



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada

Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial  
Linha de Pesquisa: Bases da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial

LUARA TEIXEIRA COLOMBO

**Estudo comparativo in vivo da osseointegração em duas diferentes superfícies de implantes em liga TiAlV. Caracterização topográfica, análise de frequência por ressonância e histométrica**

**Orientador:** Prof. Dr. Francisley Ávila Souza

Araçatuba – SP

2019

**LUARA TEIXEIRA COLOMBO**

**Estudo comparativo in vivo da osseointegração em duas diferentes superfícies de implantes em liga TiAlV. Caracterização topográfica, análise de frequência por ressonância e histométrica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, para obtenção do Título de MESTRE EM ODONTOLOGIA (Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial)

**Orientador:** Prof. Dr. Francisley Ávila Souza

Araçatuba – SP

2019

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C718a	<p>Colombo, Luara Teixeira.</p> <p>Estudo comparativo in vivo da osseointegração em duas diferentes superfícies de implantes em liga TiAlV. Caracterização topográfica, análise de frequência por ressonância e histométrica / Luara Teixeira Colombo. – Araçatuba, 2019</p> <p>81 f. : il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba</p> <p>Orientador: Prof. Francisley Ávila Souza</p> <p>1. Implantes dentários 2. Osseointegração 3. Regeneração óssea 4. Propriedades de superfície 5. Ligas dentárias I. T.</p> <p>Black D7 CDD 617.6</p>
-------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

# *Dedicatória*

**D**edico este trabalho à:

Minha família, por me proporcionar todo o apoio necessário;

A todos os educadores que participaram da minha formação;

Aos meus verdadeiros amigos e ao meu namorado, que se fizeram sempre presentes, e me possibilitaram uma caminhada mais leve e feliz.

*Agradecimentos Especiais*

Á **Deus**, por me ensinar o amor ao próximo, o respeito e a gratidão. Por ser uma entidade superior à religião e se mostrar presente aonde houver o amor. Agradeço por ser um alicerce nos momentos mais difíceis.

À minha mãe **Lúcia Teixeira**. Agradeço todo o carinho, esforço, amizade e apoio que me permitiram seguir nessa longa e sinuosa caminhada chamada pós-graduação. Obrigada por muitas das vezes abrir mão dos seus próprios sonhos e planos para fazer dos meus sonhos realidade. Desculpe se muitas vezes não demonstrei todo o meu amor, mas saiba que sem você esse dia não seria possível. Obrigada por acreditar e me apoiar na minha escolha de seguir com os estudos, e acreditar também nos frutos que eu espero que esse esforço vá gerar. Você sempre soube me orientar sem me criticar, e me dar apoio pra aguentar todas as críticas que viriam. Obrigada por se tornar uma mulher forte e por ter entendido que você precisa exclusivamente de você pra ser feliz.

Ao meu pai **Luís Alberto Colombo**. Obrigada por me ensinar que devemos aprender tanto com os bons quanto com os maus exemplos das pessoas. Obrigada por todas as críticas e conselhos, pois sem eles eu não teria refletido tanto e também não teria tido tanto crescimento e amadurecimento. Como você sempre mesmo diz, os filhos são criados para o mundo e que pai e mãe não servem para “passar a mão na cabeça de ninguém”, e agora é o meu momento de ir para o mundo. Mesmo com tantos pensamentos e ideais diferentes, você contribuiu muito para que essa titulação fosse alcançada.

Aos meus avós maternos **Wilson e Roseli Teixeira**, por serem meus segundos pais e estarem presentes em todos os momentos desde o meu nascimento. Sem vocês eu não teria me tornado o ser humano que eu me tornei. Obrigada por todo o amor e apoio. E pra quem diz que os avós estão no mundo pra estragar os netos, não conhecem vocês dois! Grandes exemplos de bondade e integridade. A vocês, todo o meu amor!

Ao meu irmão **Bruno Teixeira Maldonado**. A expressão meio-irmão jamais se aplica nós dois! Obrigada por ser um exemplo de caráter, ideais e visão do mundo. Por ser a pessoa séria mais engraçada que eu conheço. Você é um ser humano maravilhoso e espero cada vez mais me equiparar a você. Obrigada por sempre cuidar de mim e por ser o melhor irmão mais velho que eu poderia ter. Tenho certeza que você terá muito sucesso na vida, e espero que possamos compartilhar ainda muitos momentos maravilhosos. Agradeço também a minha cunhada **Anny**, por ser sua companheira nessa doida caminhada que é a vida adulta. Vocês estão se saindo bem para caramba.

A todos os meus demais familiares, que expressaram apoio a minha escolha de seguir na pós-graduação, que me deram conselhos, suporte e fizeram críticas. Vocês são muito

importantes para o meu crescimento. Agradeço todo o carinho.

Ao meu namorado **João Pedro R. Bellei**. Agradeço todo o amor, carinho, paciência, e momentos especiais. Obrigada por me fazer querer ser sempre uma companheira melhor. Agradeço por todos os momentos maravilhosos, todo o aprendizado e todas as experiências que temos compartilhado. Estamos crescendo muito juntos, espero que possamos crescer ainda mais e compartilhar ainda mais momentos importantes e especiais. Obrigada por me colocar nos seus planos e tenha certeza que sempre penso em você para traçar os meus. Sem você essa caminhada teria sido muito mais difícil. Você foi meu alicerce, meu ponto de equilíbrio. Te amo! E se prepare que os problemas do doutorado vêm aí! Haha.

A **Lourdes e ao Paulo Bellei**, meu sogros, juntamente com toda a família **Ribeiro Bellei**, por se tornarem minha segunda família. Agradeço por me acolherem tão bem e serem tão carinhosos comigo. Com certeza vocês todos já ocupam um lugar muito especial no meu coração.

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, na pessoa do diretor **Prof. Titular Wilson Roberto Poi** pela oportunidade de realização dos cursos de Graduação e Mestrado. Meus mais sinceros agradecimentos por me proporcionar os melhores mestres e a melhor estrutura, moldando assim o ser humano e profissional que eu me tornei.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Francisley Ávila Souza**. Por todos os ensinamentos acadêmicos e sobre a vida, por todo o bom humor, pensamento positivo e conselhos. Agradeço a oportunidade de ser sua orientada e todo o crescimento que isso me proporcionou. Reconheço no senhor um coração bom, um exemplo de ser humano. Ao senhor, minha eterna gratidão e admiração.

Ao **Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior**. Meu orientador durante os três anos de iniciação científica que realizei na graduação. Agradeço por ter despertado em mim o interesse pela vida acadêmica, que juntamente com a pós-graduanda **Sabrina Ferreira** foi de extrema importância para a minha decisão em ingressar na pós-graduação. Obrigada pela prontidão em participar dessa banca examinadora a fim de engratecer esse trabalho com todo seu conhecimento.

Ao **Prof. Dr. Osny Ferreira Junior**, pela disponibilidade para compor essa banca examinadora. Tenho certeza que todas as considerações serão de extrema importância para complementar ainda mais esse trabalho.

Aos demais Professores da Disciplina da Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial: **Oswaldo Magro Filho, Alessandra Marcondes Aranega, Daniela Ponzoni, Ana Paula Farnezi Bassi, Leonardo Perez Faverani**, pelo carinho, coleguismo, auxílio, exemplo e

amizade desfrutada em nosso departamento. Recebam o meu carinho e admiração. Em especial, gostaria de agradecer a professora **Ana Paula**, pela qual já tinha extrema admiração quanto as características de docência, mas depois que o convívio na faculdade nos aproximou, enxergo a senhora como além de um exemplo de docência, um exemplo de fibra, caráter, competência e bondade. A senhora é uma grande inspiração.

Às minhas companheiras de apartamento **Betina Commar e Isabela Catanoze**, pelos sete anos de convivência e companheirismo. Morar com vocês foi uma experiência incrível. Agradeço por todo o apoio, momentos e crescimento pessoal que o convívio com vocês me proporcionou. Obrigada por se tornarem minhas irmãs em Araçatuba. Tenho certeza que o futuro de vocês será incrível, independente do caminho que escolherem.

À toda a **Turma 58**. Obrigada por compartilharem comigo as experiências desses 5 anos de graduação. Foram muitas aulas, clínicas, aprendizado, estudos noite adentro, e claro, muita festa, diversão, bebedeiras, brigas, reconciliações e histórias pra contar.

Aos amigos especiais que conquistei durante a graduação. Obrigada, em especial, à **Carolina Barros, Thayane Businari, Mariana Pereira, Letícia Capalbo, Bruna Egumi, Gabriel Secamilli, João Vicente e Luiz Guilherme** por compartilharem comigo momentos tão especiais. Mesmo que nossos caminhos tenham se distanciado, vocês estarão sempre comigo em sentimento.

A todos os **grandes amigos que a pós-graduação trouxe** para a minha vida. A companhia de vocês fez os momentos difíceis serem mais leve. Em especial agradeço aos meus companheiros de ingresso **William, Lara, Cássio, Raquel, Guilherme, Thiago e Laís** e aos meus “irmãos mais novos” **Henrique e Rodrigo**. Agradeço também a outros mestrandos e doutorandos que se fizeram tão importantes nessa jornada, **Melyna, Gutavo, Valthierre, Tarik, Fábio, André, Gabriel**, obrigada por todos os conselhos e todo o coleguismo durante esses dois anos.

Obrigada **Lara Cervantes**, por ser minha companheira desde a graduação, tanto na iniciação científica quanto em todos os outros momentos que a vida universitária nos proporcionou, você é muita esforçada e tenho certeza que tudo que você almeja vai se realizar. Mesmo que as coisas não aconteçam no tempo que a gente quer, no tempo certo elas vão acontecer.

Agradeço também a **Raquel Parra**, assim como aos seus pais, por todo o apoio durante o mestrado. Obrigada pela comida de mãe, pelas tardes na piscina e por todos os momentos maravilhosos. É notável o seu crescimento na vida acadêmica nesses dois anos, acredite mais em você, porque eu acredito!

Ao meu irmãozinho mais novo, **Henrique Hadad**, que no fim das contas tem me ensinado mais do que eu consigo ensinar. Obrigada por ser esse amigo maravilhoso, engraçado, solícito e afetuoso. Você tem uma garra que me inspira. Continue sendo essa pessoa com sede de conhecimento e crescimento, que tenho certeza que você vai se tornar o pesquisador extraordinário que você tanto almeja.

A outro integrante muito especial do nosso grupo de pesquisa, **Rodrigo Capalbo**. Obrigada pela convivência e amizade tanto dentro quanto fora da faculdade. Parabéns por toda a determinação que você tem. Agradeço também aos seus pais por todos os almoços maravilhosos e por me tratarem tão bem.

Minha gratidão também aos demais integrantes do nosso grupo de pesquisa, **Ana Flávia, Kátia, Laís e Lia**. Obrigada por estarem comigo nessa caminhada e por todos os momentos compartilhados.

Aos meus amigos de Marília, **Marina Akuri, Luíza Akuri, Ioana Bitencout, Paula Vitelli, Ana Flávia Guillen e Lucas Henrique Ragonha**, pelos muitos anos de amizade, por todo o carinho, todas as histórias, todo o crescimento e experiências compartilhadas que tivemos durante todos esses anos. Mesmo que nossos caminhos tenham se afastado, nós sempre fazemos o possível para estarmos próximos.

# *Agradecimientos*

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” com o atual Coordenador **Prof. Adj. André Luiz Fraga Briso**.

Aos **funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP** pela disponibilidade, paciência e gentileza em todas as etapas do mestrado. Agradeço pelo trabalho sempre eficiente por vocês desempenhado.

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

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada (**Paulo Gratão, Renato e Marco**). Muito obrigada por todo o auxílio e carinho.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da Bolsa de Mestrado durante o segundo ano de curso. Agradeço por promover o apoio financeiro que me permitiu a realização do mestrado.

Ao **Laboratório para Estudo de Tecidos Mineralizados da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, na pessoa da **Profa. Dra. Roberta Okamoto**, por possibilitar a utilização do microscópio óptico para a captura das imagens das lâminas deste estudo.

