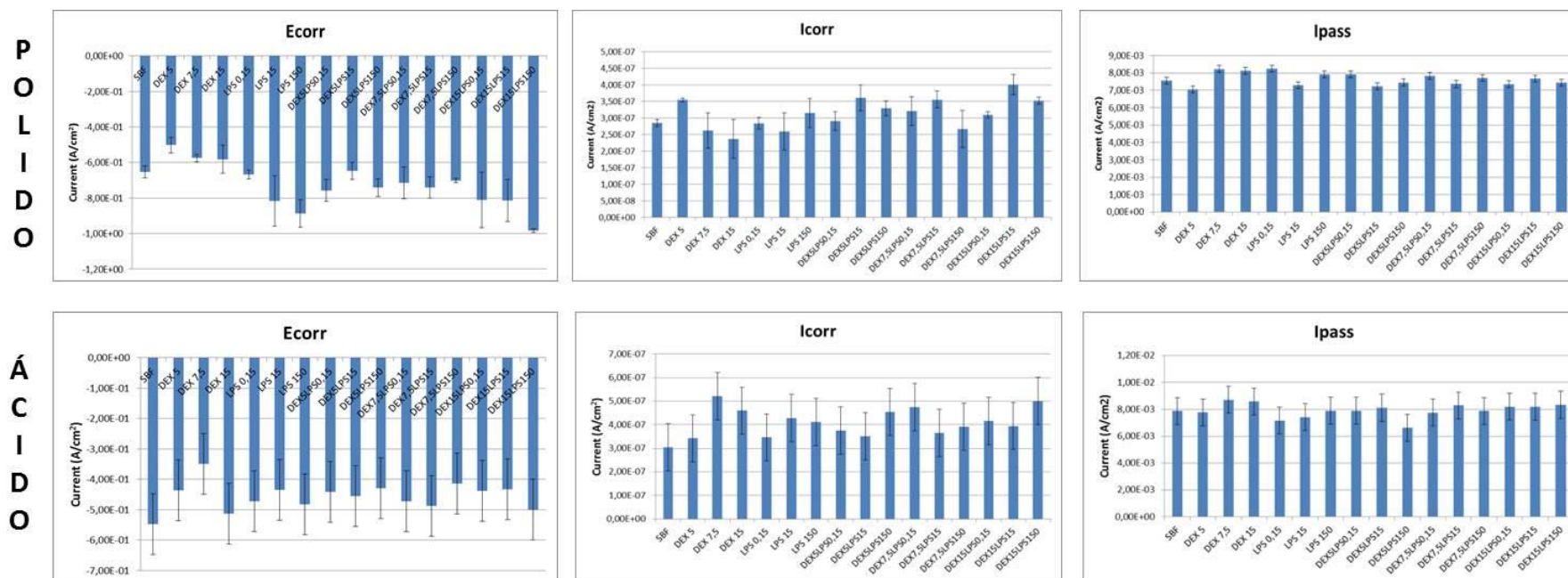


Figura 2 – Dados de corrosão da curva de polarização cíclica potenciodinâmica: potencial de corrosão (E_{corr}), densidade de corrente de corrosão (I_{corr}) e densidade de corrente de passivação (I_{pass}) para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com ácido, em SBF com diferentes concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS), isoladamente ou em associação (DEXLPS).