Ao **Departamento de Materiais Dentários**, em especial ao **Prof. Adj. Paulo Henrique dos Santos**, pelo auxílio na utilização do rugosímetro digital, possibilitando a realização da análise de rugosidade deste estudo.

Ao **Laboratório de Caracterização e Avaliação de Resposta Biológica da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP**, na pessoa do **Prof. Dr. Élcio Marcantônio Júnior**, que juntamente com a técnica de laboratório **Claudinha** possibilitaram a utilização do EXAKT para o corte de peças calcificadas desse trabalho.

Ao **Laboratório de Anelasticidade e Biomateriais da Faculdade de Ciências de Bauru - UNESP**, na pessoa do **Prof. Dr. Carlos Roberto Grandini**, juntamente com os pós-graduandos **Caio Castanho Xavier** e **Bruna Costa** que possibilitaram a realização das análises MEV-EDX, mapeamento elementar e análise de secção transversal desse trabalho.

Aos **pacientes**, pela credibilidade e confiança depositadas a nós pós-graduandos, permitindo-nos aprimorar as habilidades cirúrgicas e a empatia. Minha eterna gratidão.

# Epigrafe

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,  
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não  
sou o que deveria ser, mas também não sou o  
que era antes”.*

(Marthin Luther King)

Este trabalho foi formatado de acordo com as normas do periódico: *Clinical Oral Investigation*. As normas estão especificadas no Anexo B.

**Colombo, L.T. Estudo comparativo in vivo da osseointegração em duas diferentes superfícies de implantes em liga TiAlV. Caracterização topográfica, análise de frequência por ressonância e histométrica. [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2019**

**RESUMO:**

**Objetivo:** Avaliar o comportamento biológico do tecido ósseo ao redor de implantes manufacturados em liga Ti-6Al-4V diante das superfícies modificadas por jateamento de óxido de alumínio seguido condicionamento ácido (SBAS) e a superfície usinada (MS). **Material e Métodos:** Dez coelhos receberam aleatoriamente 20 implantes de hexágono externo com dimensões de 4,0 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento em suas tíbias direita e esquerda, sendo um implante de cada superfície em cada tíbia. Os implantes de ambos os grupos foram analisados através de microscopia eletrônica de varredura (MEV-EDX) e microscopia de força atômica (AFM). Discos com as mesmas superfícies foram submetidos à análise de rugosidade média (Ra) e secção transversal. Nos períodos de 3 e 6 semanas foi mensurado o coeficiente de estabilidade primária por meio da análise de frequência por ressonância (ISQ), seguido da eutanásia dos animais. As peças obtidas foram submetidas ao processamento de inclusão em resina fotopolimerizável e levadas ao micrótomo para corte calcificado. Foi mensurada em porcentagem a extensão linear de contato entre tecido ósseo mineralizado e implante (ELCOMI) e área óssea neoformada (AON). Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste t de Tukey. **Resultados:** MEV e AFM mostraram diferenças na topografia das superfícies. Os valores médios obtidos pelas análises de frequência por ressonância, Ra e secção transversal para SBAS foram estatisticamente superiores ( $p < 0,05$ ) quando comparados a MS. Os valores médios em porcentagem de ELCOMI para SBAS foram de 69,65 e 71,56 respectivamente para 3 e 6 semanas, enquanto para MS os valores médios foram de 54,06 e 55,99 respectivamente para os mesmos períodos. Os valores médios de AO no grupo SBAS foram de 69,85 e 79,60 para os períodos de 3 e 6 semanas, enquanto para MS os valores médios foram de 59,59 e 74,32 respectivamente nos mesmos grupos. Houve diferenças estatisticamente superiores ( $p < 0,05$ ) nos implantes SBAS para a ELCOMI nos períodos de 3 e 6 semanas e AON no período de 3 semanas. **Conclusão:** A modificação na superfície nos implantes SBAS proporcionou alterações na topografia dos implantes, promovendo um maior contato entre tecido ósseo e a liga de titânio, permitindo melhores níveis de osseointegração. **Relevância clínica:** Implantes manufacturados em liga de Ti-6Al-4V modificados por jateamento de óxido de alumínio seguido condicionamento ácido (SBAS) apresentam bons níveis de osseointegração e podem ser usados com segurança para reabilitação protética de pacientes.

**Palavras chave:** Implante dentário. Osseointegração. Regeneração óssea. Propriedades de superfície. Ligas dentárias.

**Colombo, L.T. Comparative study in vivo of osseointegration on two different surfaces of TiAlV alloy implants. Topographic characterization, resonance frequency and histometric analyzes. ARACATUBA: UNESP – Univ. Estadual Paulista. 2019**

**ABSTRACT:**

**Objective:** Evaluate the biological behavior of bone tissue around implants manufactured in Ti-6Al-4V alloy before surfaces modified by aluminum oxide blasting followed by acid etching (SBAS) and machined surface (MS). **Material and Methods:** Ten rabbits randomly received 20 external hexagon implants with dimensions of 4.0 mm in diameter and 10 mm in length on their right and left tibiae, one implant of each surface on each tibia. The implants of both groups were analyzed by scanning electron microscopy (SEM-EDX) and atomic force microscopy (AFM). Disks with the same surfaces were submitted to analysis of average roughness (Ra) and cross section. In the periods of 3 and 6 weeks, the primary stability coefficient was measured by means of resonance frequency analysis (ISQ), followed by euthanasia of the animals. The obtained pieces were submitted to the inclusion processing in photopolymerizable resin and taken to the microtome for cutting without decalcification. The bone interface contact (BIC) and neoformed bone area (NBA) was measured in percentage. Data were submitted to analysis of variance and Tukey t test. **Results:** SEM and AFM showed differences in surface topography. The mean values obtained by the resonance, Ra and cross section analyzes for SBAS were statistically higher ( $p < 0.05$ ) when compared to MS. The mean values in percentage of BIC for SBAS were 69.65 and 71.56 respectively for 3 and 6 weeks, while for MS the mean values were 54.06 and 55.99 respectively for the same periods. The mean values of NBA in the SBAS group were 69.86 and 79.59 for the 3 and 6 week periods, while for MS the mean values were 59.59 and 74.32, respectively, in the same groups. There were statistically superior differences ( $p < 0.05$ ) in SBAS implants for BIC in the 3 and 6 week periods and AON in the 3 week period. **Conclusion:** The surface modification of the SBAS implants provided changes in the topography of the implants, promoting a better contact between bone tissue and titanium alloy, allowing better levels of osseointegration. **Clinical Relevance:** Implants manufactured in Ti-6Al-4V alloy modified by aluminum oxide etching followed by acid etching (SBAS) present good levels of osseointegration and can be safely used for prosthetic rehabilitation of patients.

**Key words:** Dental implant. Osseointegration. Bone regeneration. Surface properties. Dental alloy.

## LISTA DE FIGURA

**Fig1.** Imagens obtidas por MEV-EDX do implante do grupo experimental MS. Observa-se superfície lisa apresentando sujidades da usinagem. Os elementos encontrados foram titânio, alumínio e vanádio.

**Fig2.** Imagens obtidas por MEV-EDX do implante do grupo experimental SBAS. Observa-se superfície com presença de picos e vales de diferentes profundidades. Os elementos encontrados foram titânio, alumínio, vanádio e oxigênio.

**Fig3.** Gráfico com valores de rugosidade média (Ra) e desvio padrão para os grupos experimentais SBAS e MS.

\*indica diferença estatisticamente significativa.

**Fig4.** Imagens de secção transversal obtidas por MEV do grupo experimental MS (a) e SBAS (b). Gráfico com valores de secção transversal e desvio padrão para ambos os grupos experimentais (c).

\*indica diferença estatisticamente significativa.

**Fig5.** Imagens de microscopia de força atômica para os grupos experimentais SBAS (a) e MS (b).

**Fig6.** Gráfico dos valores de análise de frequência por ressonância e desvio padrão nos períodos de 0, 3 e 6 semanas.

\* indica diferença estatisticamente significativa

**Fig7.** Gráfico dos valores de extensão linear de contato entre osso mineralizado e implante (ELCOMI) e desvio padrão nos períodos de 3 e 6 semanas.

\* indica diferença estatisticamente significativa

**Fig8.** Gráfico dos valores de área óssea neoformada (AON) e desvio padrão nos períodos de 3 e 6 semanas.

**Fig9.** Imagens dos cortes calcificados do grupo experimental MS (a) e SBAS (b) para os períodos de 3 semanas e MS (c) e SBAS (d) para o período de 6 semanas. Aumento de 10x.

## SUMÁRIO

Introdução	1
Objetivo	5
Material e Métodos	7
Resultados	14
Discussão	17
Conclusão	22
Referências	24

# *Introdução*

## Introdução

A Odontologia evoluiu muito através dos tempos, e sabe-se que desde as antigas civilizações o homem busca por meio de elementos encontrados na natureza a reposição dos dentes perdidos. Os primeiros relatos na tentativa de se substituir um elemento dentário são encontrados em 600 a.C., onde civilizações maias utilizavam conchas e pedras esculpidas manualmente [1]. Nos últimos tempos não foi diferente, entretanto, a crescente exigência estética e funcional dos pacientes levou a odontologia reabilitadora a grandes transformações, como a descoberta da osseointegração, que possibilitou o uso de implantes dentários para a substituição protética de dentes perdidos [2]. Na atualidade, milhões de implantes vêm sendo instalados com o intuito de reestabelecer a oclusão dos pacientes. Neste sentido tornam-se necessários estudos que aprimorem os conhecimentos e técnicas nesta área.

O primeiro relato da possibilidade do uso médico do titânio para cirurgia aconteceu em 1951 [3], mas só anos após, em 1969 os trabalhos de Bränemark definiram o conceito de osseointegração, definido por conexão direta estrutural e funcional entre o osso vivo e organizado e a superfície do implante, do ponto de vista microscópico sob carga mastigatória [2]. No entanto, no âmbito biológico não existe evidência de contato completo entre o osso e a superfície do titânio, mas sim maior ou menor quantidade desse tecido conjuntivo mineralizado, sem que clinicamente haja falha ou perda do implante [4].

Implantes de titânio comercialmente puro (Ti-cp) destacam-se como um material confiável para reabilitar áreas edêntulas [5]. Entre suas características estão a biocompatibilidade, alta resistência à corrosão, baixa densidade, boa resistência mecânica e alta ductibilidade [6]. Além disso, apresenta baixa energia superficial o que possibilita o espalhamento do sangue na superfície do implante de maneira mais homogênea [7]. Devido a isso, o titânio é um material que apresenta excelente prognóstico no processo de osseointegração [8].

No intuito de melhorar as propriedades mecânicas dos implantes dentários vem sendo crescente a utilização das ligas de titânio [9]. Dentre as ligas, destaca-se a liga de TiAlV por ser muito empregada em cirurgia ortopédica [10]. Quando se compara esta liga ao titânio comercialmente puro, o TiAlV apresenta maior resistência à fratura e a fadiga, maior dureza [11]. Possui maior módulo de elasticidade, maior resistência à

tração e menor chance de corrosão [12].

O desenvolvimento das ligas de titânio busca sempre melhorar as propriedades mecânicas ao mesmo tempo em que se procura manter a compatibilidade biológica do Ti-cp. Apesar das ligas de titânio apresentarem melhores características mecânicas quando comparadas ao Ti-cp, este fato não garante melhores níveis de osseointegração. Este fato pode ser comprovado uma vez que para o uso das ligas de titânio na confecção de implantes dentais, o tratamento de superfície torna-se indispensável, pois caso contrário a osseointegração será desprezível [13,14].

Estudos recentes mostraram que a modificação da superfície proporciona maiores valores de torque de remoção [15,16] e apresenta uma maior área de contato entre tecido ósseo mineralizado e implante [17,18], quando comparado aos implantes de superfície usinada. Outro fator positivo é a potencialização das respostas biológicas, levando à aceleração dos estágios iniciais do processo de reparo ósseo em torno dos implantes [19].

A superfície dos implantes pode ser modificada por métodos de subtração e adição. Dentre os métodos de subtração mais empregados estão modificação pelo condicionamento ácido [18], jateamento de óxido de alumínio [20] e areia [21]. Métodos recentes de modificação por subtração como oxidação anódica [22], e ablação por feixe de laser [16] vem sendo empregados. Entre os métodos de adição destacam-se pulverização de plasma de titânio [23] e recobrimento por hidroxiapatita [24]. Recentemente métodos de adição vêm sendo empregados em associação com métodos de subtração. Entre estes métodos destacam-se a modificação por feixe de laser seguido da deposição de silicato de sódio [19,25], laser seguido da deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético [26], condicionamento ácido seguido da deposição de  $\beta$  tricálcio fosfato [27] entre outros.

O jateamento por óxido de alumínio seguido do condicionamento ácido é um método muito empregado pela comunidade científica [28]. Estudos recentes relataram que este método é capaz de promover altos níveis de contato entre tecido ósseo mineralizado e implante [29], maiores valores de torque de remoção [30]. Este método de modificação proporciona uma morfologia de superfície complexa com alta molhabilidade, além de possuir um bom potencial osteocondutivo devido a melhor estabilização do coágulo sanguíneo [22,31].

Tendo em vista a importância da reabilitação protética oral para as funções do

sistema estomatognático, além dos motivos estéticos, e considerando que a população idosa mundial aumenta cada vez mais em função da alta da expectativa de vida, é preciso considerar quais métodos que possam garantir uma melhora da qualidade de vida. E dentro deste contexto, a implantodontia vem tentando solucionar deficiências encontradas com os tratamentos reabilitadores convencionais. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento biológico e mecânico do tecido ósseo ao redor de implantes em liga de  $Ti_6Al_4V$  instalados em tibia de coelhos com as superfícies: modificada por jateamento de óxido de alumínio seguido do condicionamento ácido e usinada.

*Objetivo*

**Objetivo**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a osseointegração, a topografia e o comportamento mecânico dos implantes ao redor de implantes em liga de Ti-6Al-4V instalados em tibia de coelhos com as superfícies: modificada por jateamento de oxido de alumínio seguido do condicionamento ácido e usinada.

# *Material e Métodos*

## Material e Métodos

### Cálculo da Amostra

Para esse experimento com animais, o cálculo da amostra foi baseado no coeficiente de estabilidade do implante (ISQ) e nos valores de torque de remoção do estudo piloto do autor (dados não publicados) anteriores ao início desse estudo. Para este propósito, foi determinado o torque de remoção como o resultado primário. Para essa variável, considerou-se 5% como diferença significativa (desvio padrão de 2%), poder de 80% e ajuste alfa em 0,05, cinco implantes por grupo foram necessários para comparar dois grupos diferentes, semelhante a estudos anteriores publicados [19,25,32-35].

### Animais e Grupos Experimentais

Para a realização deste trabalho foram utilizados 10 (dez) coelhos machos, adultos, variação *albinus*, fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, com aproximadamente 5 (cinco) meses de idade, peso em torno de 2.9 a 3.6 Kg, mantidos em gaiolas unitárias, ambiente climatizado, alimentados com ração sólida (Ração Procoelho, Primor) e água *ad libitum*, durante todo o experimento.

Este estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos para a Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP obtendo parecer favorável (FOA-00950-2013). Seguiu-se o delineamento de modelo animal, randomizado, prospectivo, controlado, seguindo todas as recomendações das diretrizes da ARRIVE guidelines [36].

Os animais foram enquadrados aleatoriamente em dois grupos experimentais de acordo com os tempos de análise:

**Superfície Usinada (MS)** - Os animais receberam implantes cilíndricos com conexão de hexágono externo, fabricados em liga de Ti-6Al-4V (ASTM F67) com dimensões de 4 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento de superfície usinada (Emfils, Novo Colosso, Itu, Brasil) instalados em osteotomia realizada na região medial da face lateral da tíbia após fresagem padronizada para implantodontia com 3,5 mm de diâmetro e 10

de profundidade.

**Superfície Modificada por Jateamento de Óxido de Alumínio seguido do Condicionamento Ácido (SBAS)** - Os animais receberam implantes cilíndricos com conexão de hexágono externo, fabricados em liga de Ti-6Al-4V (ASTM F67) com dimensões de 4 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento de superfície modificada por jateamento de  $Al_2O_3$  condicionamento ácido (Emfils, Novo Colosso, Itu, Brasil) instalados em osteotomia realizada na região medial da face lateral da tibia após fresagem padronizada para implantodontia com 3,5 mm de diâmetro e 10 de profundidade.

Os animais foram enquadrados em 2 (dois) períodos de avaliação: 3 e 6 semanas, compondo 5 (cinco) animais por período, e 5 implantes de cada superfície em cada período.

### **Caracterização Topográfica das Superfícies**

A topografia da superfície dos implantes foi analisada, previamente por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV modelo XL 30 TMP, FEG, Philips XL Series, com detector Oxford incaX-sight, Holanda, 97), acoplado ao sistema de espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDX), para análise qualitativa e quantitativa da composição química das superfícies.

Discos dessa liga de titânio foram usinados e modificados com a mesma superfície experimental. A rugosidade média (Ra) foi analisada em 5 discos de cada grupo por meio de um rugosímetro digital (Mitutoyo SJ-400, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, Brasil). Foram realizadas 10 mensurações em cada disco. Além disso, 2 discos foram seccionados e preparados para realização de análise em secção transversal, por MEV, para a determinação da espessura média de 10 pontos empregando-se o programa Image J (ImageJ – version 3.1j / NIH software). Estas análises foram realizadas de acordo com estudos prévios publicados [19,32,35].

Os implantes manufacturados em liga de Ti-6Al-4V com as superfícies usinada e modificada foram analisados por microscopia de força atômica (AFM) (AFM, Veeco Metrology Inc., Santa Bárbara, CA, EUA). As imagens obtidas foram capturadas através do microscópio e transportadas para um computador, e no programa NanoScope Analysis (2004 Veeco Instruments Inc., Santa Bárbara, CA, EUA), as imagens foram

inicialmente submetidas a filtros (lowpass e medium). Foram obtidas imagens em 3 dimensões (3D), e para facilitar a análise comparativa visual entre os grupos, foi utilizada uma escala padronizada do eixo z. Esta análise foi realizada de acordo com estudo prévio publicado [37].

### **Procedimento Cirúrgico**

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados de acordo com estudos prévios publicados [16,19,25,32,37]. Os animais foram mantidos em jejum oito horas antes do procedimento cirúrgico. Para todos os procedimentos cirúrgicos foi realizada anestesia geral por infiltração intramuscular de 50mg/kg de cloridrato de ketamina (Vetaset, Fort Dodge, Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) e 5 mg/kg de cloridrato de xilazina (Dopaser, Laboratório Calier do Brasil Ltda, Osasco, São Paulo, Brasil), além da complementação anestésica na região a ser operada com a infiltração de 0.3 ml/Kg de cloridrato de mepivacaína (Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000, Septodont, França).

A região anterior das tíbias direita e esquerda foram tricotomizadas e posteriormente realizada a antissepsia pré-operatória com Polivinil Pirrolidona Iodo degermante (PVP-I 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil), associado ao PVPI tópico.

O acesso cirúrgico foi realizado através de uma incisão dermo-periosteal por meio de uma lâmina de bisturi n. 15 (Feather, Feather Safety, Japão) montada em cabo de bisturi n. 3 (Hu-Friedy, Alemanha) na margem anterior das tíbias direita e esquerda, iniciada a um centímetro abaixo da articulação tíbio-femural, medindo aproximadamente 3 (três) centímetros de comprimento. Após incisão o retalho foi deslocado, com conseqüente exposição proximal da face lateral da tíbia, local de eleição para a osteotomia.

Após a exposição da face lateral das tíbias direita e esquerda foi realizada uma osteotomia de 3,5mm de diâmetro e 10mm de comprimento. O preparo do leito receptor do implante iniciou-se com a broca em forma de lança, para romper a cortical óssea. Em seguida foram utilizadas as fresas helicoidais escalonadas de 2.0/2.5mm, 2,5mm/2.8, 2,8/3.2mm, 3.2/3.5mm e 3,5/3.8mm (Emfils, Novo Colosso, Itu, São Paulo, Brasil), montadas em contra ângulo redutor 20:1 (Kavo do Brasil, Joinville, Santa Catarina,

Brasil), acoplado em motor elétrico (Kavo do Brasil, Joinville, Santa Catarina, Brasil), a uma velocidade de 1600 rpm, sob irrigação constante de solução fisiológica a 0.9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil).

Os implantes foram instalados por meio de chave motor de torque interno para conexão de hexágono externo (Emfils, Novo Colosso, Itu, São Paulo, Brasil) que foi encaixada no módulo de rebordo do implante, montada em contra ângulo redutor 20:1 acoplado ao motor elétrico numa velocidade de 18 rpm, e torque fixo de 40 N/cm, sob irrigação constante de solução fisiológica a 0.9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil). Foi instalado aleatoriamente um implante de cada superfície em cada tíbia do animal. O implante foi inserido até que o módulo de rebordo assente na camada cortical externa da região proximal da face lateral da tíbia. No ato cirúrgico foi mensurado o coeficiente de estabilidade do implante por meio de medidas de pulsos de frequência de ressonância em aparelho específico (Ostell® Instrument, Integration Diagnostics AB, Gotemburgo, Suécia). As mensurações foram realizadas seguindo os eixos lateral, medial, proximal e distal a articulação tíbiofemoral. Após mensuração foi colocado o parafuso de cobertura para proteção do módulo de rebordo.

No pós-cirúrgico foi administrado via oral diluído em água 3mg/kg/ de cetoprofeno (Cetoprofeno, Sanofi, São Paulo, Brasil) associado a 5mg/kg de Cloridrato de tramadol (Cronidor, Agener União Química, São Paulo, Brasil) durante 3 (três) dias. Foi administrado também por via intramuscular 10 mg/kg de enrofloxacina (Enrofloxacino, Venco, Londrina, Paraná, Brasil) e 5 mg/kg de cloridrato de doxiciclina (Doxiciclina, Venco, Londrina, Paraná, Brasil) durante 7 (sete) dias.

O tecido mole foi reposicionado e suturado por planos. A sutura muscular foi realizada com fio absorvível de poligalactina 910 (Vicryl 5.0, Ethicon, Jhonson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil). No plano cutâneo a sutura foi realizada com fio de nylon 5.0 (Ethicon, Jhonson, São José dos Campos, São Paulo, Brasil). Após a sutura foi novamente realizada a antissepsia da área com Polivinil Pirrolidona Iodo Tópico (PVP-I 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil).

### **Eutanásia e Coleta do Material**

Os animais nos períodos de 3 e 6 semanas foram mantidos em jejum por oito

horas antes do procedimento de eutanásia. Para tal foi realizada anestesia geral por infiltração intramuscular de 50mg/kg de cloridrato de ketamina e 5 mg/kg de cloridrato de xilazina, além da complementação por anestesia local nas tíbias, com infiltração de 0,3 l/kg de cloridrato de mepivacaína (Scadicaine 2% com adrenalina 1:100.000, Septodont, França). Após anestesia foram feitas novas medidas de frequência por ressonância. Em seguida os animais foram submetidos à eutanásia por meio da administração intraperitoneal (IP) de 150 mg/kg de tiopental sódico (Thiopentax, Cristália Prod Quím Farm Ltda, São Paulo, Brasil) associado a 10mg/mL de lidocaína (cloridrato de lidocaína 2%, Novafarma, Indústria Farmacêutica Ltda, Anápolis, Goiás, Brasil). Após a eutanásia as tíbias direita e esquerda foram removidas, o tecido mole excedente eliminado, e a pós-fixação foi realizada em solução de paraformaldeído 4% durante um período de 6 horas.