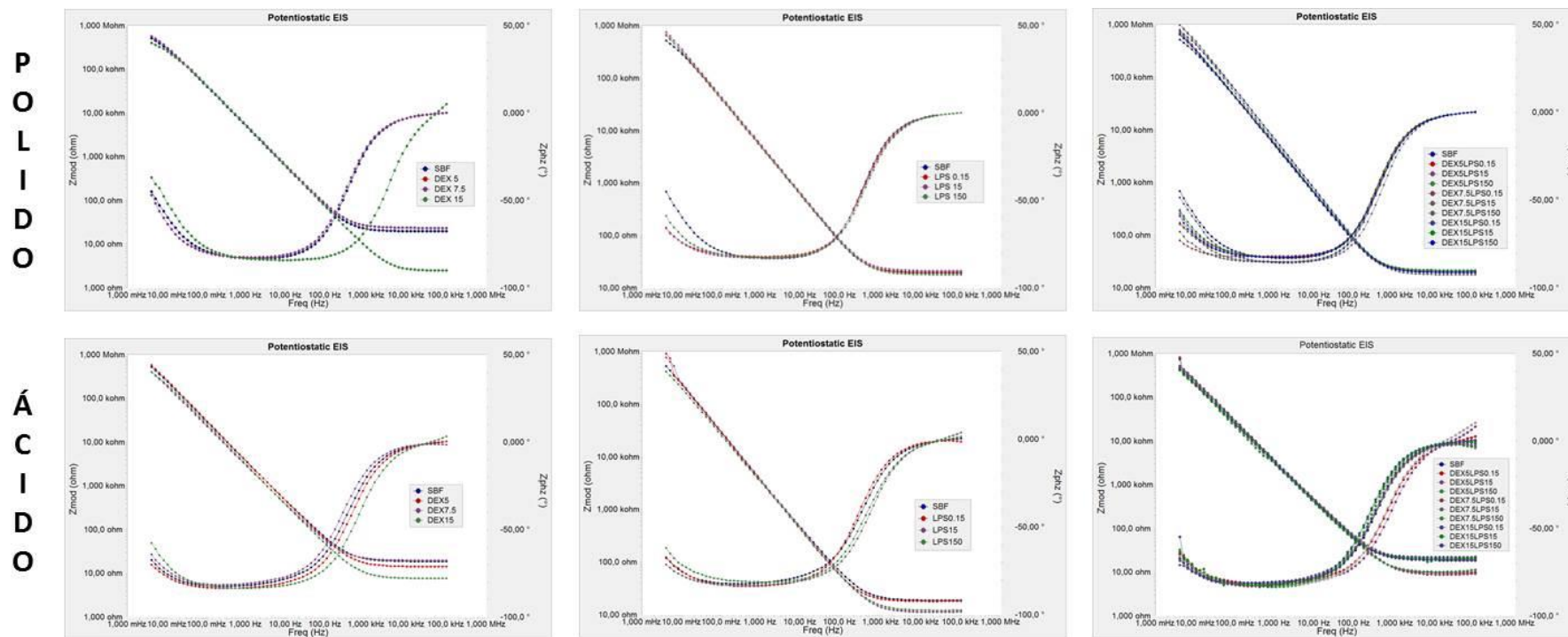


Figura 3 – Espectroscopia de impedância eletroquímica representativa (EIS) da liga Ti-6Al-4V em simulador de fluido corporal – SBF (Controle) com diferentes concentrações de dextrose (DEX), lipopolissacarídeo (LPS) e associações de dextrose e lipopolissacarídeo (DEXLPS).

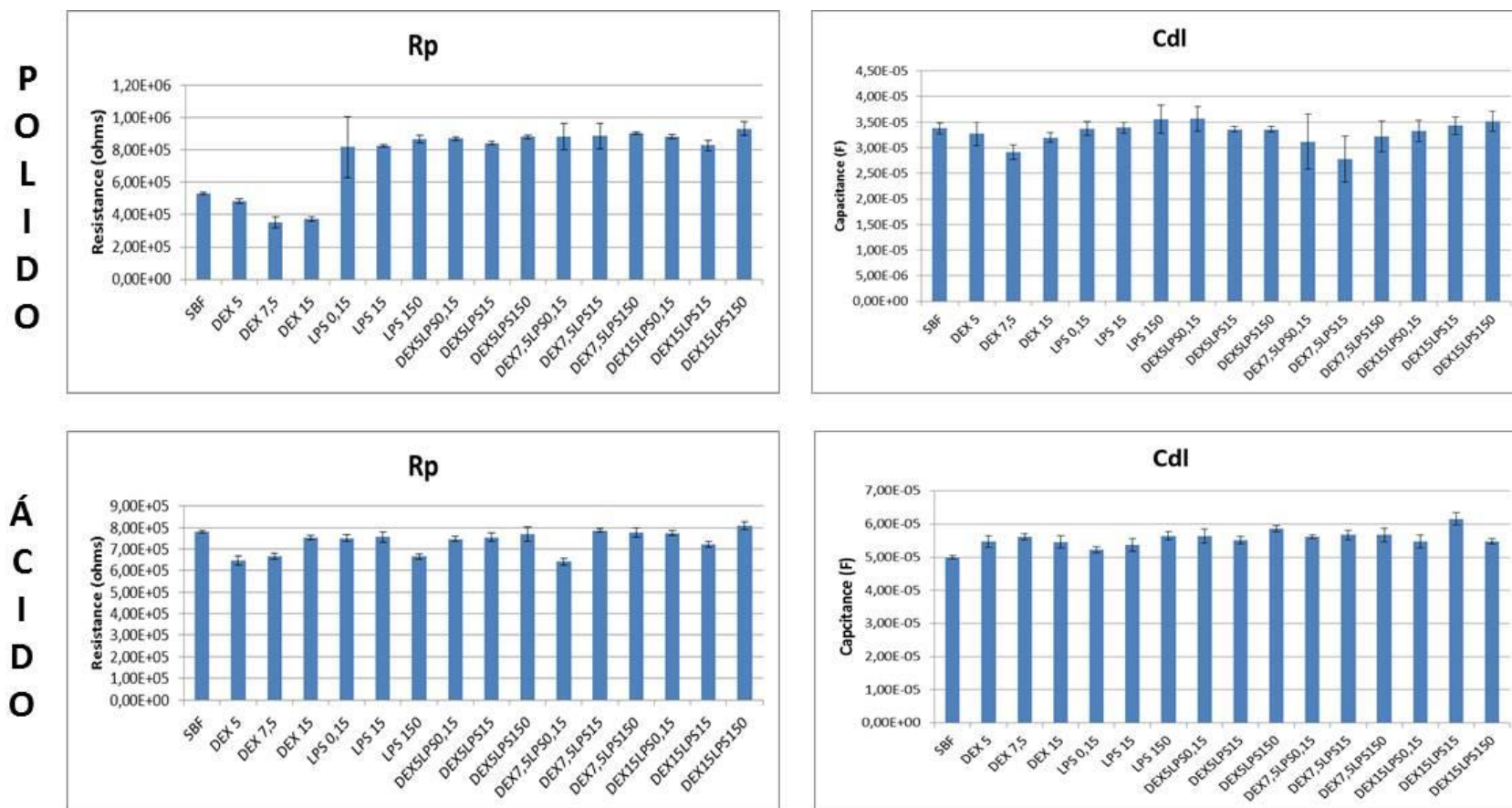


Figura 4 – Dados de corrosão da EIS: resistência de polarização (R_p) e capacitância (C_{dl}) para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com ácido, em SBF com diferentes concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS), isoladamente ou em associação (DEXLPS).