### **Obtenções das lâminas em corte de tecido calcificado**

O processamento histológico para obtenção das lâminas em corte de tecido calcificado foi realizada conforme estudos prévios [19,32]. As amostras teciduais provenientes das tíbias direita e esquerda, contendo o implante foram removidas e colocadas em formalina neutra tamponada a 10% por um período de 72h. Em seguida foi realizada a desidratação dessas peças em concentrações crescentes de álcoois (etanol 60-100%) e posteriormente, infiltração em resina fotopolimerizável (Technovit 7200 VLC, Kultzer Heraeus GmbH & Co, Wehrheim, Alemanha). Os blocos contendo implante e tecido ósseo periimplantar foram cortados em um ponto central, empregando-se um micrótomo com sistema de corte e desgaste (Exakt Apparatebau, Hamburgo, Alemanha). As lâminas obtidas apresentaram espessura de aproximadamente 50 µm e foram coradas pelo azul de Estevenel e fucsina ácida.

### **Forma de análise dos resultados**

#### **Análise de Frequência por Ressonância**

Foram realizadas quatro medidas de frequência por ressonância em cada implante utilizando-se o aparelho medidor de frequência por ressonância Osstell®, seguindo os padrões previamente descritos. As medidas foram realizadas imediatamente

após a instalação dos implantes (trans-cirúrgico) e após os períodos de 3 e 6 semanas, em que foi realizada reabertura após a anestesia prévia a eutanásia. Esta análise foi realizada de acordo com estudo prévio publicado [34].

#### Análise Histométrica

As imagens foram analisadas em microscópio óptico (Leica Reichert & Jung products, Alemanha) e capturadas por meio de uma câmera fotográfica digital (Leica Aristoplan, Alemanha), com resolução de 1.3 megapixels, acoplada ao microscópio de luz comum e ao computador.

As análises histométricas foram realizadas por meio do software de análise de imagens ImageJ, (ImageJ, version 3.1j, NIH software, EUA). Foram calculadas, em porcentagem, a extensão linear de contato entre ósseo mineralizado e implante (ELCOMI) e a área de tecido ósseo neoformada presente (AON) entre as 3 espiras mais cervicais, localizadas em osso cortical em cada lado do implante. Esta análise foi realizada de acordo com estudos prévios publicados [19,32,34].

#### Análise Estatística

Os valores em porcentagem da ELCOMI e AON obtidos na análise histométrica, biomecânica, rugosidade média e secção transversal foram levados ao teste de homogeneidade para verificação da distribuição empregando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov. Após, foram comparados por meio da análise de variância (ANOVA one-way) e do teste de comparações múltiplas de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## *Resultados*

## Resultados

### Análise da caracterização topográfica de superfície

A microscopia eletrônica de varredura das superfícies analisadas demonstrou diferenças topográficas entre elas. A MS apresentou topografia de superfície lisa, contaminadas com restos de usinagem (Fig1a,1b,1c), enquanto a SBAS apresentou topografia com padrão morfológico de picos e vales de diferentes profundidades e tamanho (Fig2a,2b,2c). A análise por EDX não revelou qualquer contaminação das superfícies analisadas, e mostrou picos de Ti, Al e V para as MS (Fig1d) e Ti, Al, V e O para SBAS (Fig2d). Para o grupo SBAS, a média dos valores atômicos em porcentagem foi de 31.56, 53.39, 12.90 e 2.15 para O, Ti, Al e V respectivamente, enquanto para o grupo MS a média dos valores atômicos foi de 90.48, 5.83 e 3.69 para Ti, Al e V respectivamente.

A análise de rugosidade média ( $R_a$ ) revelou diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) entre a rugosidade dos discos do grupo experimental SBAS ( $R_a = 1,11 \pm 0,16 \mu\text{m}$ ) quando comparado aos discos do grupo experimental MS ( $R_a = 0,46 \pm 0,14 \mu\text{m}$ ) (Fig3).

A análise da secção transversal demonstrou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores de espessura média dos discos do grupo experimental MS ( $0,43 \mu\text{m}$ ) quando comparados aos do grupo experimental SBAS ( $2 \mu\text{m}$ ) (Fig4).

A análise por microscopia de força atômica (AFM) das superfícies dos implantes demonstrou alterações na superfície do grupo experimental SBAS semelhantes a picos e vales de diferentes profundidades e tamanhos, assim como observado na análise por MEV. Já no grupo MS foi observada superfície lisa com presença de padrão morfológico de superfície maquinada. Em alguns pontos pode-se observar presença de restos de usinagem (Fig5).

### Análise de frequência por ressonância

Os valores médios de ISQ e desvio padrão no grupo MS foram  $48,17 \pm 2,9$ ,  $51,65 \pm 2,3$  e  $52 \pm 2$  nos intervalos de tempo de 0, 3 e 6 semanas respectivamente, enquanto que para o grupo SBAS as medidas de frequência de ressonância média foram de  $50 \pm 2$ ,  $53,5 \pm 1,9$  e  $54,75 \pm 0,8$  ISQ nos mesmos intervalos de tempo,

respectivamente. No geral, valores em ISQ estatisticamente superiores foram observados no grupo SBAS quando comparados ao grupo MS ( $p=0,012$ ). No grupo SBAS houve uma diferença estatisticamente significativa nos valores do ISQ entre 0 e 3 semanas ( $p=0,032$ ) e entre 0 e 6 semanas ( $p=0,003$ ) (Fig6).

### **Análise Histométrica**

Os valores médios em porcentagem da ELCOMI para SBAS foram de 69,65 e 71,56 respectivamente para 3 e 6 semanas, enquanto para MS os valores médios foram de 54,06 e 55,99 respectivamente para os mesmos períodos. Os valores médios de AON para o grupo SBAS foram de 69,85 e 79,6 para os períodos de 3 e 6 semanas, enquanto para MS os valores médios foram de 59,59 e 74,32 respectivamente nos mesmos grupos.

Os valores médios de ECOLMI dos implantes SBAS foram estatisticamente superiores ( $p<0,05$ ) quando comparados aos implantes MS nos períodos de 3 e 6 semanas (Fig7). Os valores médios de AON dos implantes SBAS no período de 3 semanas apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ) quando comparado aos implantes MS, enquanto que no período de 6 semanas essa diferença não foi observada (Fig8).

Pela análise qualitativa observou-se que o grupo MS apresentou uma maior área de tecido conjuntivo imaturo (corado pelo azul de Estevenel) no período de 3 semanas quando comparado ao grupo SBAS. Ambos os grupos no período de 3 semanas apresentaram uma menor extensão de contato entre superfície do implante e tecido ósseo quando comparado aos períodos mais tardios. No período de 6 semanas notou-se um padrão ósseo mais maduro para MS e SBAS quando comparado ao período anterior, mesmo havendo algumas áreas de tecido conjuntivo não mineralizado entre o tecido ósseo (Fig9).

*Discussão*

## Discussão

As ligas de titânio vêm sendo amplamente utilizadas em implantes dentários [38,39] e ortopédicos [40,41]. Neste estudo os implantes utilizados foram fabricados em liga de Ti-6Al-4V (ASTM F67), ou seja, liga de titânio grau V. Trabalhos prévios publicados [38,39] compararam as respostas biológicas entre a liga de TiAlV e o titânio comercialmente puro (Ti-cp) e encontraram resultados superiores nas análises torque de remoção e cisalhamento para o grupo de implantes manufaturados em liga de Ti-cp quando comparado aos implantes do grupo manufaturado em TiAlV. Com os resultados obtidos em estudos anteriores citados acima pode-se dizer que na medida em que se melhoram as propriedades mecânicas do implante perde-se em respostas biológicas [21,38-40]. No entanto, têm sido crescentes os relatos na literatura de fratura de implantes fabricados em Ti-cp [42,43], fazendo com que os implantes dentários venham sendo confeccionados em liga de titânio. Neste sentido a modificação de superfície faz-se indispensável para aprimorar as respostas biológicas das ligas de titânio.

As estratégias para modificação da superfície de implantes podem ser classificadas em métodos de adição, subtração e mistas [25]. Trabalhos prévios a este compararam a superfície usinada com as superfícies modificadas por métodos de adição [4] e subtração [19,25,44]. Estes trabalhos mostraram que a modificação da superfície do implante foi um avanço para a implantodontia, uma vez que foi observado o aumento da porcentagem de contato de tecido ósseo na interface [19,45], diminuição do período de osseointegração [25,46,47], e melhora do processo de reparação em áreas de baixa densidade óssea quando comparado aos implantes de superfície usinada [45]. Resultado semelhante foi encontrado neste trabalho em que implantes com superfície modificada por jateamento de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> seguido do condicionamento ácido (SBAS) proporcionaram valores de frequência por ressonância e ELCOMI estatisticamente superiores ( $p < 0.05$ ) quando comparados a implantes de superfície usinada (MS). Isto demonstra que os implantes de superfície usinada são dependentes do tempo de reparação [45].

Tem existido na literatura científica uma preocupação com a utilização de alumínio no manufaturamento de implantes dentários, devido aos íons liberados no processo de degradação que através do transporte hematógeno podem alcançar tecidos distantes [48,49]. Em um estudo experimental em que implantes dentários confeccionados com liga de TiAlV foram instalados em coelhos, os autores encontraram

alumínio no cérebro, rins e baço dos animais [49]. O alumínio pode estar associado à osteomalácia, granulomatose pulmonar e neurotoxicidade [50]. Entretanto, outros autores [51,52] afirmaram que a presença desse íon nos fluidos corporais e tecidos apresenta-se em níveis muito baixos para acarretar quaisquer efeitos tóxicos. Nesse estudo foi observado que o grupo experimental SBAS apresentou valores atômicos de alumínio em porcentagem superiores ao grupo experimental MS, o que evidenciou que a modificação de superfície por jateamento com óxido de alumínio tem o efeito indesejado da permanência de resíduos do íon alumínio após o processo de jateamento, quando comparados aos implantes de superfície usinada.

Em estudos prévios publicados [53,54] que empregaram a técnica de MEV-EDX para avaliar a superfície de implantes modificados por jateamento seguido de condicionamento ácido indicaram que o ataque ácido tem sido empregado como técnica complementar ao jateamento, devido ao fato de promover uma certa homogeneização dos defeitos causados pelo processo de jateamento, através da remoção das partículas residuais do material do jateamento na superfície e pela criação secundária de micro poros. Esta manobra confere melhores propriedades à superfície. Característica topográfica semelhante foi observada nas análises realizadas por MEV e microscopia de força atômica nos implantes desse estudo experimental, em que foi possível observar a presença de picos e vales, apresentando diferentes profundidades no grupo SBAS, padrão semelhante às superfícies modificadas pelo processo de subtração.

A literatura tem mostrado que implantes manufaturados em Ti-cp apresentam respostas biológicas superiores quando comparados aos implantes manufaturados em TiAlV [38,39]. No entanto, quando se compara os resultados biológicos obtidos neste trabalho (ELCOMI e AON) com resultados de trabalhos prévios publicados deste grupo com metodologia semelhante que empregaram implantes manufaturados em Ti-cp e superfície usinada e modificada por duplo condicionamento ácido [19,32,34], os resultados foram semelhantes. Este fato pode ser explicado pelo desenho dos implantes empregados neste estudo com roscas trapezoidais. Este desenho de implante proporciona durante o processo de reparo as câmaras de cicatrização entre as roscas, tanto no ápice como ao longo do corpo do implante. Essa macrogeometria cria condições para que a modificação de superfície inicie seu mecanismo de ação já nos momentos iniciais do processo de reparo. As câmaras existentes entre as roscas acarretam numa região com menos pressão em contato com o tecido ósseo e

consequentemente ocorre uma menor reabsorção, acarretando em uma cicatrização híbrida [55]. Vale ressaltar que na região das roscas onde há pressão ocorre o processo de reabsorção. Estudos prévios a este [55,56] em que implantes com macroestrutura semelhante foram utilizados mostraram formação óssea lamelar no interior das câmaras de cicatrização e favorecimento da deposição óssea na interface osso/implante logo nos períodos iniciais. Entretanto, vale ressaltar que neste trabalho experimental não foi avaliado o processo de reparo em períodos mais iniciais para observar o início da deposição óssea na região da câmara de cicatrização.