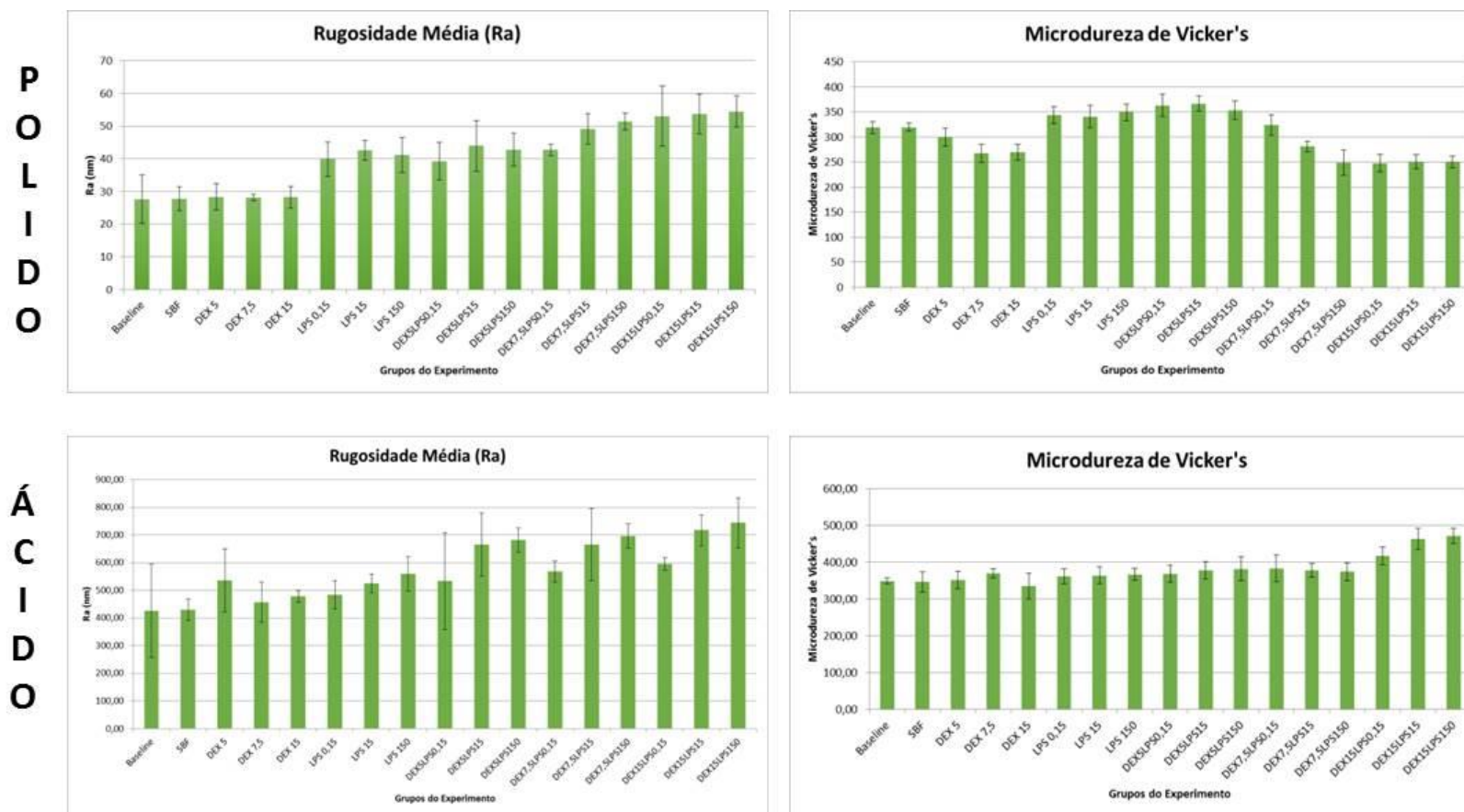


Figura 5 – Dados da topografia de superfície: média e desvio padrão da rugosidade de superfície (Ra) (em nm) e microdureza de Vicker's para a liga Ti-6Al-4V com superfície polida e condicionada com ácido, em SBF com diferentes concentrações de dextrose (DEX) e lipopolissacarídeo (LPS), isoladamente ou em associação (DEXLPS).

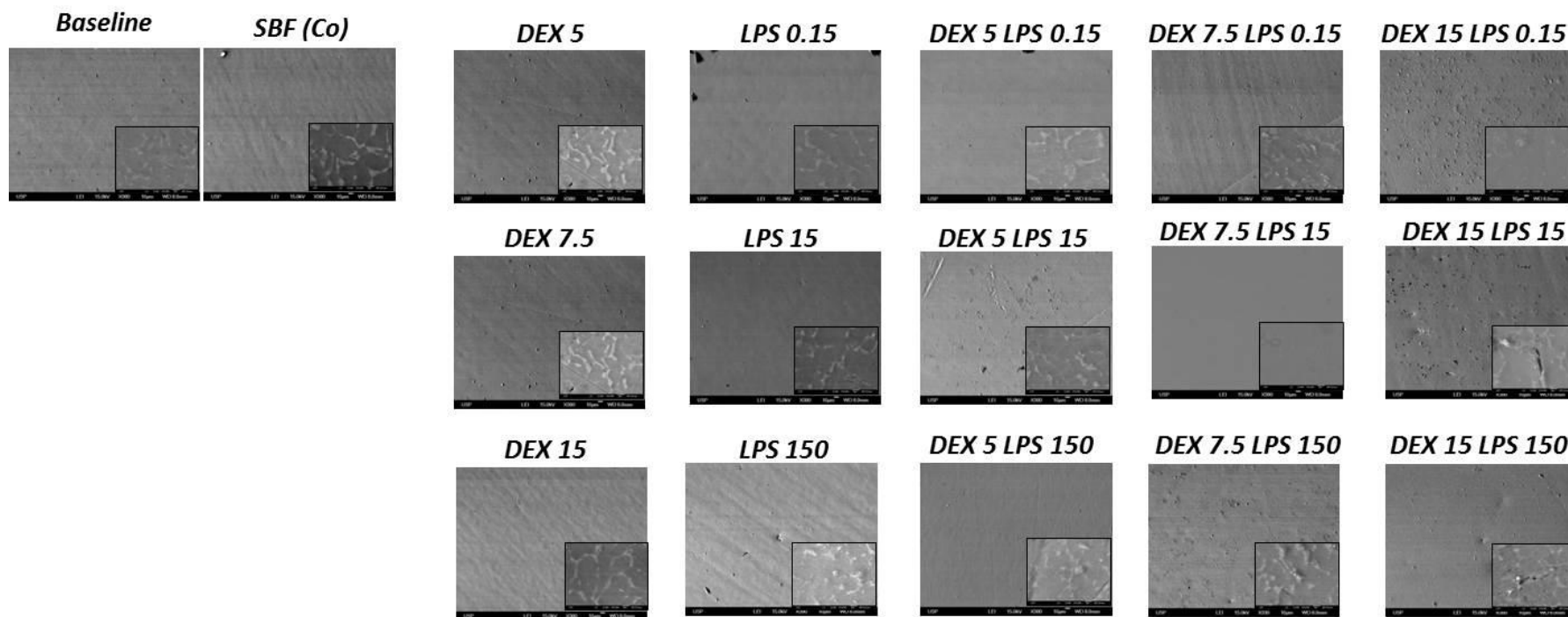


Figura 6 – Imagens do microscópio eletrônico de varredura (300x e 10000x) da liga Ti-6Al-4V com superfície polida, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