Em geral os mecanismos de ancoragem dos implantes podem ser divididos em: mecanismos biomecânicos e bioquímicos. Os implantes usinados são classificados como implantes de mecanismo biomecânico, devido ao fato de permanecerem ancorados através da capacidade que o tecido ósseo apresenta em adentrar as pequenas irregularidades presentes na sua superfície. Os implantes classificados como de rugosidade moderada, assim como o implante modificado por jateamento seguido de condicionamento ácido, favorecem a formação óssea e apresentam mecanismo do tipo bioquímico [57]. Revisão de literatura previamente publicada [58] apontou fatores correlacionados à rugosidade superficial do implante e a reposta biológica, sendo eles: aumento da área de contato da superfície do implante, favorecimento da adesão celular à superfície do implante, aumento da quantidade de tecido ósseo com a superfície do implante, aumento da interação biomecânica do osso com implante. Como efeito indesejado pode ocorrer inflamação da mucosa periimplantar, caso a superfície rugosa for exposta ao meio bucal. Indo ao encontro dessas afirmações é possível considerar que a rugosidade de superfície é diretamente proporcional à área e ao perímetro ósseo em contato com a superfície do implante, corroborando com os resultados deste estudo em que SBAS demonstrou valores superiores de rugosidade média (Ra), medidas de espessura em secção transversal, extensão linear de contato entre osso e implante (ELCOMI) e de área óssea neoformada (AON) nos dois períodos avaliados quando comparados a superfície usinada.

O jateamento com  $AL_2O_3$  torna a superfície dos implantes hidrofílica e rugosa devido às trocas iônicas que alteram a composição química da sua superfície, atraindo um grande número de células osteoblásticas quando em contato com o osso [59]. Em estudo prévio publicado [29] que avaliou amostras histológicas de implantes com superfície modificada por jateamento encontrou uma melhor adesão, proliferação e

diferenciação de osteoblastos, fato que pode ser corroborado pelos resultados encontrados na análise histométrica realizada neste estudo experimental. No entanto, ressalta-se que a adesão dos fibroblastos é mais eficaz e ocorre com maior facilidade nas superfícies lisas [29].

É de grande relevância salientar que através de comparações por análises científicas não é possível afirmar que determinada topografia possui melhores resultados que outra. Sendo que na maioria das vezes o sucesso do caso será determinado pelo planejamento, tratamento, desenho protético e cooperação do paciente [60]. Entretanto, estudos experimentais como este são importantes no que diz respeito ao conhecimento das características dos implantes disponíveis comercialmente ou em desenvolvimento, a fim de possibilitar ao profissional realizar uma indicação e um planejamento adequados para cada caso.

*Conclusão*

**Conclusão**

Diante dos resultados obtidos conclui-se que a modificação da superfície por jateamento de óxido de alumínio em implantes manufaturados em liga de Ti-6Al-4V proporcionou alterações morfológicas na superfície, possibilitando uma otimização dos períodos iniciais de osseointegração.

## *Referências*

## Referências

1. Berglundh, T., I. Abrahamsson and J. Lindhe (2005). Bone reactions to longstanding functional load at implants: an experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* 32(9): 925-932.
2. Brånemark, P.-I., U. Breine, R. Adell, B. Hansson, J. Lindström and Å. Ohlsson (1969). Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery* 3(2): 81-100.
3. Leventhal, G. S. (1951). Titanium, a metal for surgery. *J Bone Joint Surg Am* 33(2): 473-474.
4. Carvalho P and Ponzoni D (2002). Aspectos biológicos da osseointegração. Gomes, LA. *Implantes osseointegrados: técnica e arte*. Sao Paulo.
5. Zarb, G. and A. Schmitt (1991). Osseointegration and the edentulous predicament. The 10-year-old Toronto study. *British dental journal* 170(12): 439-444.
6. Wang, R. R. and A. Fenton (1996). Titanium for prosthodontic applications: a review of the literature. *Quintessence international* 27(6).
7. Park, J. Y. and J. E. Davies (2000). Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clinical oral implants research* 11(6): 530-539.
8. Albrektsson, T., P.-I. Brånemark, H.-A. Hansson and J. Lindström (1981). Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 52(2): 155-170.
9. Gittens, R. A., R. Olivares-Navarrete, T. McLachlan, Y. Cai, S. L. Hyzy, J. M. Schneider, Z. Schwartz, K. H. Sandhage and B. D. Boyan (2012). Differential responses of osteoblast lineage cells to nanotopographically-modified, microroughened titanium–aluminum–vanadium alloy surfaces. *Biomaterials* 33(35): 8986-8994.
10. Choudhury, D., J. M. Lackner, L. Major, T. Morita, Y. Sawae, A. B. Mamat, I. Stavness, C. K. Roy and I. Krupka (2016). Improved wear resistance of functional diamond like carbon coated Ti–6Al–4V alloys in an edge loading conditions. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 59: 586-595.
11. Niinomi, M. (2008). Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 1(1): 30-42.
12. Pérez-Pevida, E., A. Brizuela-Velasco, D. Chávarri-Prado, A. Jiménez-Garrudo, F. Sánchez-Lasheras, E. Solaberrieta-Méndez, M. Diéguez-Pereira, F. J. Fernández-González, B. Dehesa-Ibarra and F. Monticelli (2016). Biomechanical Consequences of

the Elastic Properties of Dental Implant Alloys on the Supporting Bone: Finite Element Analysis. *BioMed Research International* 2016.

13. Elias, C., J. H. Lima, R. Valiev and M. Meyers (2008). Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM Journal of the Minerals, Metals and Materials Society* 60(3): 46-49.

14. Elias, C. N. and L. Meirelles (2010). Improving osseointegration of dental implants. *Expert review of medical devices* 7(2): 241-256.

15. Mericske-Stern, R. and M. Dent (2008). Stability measurements of 1-stage implants in the edentulous mandible by means of resonance frequency analysis.

16. Faeda, R. S., H. S. Tavares, R. Sartori, A. C. Guastaldi and E. Marcantonio Jr (2009). Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias. *Brazilian oral research* 23(2): 137-143.

17. Xavier, S. P., P. S. Carvalho, M. M. Beloti and A. L. Rosa (2003). Response of rat bone marrow cells to commercially pure titanium submitted to different surface treatments. *Journal of dentistry* 31(3): 173-180.

18. Qahash, M., W. R. Hardwick, M. D. Rohrer, J. M. Wozney and U. M. Wikesjö (2007). Surface-etching enhances titanium implant osseointegration in newly formed (rhBMP-2-induced) and native bone. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 22(3):

19. Souza, F. A., T. P. Queiroz, C. K. Sonoda, R. Okamoto, R. Margonar, A. C. Guastaldi, R. S. Nishioka and I. R. Garcia Junior (2014). Histometric analysis and topographic characterization of cp Ti implants with surfaces modified by laser with and without silica deposition. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 102(8): 1677-1688.

20. Klokkevold, P. R., R. D. Nishimura, M. Adachi and A. Caputo (1997). Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. *Clinical oral implants research* 8(6): 442-447.

21. Buser, D., R. Schenk, S. Steinemann, J. Fiorellini, C. Fox and H. Stich (1991). Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal of biomedical materials research* 25(7): 889-902.

22. Huang, Y. H., A. V. Xiropaidis, R. G. Sorensen, J. M. Albandar, J. Hall and U. M. Wikesjö (2005). Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite™) oral implants in

type IV bone. *Clinical oral implants research* 16(1): 105-111.

23. Lima, L. A., A. M. Fuchs-Wehrle, N. P. Lang, C. H. Hämmerle, E. Liberti, E. Pompeu and J. H. Todescan (2003). Surface characteristics of implants influence their bone integration after simultaneous placement of implant and GBR membrane. *Clinical oral implants research* 14(6): 669-679.

24. Uehara, T., K. Takaoka and K. Ito (2004). Histological evidence of osseointegration in human retrieved fractured hydroxyapatite-coated screw-type implants: a case report. *Clinical oral implants research* 15(5): 540-545.

25. Souza, F. A., T. P. Queiroz, A. C. Guastaldi, I. R. Garcia-Júnior, O. Magro-Filho, R. S. Nishioka, K. E. Sisti and C. K. Sonoda (2013). Comparative in vivo study of commercially pure Ti implants with surfaces modified by laser with and without silicate deposition: biomechanical and scanning electron microscopy analysis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 101(1): 76-84.

26. Queiroz, A. C., J. D. Santos, R. Vilar, S. Eugénio and F. J. Monteiro (2004). Laser surface modification of hydroxyapatite and glass-reinforced hydroxyapatite. *Biomaterials* 25(19): 4607-4614.

27. Le Guéhennec, L., A. Soueidan, P. Layrolle and Y. Amouriq (2007). Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental materials* 23(7): 844-854.

28. Wennerberg, A., T. Albrektsson, B. Andersson and J. Krol (1995). A histomorphometric study of screw-shaped and removal torque titanium implants with three different surface topographies. *Clinical oral implants research* 6(1): 24-30.

29. Yeo, I.-S. (2014). Reality of Dental Implant Surface Modification: A Short Literature. *Open Biomedical Engineering Journal* 8: 114-119.

30. Stanford, C. M. (2002). Surface modifications of implants. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 14(1): 39-51.

31. Lee, H., J. Rho and P. B. Messersmith (2009). Facile conjugation of biomolecules onto surfaces via mussel adhesive protein inspired coatings. *Advanced Materials* 21(4): 431-434.

32. Queiroz TP, de Molon RS, Souza FÁ, Margonar R, Thomazini AH, Guastaldi AC, Hochuli-Vieira E (2017). In vivo evaluation of cp Ti implants with modified surfaces by laser beam with and without hydroxyapatite chemical deposition and without and with

thermal treatment: topographic characterization and histomorphometric analysis in rabbits. *Clin Oral Investig* 21(2):685-699.

33. Souza FA, Furtado TSM, Dayube URC, Melo WM, Nishioka RS, Poli PP, Maiorana C, Carvalho PSP. Comparative in vivo study of alloy titanium implants with two different surfaces: biomechanical and SEM analysis. *Clinical Oral Investigations*. 2018 (no prelo – few revision).

34. Sisti KE, de Andrés MC, Johnston D, Almeida- Filho E, Guastaldi AC, Oreffo ROC. Skeletal stem cell and bone implant interactions are enhanced by LASER titanium modification. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2016; 473(3): 719-725.

35. Queiroz TP, Souza FA, Guastaldi AC, Margonar R, Garcia- Juúnior IR, Hochuli-Vieira E (2013). Commercially pure titanium implants with surfaces modified by laser beam with and without chemical deposition of apatite. Biomechanical and topographical analysis in rabbits. *Clin Oral Implants Res* 24(8):896-903.

36. Kilkeny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2012) Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *Osteoarthritis Cartilage* 20:256-260

37. Faverani LP, Assunção WG, De Carvalho PSP, Yuan JCC, Sukotjo C, Mathew MT, Barao VA (2014). Effects of dextrose and lipopolysaccharide on the corrosion behavior of a Ti-6Al-4V alloy with a smooth surface or treated with double-acid-etching. *PloS one* 9(3): e93377.

38. Han CH, Johansson Cb, Wennerberg A, Albrektsson T (1998). Quantitative and qualitative investigations of surface enlarged titanium and titanium alloy implants. *Clin Oral Implants Res* 9(1):1-10.

39. Stenport VF, Johansson C (2008). Evaluations of bone tissue integration to pure and alloyed titanium implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 10(3):191-9.

40. Niinomi M, Nakai M, Hieda J (2012). Development of new metallic alloys for biomedical applications. *Acta Biomaterials* 8:3888-3903.