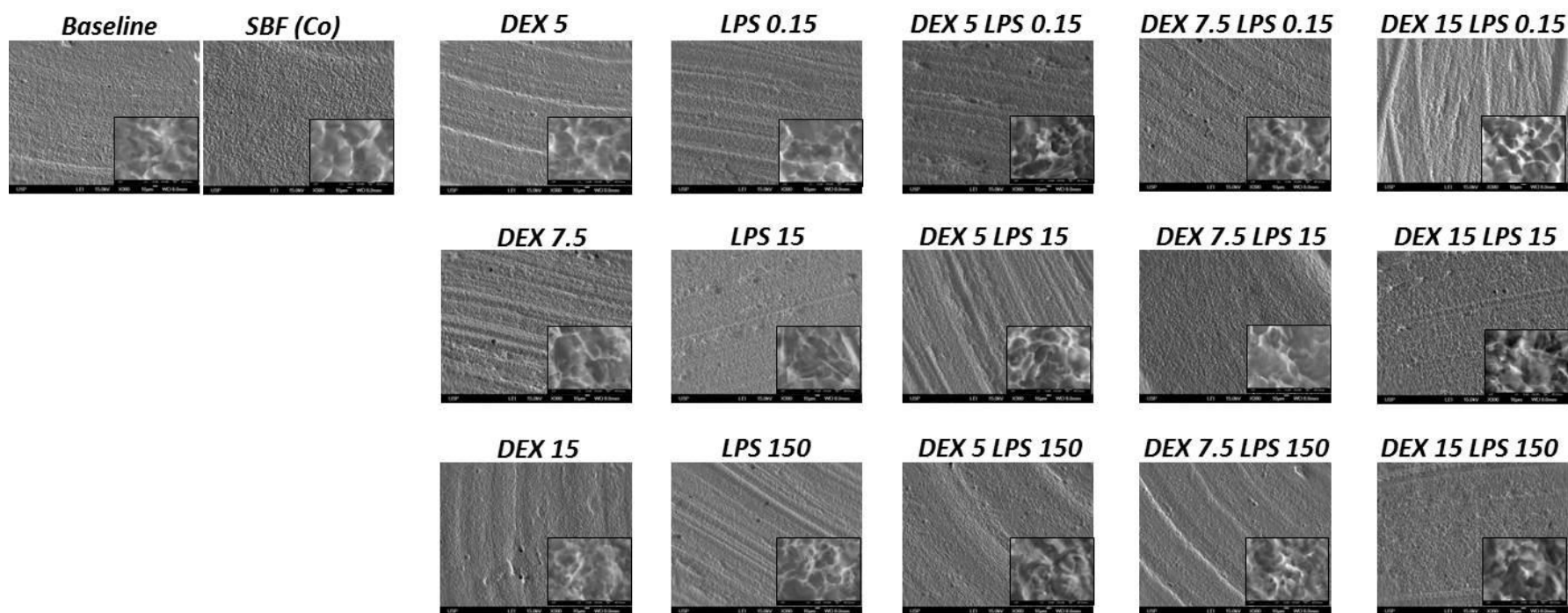


Figura 7 – Imagens do microscópio eletrônico de varredura (300x e 10000x) da liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

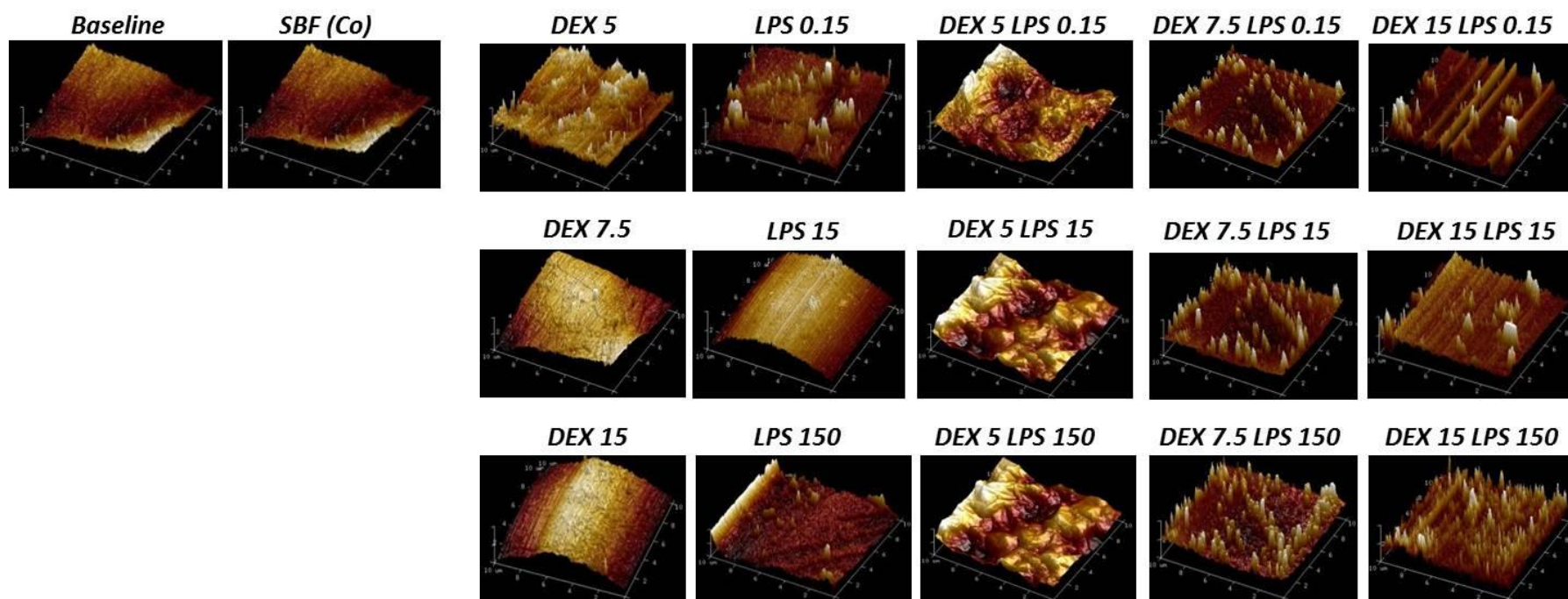


Figura 8 – Imagens 3D da microscopia de força atômica da liga Ti-6Al-4V com superfície polida, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