41. Li Y, Jiao Y, Li X, Guo Z (2015). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. BBRC 460:151-6.

42. Beier US, Strobl H, Dhima M (2014) Correction of esthetic and biomechanical outcomes after maxillary anterior single dental implant fracture: a case report. *Compend Contin Educ Dent* 35:e1-5

43. Marcelo CG, Filie Haddad M, Gennari Filho H, Marcelo Ribeiro Villa L, Dos Santos DM, Aldieris AP (2014) Dental implant fractures - aetiology, treatment and case report. *J Clin Diagn Res* 8:300-304
44. Marinho V, Celletti R, Bracchetti G, Petrone G, Minkin C, Piatelli A. A (2003). Sandblasted and acid-etched dental implants: A Histologic Study in Rats. *J Oral Maxillofac Implant* 18(1):75-81.
45. Klokkevold PR, Jhonson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD (2001). Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 12(4):350-7.
46. Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte LP (1998). Removal torque values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 13(5):611-9.
47. Shalabi M, Wolki JGC, Jansen AJ (2016). The effects of implant surface roughness and surgical technique on implant fixation in an in vitro model. *Clin Oral Implants Res* 17(2):172-8.
48. Piatelli A, Degibi M, Paolantonio M, Mangano C, Scarano A (2003). Residual aluminum oxide on the surface of titanium implants has no effect on osseointegration. *Biomaterials* 24:4081-9.
49. Lugowski SJ, Smith DC, McHugh AD, Van Loon JC (1991). Release of metal ions from dental implant materials in vivo: determination of Al, Co, Cr, Mo, Ni, V, and Ti in organ tissue. *Journal of biomedical materials research*, 25(12), 1443-1458.
50. Marquis JK, Judith JK (1982). Aluminum neurotoxicity: an experimental perspective. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 29(1), 43-49.
51. Smith DC, Lugowski S, McHugh A, Deporter D, Watson PA, Chipman M (1997). Systemic metal ion levels in dental implant patients. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 12(6).
52. Wennerberg A, Ektessabi A, Albrektsson T, Johansson C, Andersson B (1997). A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 12(4).
53. Liu, X.; Chu, P.K.; Ding, C (2004). Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports* 27(3-4):.49-121.

54. Guéhenec, L. L.; et al (2006). Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental Materials* 23(7):844-854.
55. Coelho PG, Suzuki M, Guimaraes MV, Marin C, Granato R, Gil JN et al. Early Bone healing around different implant bulk designs and surgical techniques: a study in dogs. *Clin Implant Dent Related Res.* 2009:1-7.
56. Marin C, Granato R, Suzuki M, Gil JN, Janal MN, Coelho PG. Histomorphologic and histomorphometric evaluation of various endosseous implant healing chamber configurations at early implantation times: a study in dogs. *Clin Oral Impl Res.* 2010;21:577-83.
57. Wennerberg A, Albrektsson T (2000). Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15(3):331-444.
58. Cooper LFA (2000). A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosthet Dent Saint Louis* 84(5): 522-534.
59. Shemtov-Yona, K., Rittel, D., Machtei, E. E., & Levin, L. (2014). Effect of Dental Implant Diameter on Fatigue Performance. Part II: Failure Analysis. *Clinical implant dentistry and related research*, 16(2), 178-184.
60. Ogle OE (2015). Implant Surface Material, Design, and Osseointegration. *Dental clinics of North America* 59(2): 505-520.

*Figuras*

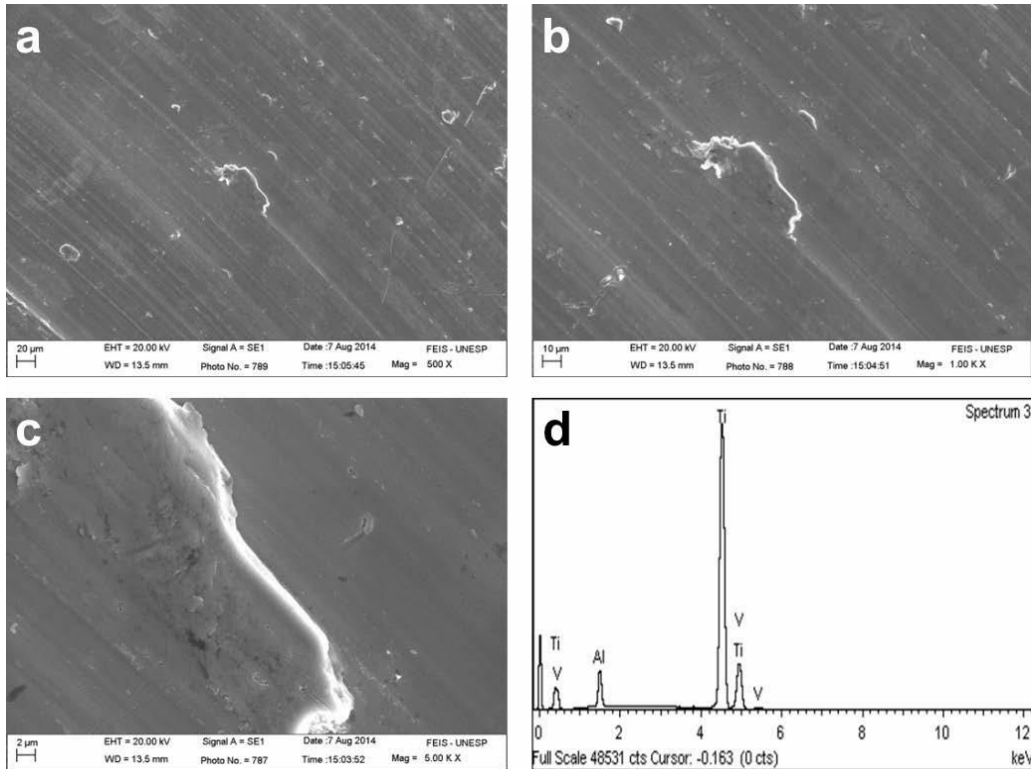


Fig1. Imagens obtidas por MEV-EDX do implante do grupo experimental MS. Observa-se superfície lisa apresentando sujidades da usinagem. Os elementos encontrados foram titânio, alumínio e vanádio.

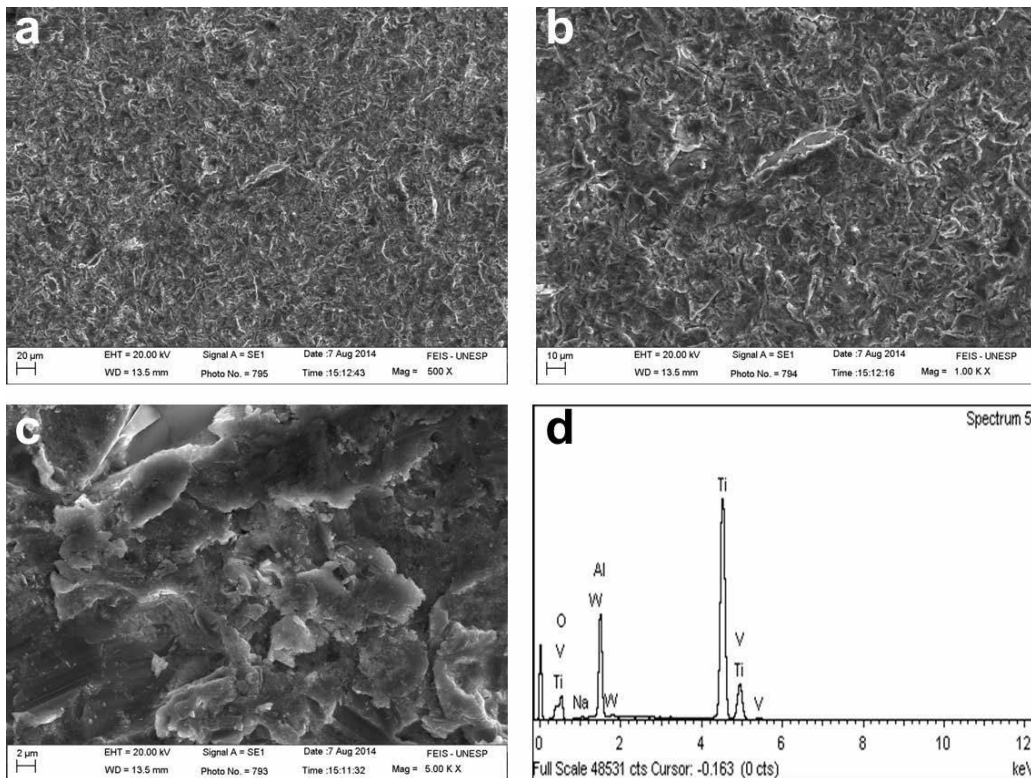


Fig2. Imagens obtidas por MEV-EDX do implante do grupo experimental SBAS. Observa-se superfície com presença de picos e vales de diferentes profundidades. Os elementos encontrados foram titânio, alumínio, vanádio e oxigênio.

## Rugosidade média

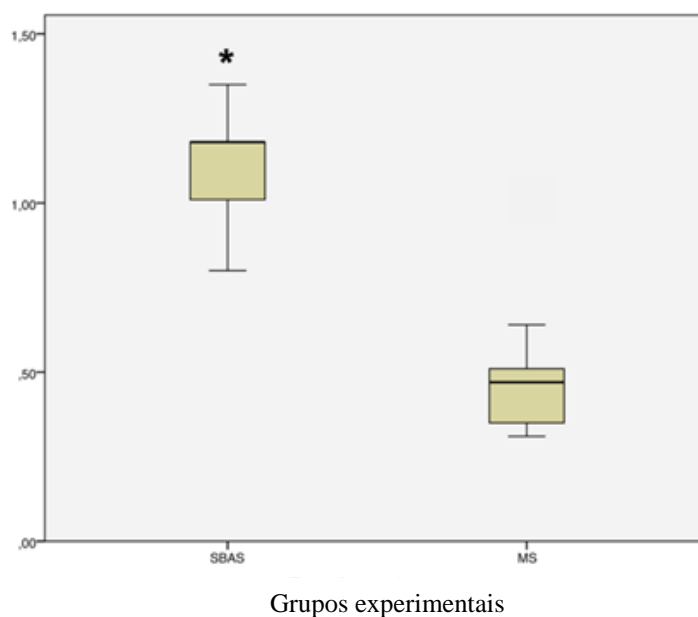


Fig3. Gráfico com valores de rugosidade média (Ra) e desvio padrão para os grupos experimentais SBAS e MS.

\*indica diferença estatisticamente significativa.

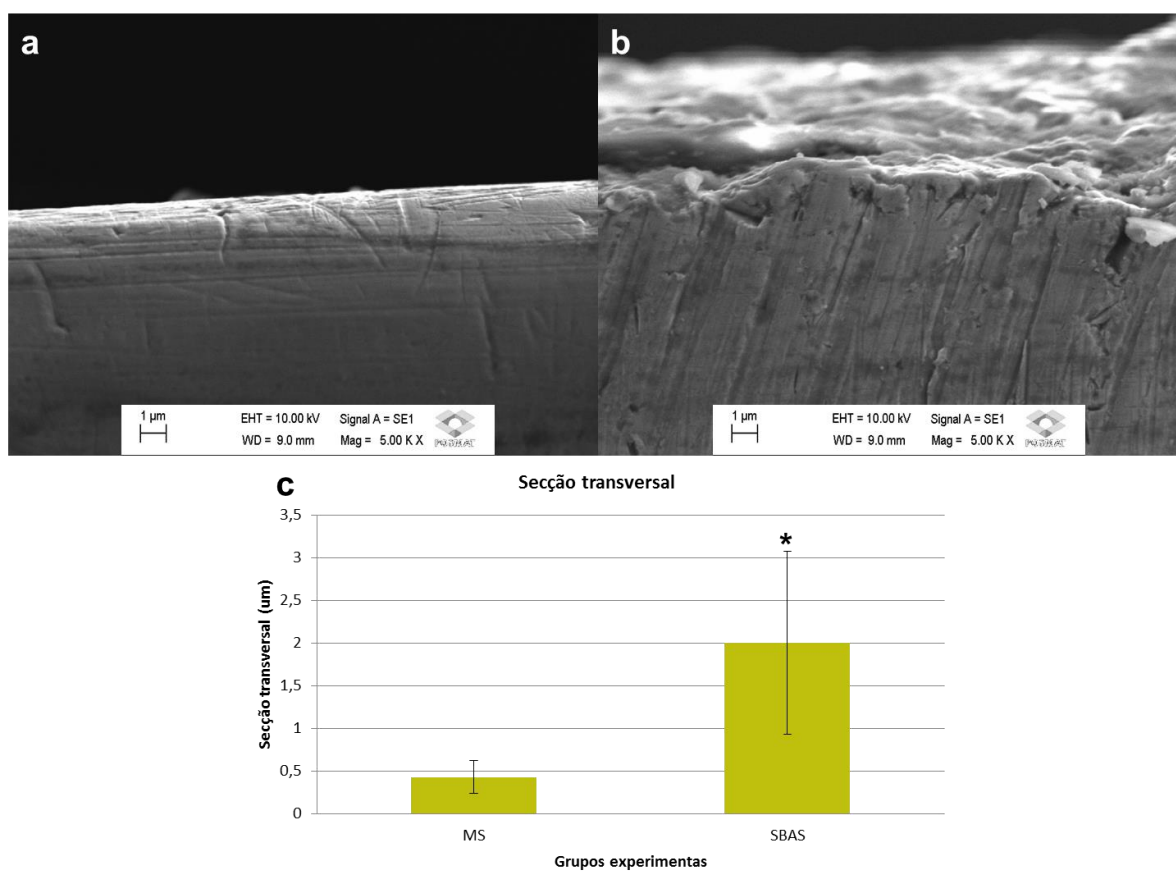


Fig4. Imagens de secção transversal obtidas por MEV do grupo experimental MS (a) e SBAS (b). Gráfico com valores de secção transversal e desvio padrão para ambos os grupos experimentais (c).