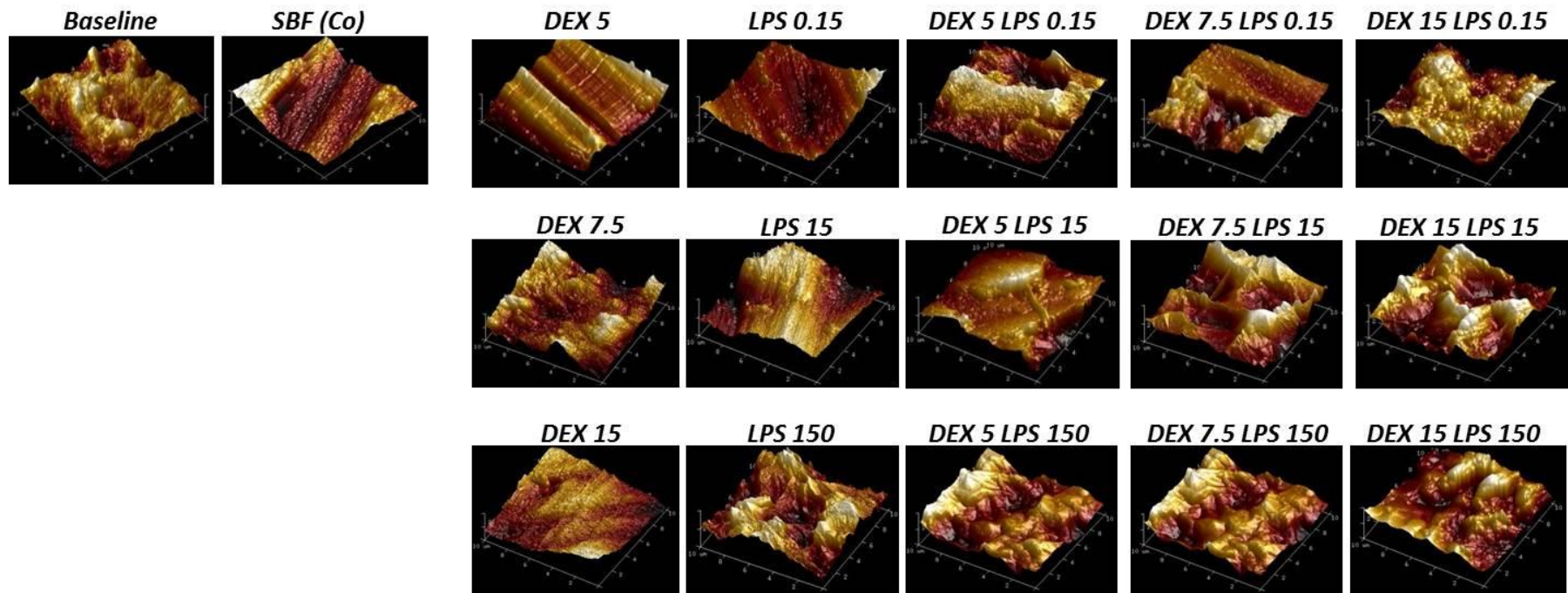


Figura 9 – Imagens 3D da microscopia de força atômica da liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido, antes e após a corrosão para todos os grupos testados.

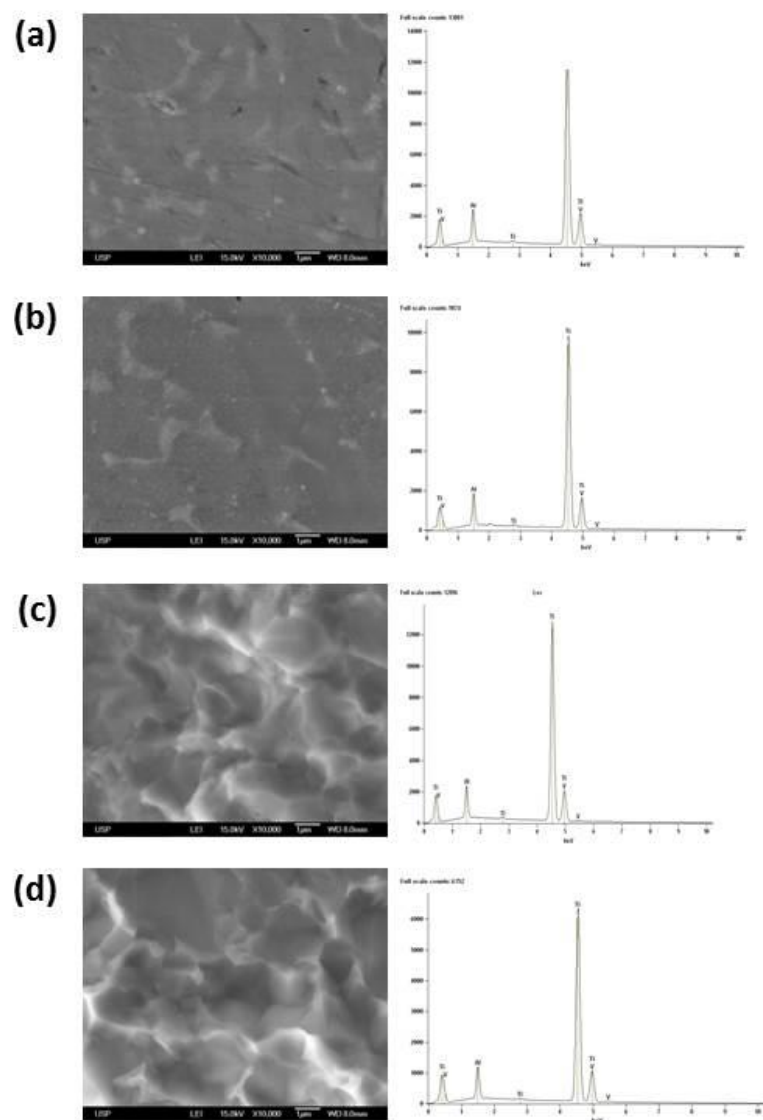


Figura 10 – Espectroscopia de energia dispersiva (EDS) representativa (a) liga Ti-6Al-4V com superfície polida antes do ensaio de corrosão. (b) liga Ti-6Al-4V com superfície polida após o ensaio de corrosão. (c) liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido antes do ensaio de corrosão. (d) liga Ti-6Al-4V com superfície condicionada por ácido após o ensaio de corrosão.



ANEXO

1.8 Anexo - Normas para publicação do periódico *Clinical Oral Implants Research*

Author Guidelines

Content of Author Guidelines: 1. General, 2. Ethical Guidelines, 3. Submission of Manuscripts, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance.