\*indica diferença estatisticamente significativa.

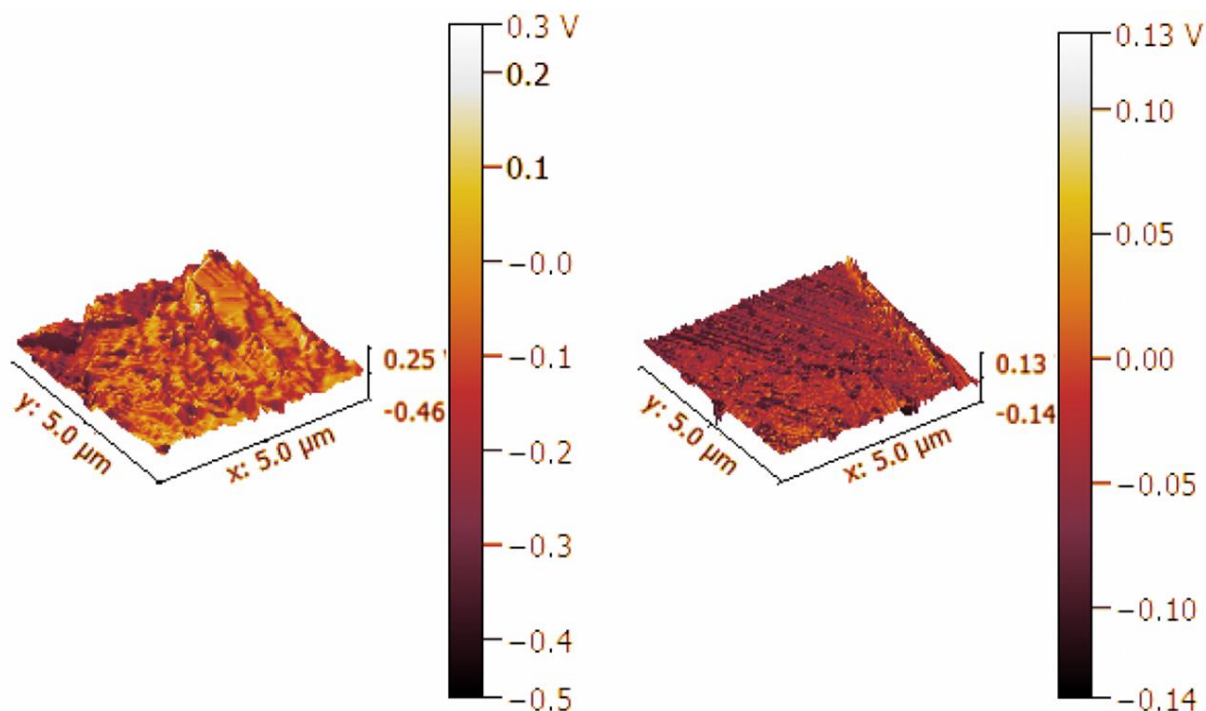


Fig5. Imagens de microscopia de força atômica para os grupos experimentais SBAS (a) e MS (b).

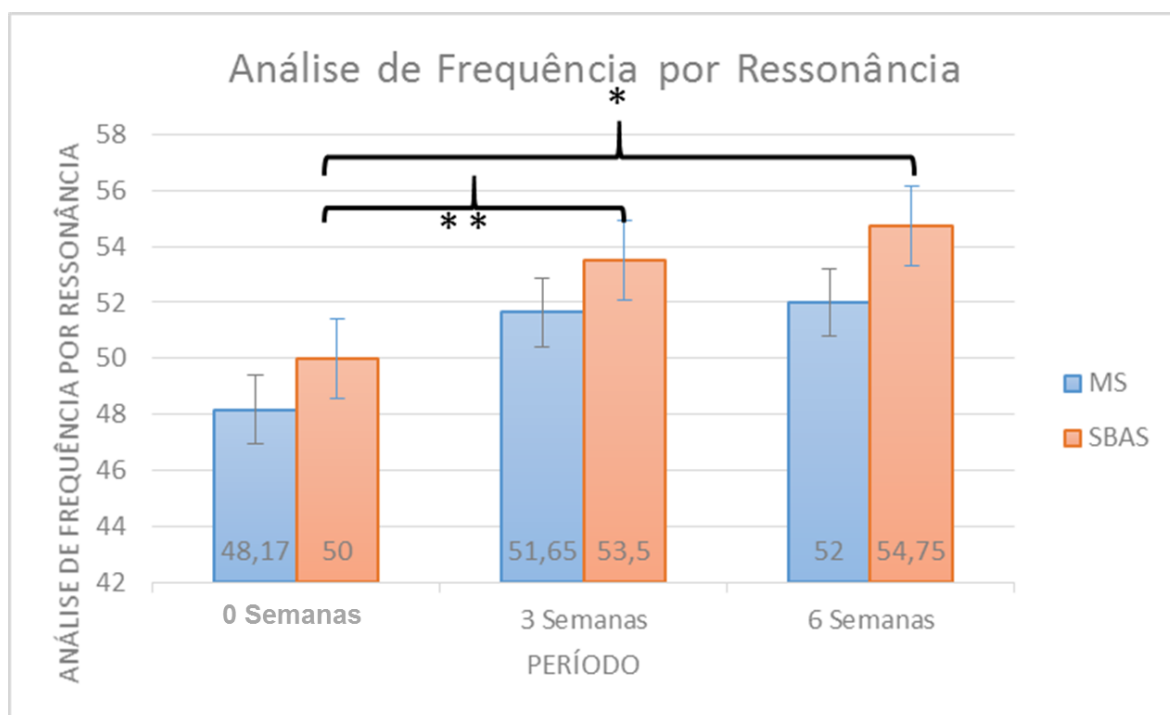


Fig6. Gráfico dos valores de análise de frequência por ressonância e desvio padrão nos períodos de 0, 3 e 6 semanas.

\* indica diferença estatisticamente significante

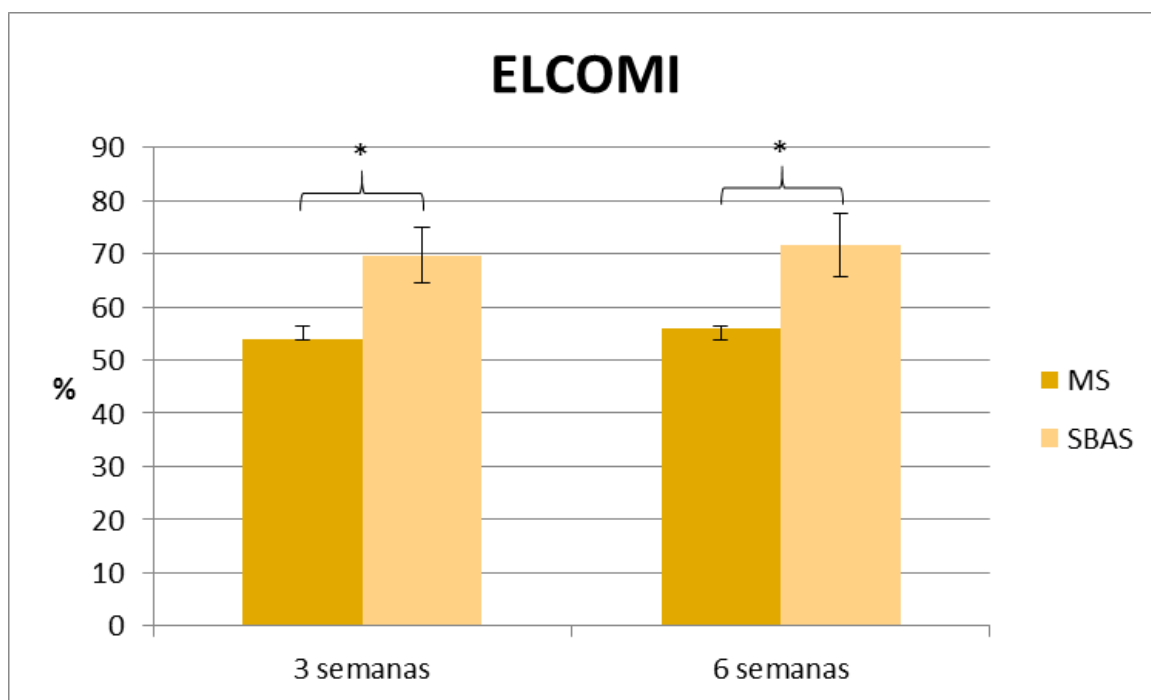


Fig7. Gráfico dos valores de extensão linear de contato osso/implante (ELCOMI) e desvio padrão nos períodos de 3 e 6 semanas.

\* indica diferença estatisticamente significativa

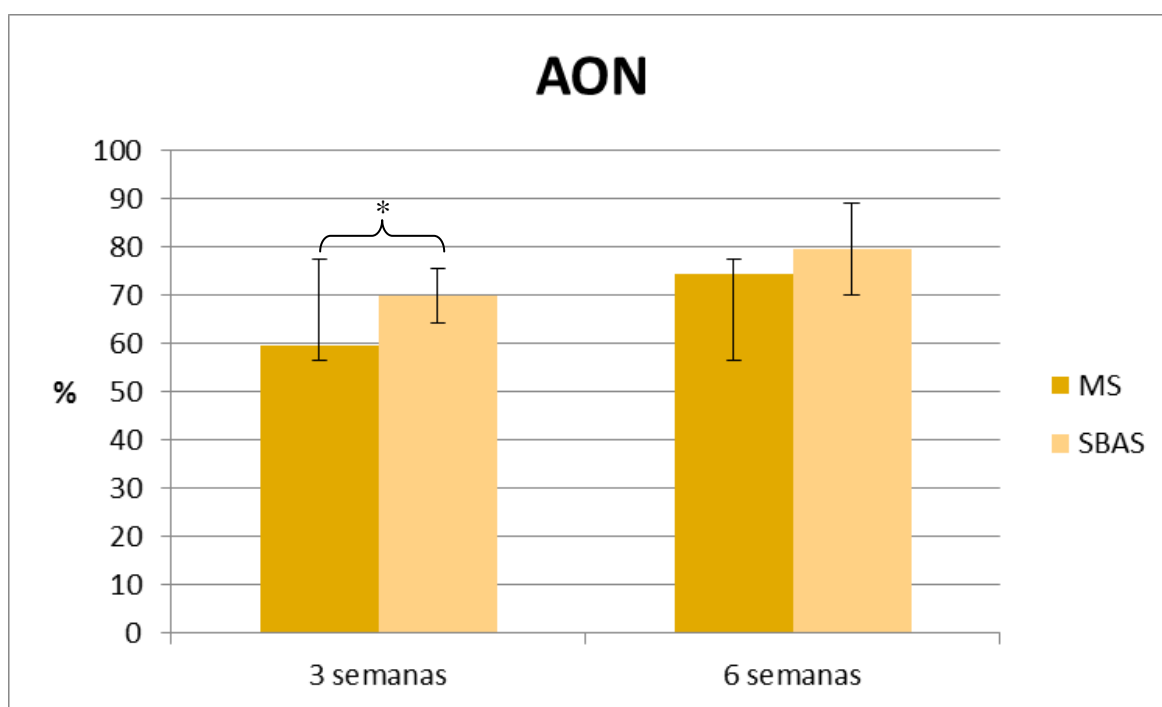


Fig8. Gráfico dos valores de área óssea neoformada (AON) e desvio padrão nos períodos de 3 e 6 semanas.