Useful Websites: Submission Site, Articles published in *Clinical Oral Implants Research*, Author Services, Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines, Guidelines for Figures

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

1. GENERAL

Clinical Oral Implants Research conveys scientific progress in the field of implant dentistry and its related areas to clinicians, teachers and researchers concerned with the application of this information for the benefit of patients in need of oral implants. The journal addresses itself to clinicians, general practitioners, periodontists, oral and maxillofacial surgeons and prosthodontists, as well as to teachers, academicians and scholars involved in the education of professionals and in the scientific promotion of the field of implant dentistry.

Clinical Oral Implants Research publishes:

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stoma-tognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts.

Case reports and case series only if they provide or document new fundamental knowledge.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in Clinical Oral Implants Research. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Clinical Oral Implants Research adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

Clinical Oral Implants Research adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

Up to 6 authors are accepted without need for justification. In the case of a specific and detailed justification of the role of every author, up to 8 authors may be mentioned. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editor reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material.

Clinical Oral Implants Research encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest and Source of Funding

Clinical Oral Implants Research requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. Information concerning conflict of interest and sources of funding should be included under Acknowledgements.

2.5 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.6 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere.

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements(OAA):

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the

Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

and visit

<http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright-->

License.html.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license:

Creative Commons Attribution License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the

Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

and visit

<http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright-->

License.html.

2.8 OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article

is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see

http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at:

https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

3. SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Editorial Assistant Ms. Brigitte Baur. E-mail: coir@zmk.unibe.ch

3.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/coir>

- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
 - If you are creating a new account.
 - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
-

-
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/coir> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
 - Log-in and select Corresponding Author Center.

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged in, click the 'Submit a Manuscript' link in the menu bar.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
 - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop-down menu next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to Clinical Oral Implants Research will be reviewed by two experts in the field. Clinical Oral Implants Research uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.5. Suggest a Reviewer

Clinical Oral Implants Research attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the journal editor will choose one or two reviewers as well.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation email after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our email server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit your revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision' . Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stomatognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts. Reviews are generally by invitation only and have to be approved by the Editor-in-Chief before submission.

Case reports and case series, but only if they provide or document new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Proceedings of international meetings may also be considered for publication at the discretion of the Editor.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Page Charge

Articles exceeding 10 published pages are subject to a charge of USD 160 per additional page. One published page amounts approximately to 5,500 characters (excluding figures and tables).

5.2. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language might choose to have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro*, *in vivo*, *in situ* and other Latin expressions are to be italicised. Use only standard abbreviations. All units will be

metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point and not a comma will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of Webster's third new international dictionary will be adhered to.

Scientific Names: Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined on the typescript. The full proper name (e.g., *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e.g., *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e.g., streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalised and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e.g., *Ps.* for *Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names. If a proprietary name is used, it must be attached when the term is first used.

5.2. Structure

All manuscripts submitted to Clinical Oral Implants Research should include Title Page, Abstract, Main Text and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate.

Title Page: should contain the title of the article, full name(s) of the authors (no more than 6) and institutional affiliation(s), a running title not exceeding 60 letters and spaces, and the name, telephone and fax numbers, email and complete mailing address of the author responsible for correspondence. The author must list appropriate key words for indexing purposes.

Abstract: should not to exceed 250 words. This should be structured into: objectives, material and methods, results, conclusions, and no other information.

Main Text of Original Research Article should include Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

Introduction: Summarise the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

Material and Methods: Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.

Results: Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all data in the tables and illustrations. The important observations should be emphasised.

Discussion: Summarise the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

Main Text of Short Communications: Short communications are limited to two printed pages including illustrations and references and need not follow the usual division into material and methods, etc., but should have an abstract.

Acknowledgements: Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support should be acknowledged.

5.3. References

References should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988). Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977).

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, title of book, edition, volume, chapter and/ or page number, town of publication, publisher.

c) Author's names should be arranged thus: Daniels, J.A., Kelly, R.A. & Til, T.C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Author's names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1966).

c) The title of the paper should be included, without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised, and followed by volume number in bold type, and page numbers.

Examples:

Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* 4: 177-186.

Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978) Some aspects of the intracellular breakdown of erogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. *Protein turnover and lysosome function*, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

Figures: All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single-column width (81 mm) after reduction, although in exceptional cases 120mm (double-column) and 168 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction,

and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed. Each figure should have a legend

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; halftones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures:
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting it:
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added.

Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt.

Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

Articles should not normally exceed 10 printed pages, including illustrations and references. Additional pages will be charged to the author(s) at the rate of USD 160 per page.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

Clinical Oral Implants Research is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including.