\* indica diferença estatisticamente significativa

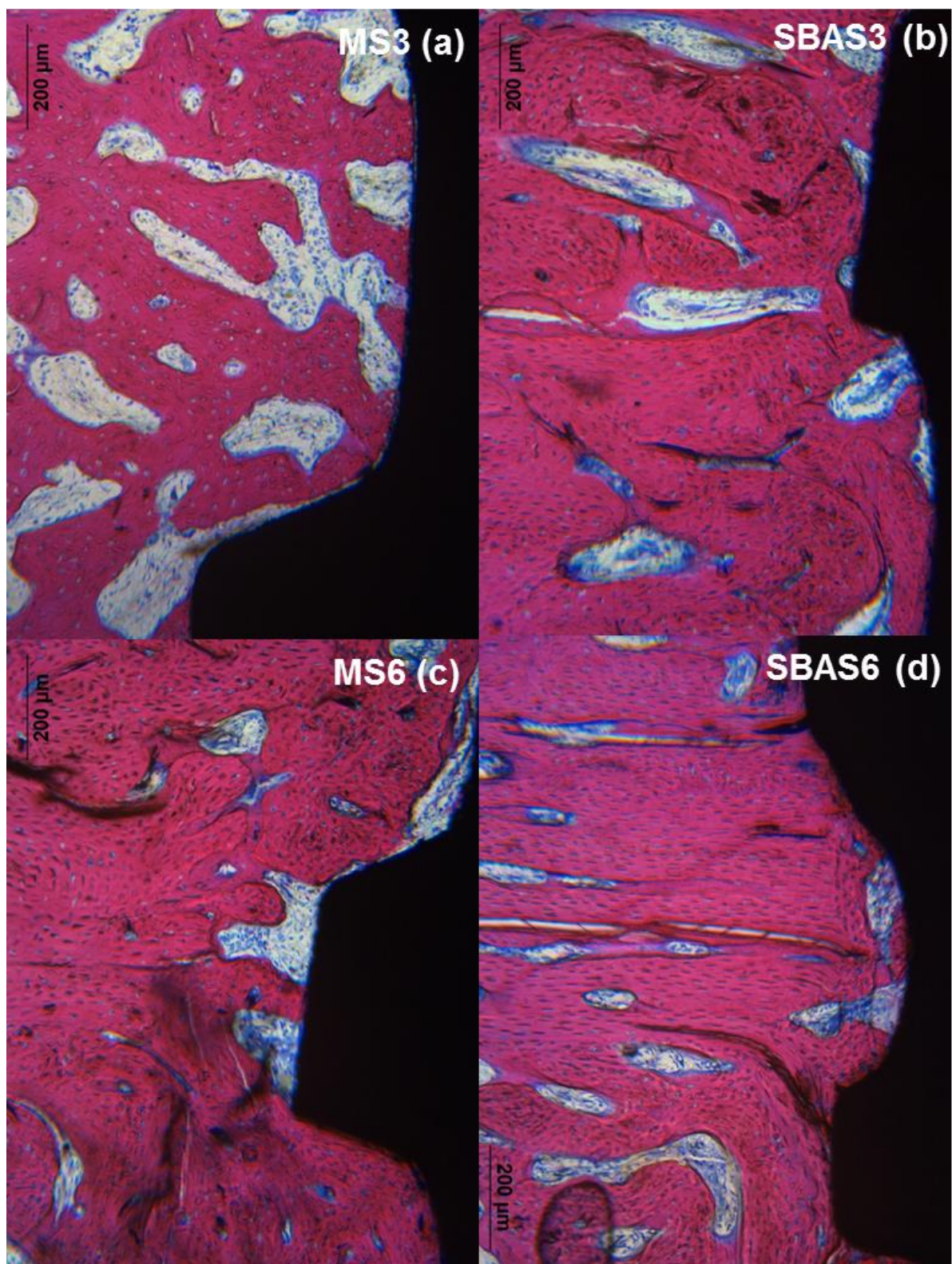


Fig9. Imagens dos cortes calcificados do grupo experimental MS (a) e SBAS (b) para os períodos de 3 semanas e MS (c) e SBAS (d) para o período de 6 semanas. Aumento de 10x.

*Anexos*



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
SÉLIO DE MESQUITA FILHO\*  
Campus de Araraquã



Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)  
Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "Avaliação do processo de reparo ao redor de implantes com superfícies modificadas experimental e comercialmente disponíveis. Estudo biomecânico e histométrico em coelhos" sob responsabilidade do Pesquisador FRANCISLEY ÁVILA SOUZA e colaboração de Ideimo Rangel Garcia Júnior, Paulo Sérgio Perri de Carvalho e Sabrina Ferreira está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o processo FOA-00950-2013.

**CERTIFICATE**

We certify that the research "Evaluation of repair process around of modified implant surfaces experimental and commercially available. Biomechanical and histometric study rabbits", process number FOA-00950-2013, under responsibility of FRANCISLEY ÁVILA SOUZA and with collaboration of Ideimo Rangel Garcia Júnior, Paulo Sérgio Perri de Carvalho and Sabrina Ferreira agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.

Prof. Adj. MARY MARCONDES  
Vice-Coordenadora da CEUA  
CEUA Vice-Coordinator

Medicine - Dentistry | Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access

Dentistry

Home > Medicine > Dentistry

SUBDISCIPLINES JOURNALS BOOKS SERIES TEXTBOOKS  
REFERENCE WORKS

Clinical Oral Investigations

Editor-in-Chief: Matthias Hannig

ISSN: 1432-6981 (print version) ISSN: 1436-3771 (electronic version)

Journal no. 784

\$99.00 Personal Rate e-only for the Americas

Online subscription, valid from January through December of current calendar year

Immediate access to this year's issues via SpringerLink

1 Volume(-s) with 12 issue(-s) per annual subscription Automatic annual renewal

More information: >> FAQs // >> Policy

ABOUT THIS JOURNAL EDITORIAL BOARD SOCIETIES ETHICS &  
DISCLOSURES INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

## Instructions for Authors

### TYPES OF PAPERS

Papers may be submitted for the following sections: Original articles

Invited reviews

Short communications – with up to 2000 words and up to two figures and/or tables

Letters to the editor

It is the general policy of this journal not to accept case reports and pilot studies.

### EDITORIAL PROCEDURE

If you have any questions please contact: Professor Dr. M. Hannig

University Hospital of Saarland

Department of Parodontology and Conservative Dentistry Building 73

66421 Homburg/Saar Germany

Email: eic.hannig@uks.eu

### MANUSCRIPT SUBMISSION

#### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly

– at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

#### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been

granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

#### Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

#### Further Useful Information

please follow the link below Further Useful Information

The Springer Author Academy is a set of comprehensive online training pages mainly geared towards first-time authors. At this point, more than 50 pages offer advice to authors on how to write and publish a journal article.

#### Springer Author Academy

### TITLE PAGE

The title page should include:

The name(s) of the author(s) A concise and informative title

The affiliation(s) and address(es) of the author(s)

The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### Abstract

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

Objectives (stating the main purposes and research question) Materials and Methods

Results Conclusions Clinical Relevance

These headings must appear in the abstract.

#### Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

## TEXT

### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text. Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages. Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar. Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 182 kB)

### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical

data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

## REFERENCES

### Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

### Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 341:325–329

#### Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

#### Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

#### Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

#### Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California  
Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

#### ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in- text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file `spbasic.bst` which is included in Springer's LaTeX macro package.

#### TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

## ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

### Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format.

MSSOffice files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### Line Art

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

### Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

### Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order. Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts.

Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible. When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

## Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

## ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

## Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3 Maximum file size: 25 GB Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

#### Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

#### Spreadsheets

Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

#### Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

#### Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

#### Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4”.

Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

#### Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

## Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

## ENGLISH LANGUAGE EDITING

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.

Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.

Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts. Springer authors are entitled to a 10% discount on their first submission to either of these services, simply follow the links below.

English language tutorial

Nature Research Editing Service American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and

formal style before publication.

为便于编辑和评审专家准确评估您稿件中陈述的研究工作，您需要确保您的英语语言质量足以令人理解。如果您需要英文写作方面的帮助，您可以考虑：

- 请一位以英语为母语的同事审核您的稿件是否表意清晰。
- 查看一些有关英语写作中常见语言错误的教程。
- 

使用专业语言编辑服务，编辑人员会对英语进行润色，以确保您的意思表达清晰，并识别需要您复核的问题。我们的附属机构 Nature Research Editing Service 和合作伙伴 American Journal Experts 即可提供此类服务。

## 教程

Nature Research Editing Service American Journal Experts

请注意，使用语言编辑服务并非在期刊上发表文章的必要条件，同时也并不意味着保证文章将被选中进行同行评议或被接受。

如果您的稿件被接受，在发表之前，我们的文字编辑会检查您的文稿拼写是否规范以及文体是否正式。

エディターと査読者があなたの論文を正しく評価するには、使用されている英語の質が十分に高いことが必要とされます。英語での論文執筆に際してサポートが必要な場合には、次のオプションがあります：

- ・ 英語を母国語とする同僚に、原稿で使用されている英語が明確であるかをチェックしてもらう。

- ・ 英語で執筆する際によくある間違いに関する英語のチュートリアルを参照する。

- ・ プロの英文校正サービスを利用する。校正者が原稿の意味を明確にしたり、問題点を指摘

し、英語の質を向上させます。Nature Research Editing Service と American Journal Experts の

2つは弊社と提携しているサービスです。Springer

の著者は、いずれのサービスも初めて利用する際には10%の割引を受けることができます。以下のリンクを参照ください。

英語のチュートリアル

Nature Research Editing Service American Journal Experts

英文校正サービスの利用は、投稿先のジャーナルに掲載されるための条件ではないこと、また論文審査や受理を保証するものではないことに留意してください。

原稿が受理されると、出版前に弊社のコピーエディターがスペルと体裁のチェックを行います。

영어 원고의 경우, 에디터 및 리뷰어들이 귀하의 원고에 실린 결과물을 정확하게 평가할 수 있도록, 그들이 충분히 이해할 수 있을 만한 수준으로 작성되어야

합니다. 만약 영작문과 관련하여 도움을 받기를 원하신다면 다음의 사항들을 고려하여 주십시오:

- 귀하의 원고의 표현을 명확히 해줄 영어 원어민 동료들 찾아서 리뷰를 의뢰합니다.
- 영어 튜토리얼 페이지에 방문하여 영어로 글을 쓸 때 자주하는 실수들을 확인합니다.
- 리뷰에 대비하여, 원고의 의미를 명확하게 해주고 리뷰에서 요구하는 문제점들을 식별해서 영문 수준을 향상시켜주는 전문 영문 교정 서비스를 이용합니다. Nature Research Editing Service 와 American Journal Experts에서 저희와 협약을 통해 서비스를 제공하고 있습니다. Springer 저자들이 본 교정 서비스를 첫 논문 투고를 위해 사용하시는 경우 10%의 할인이 적용되며, 아래의 링크를 통하여 확인이 가능합니다.

영어 튜토리얼 페이지

Nature Research Editing Service American Journal Experts

영문 교정 서비스는 게재를 위한 요구사항은 아니며, 해당 서비스의 이용이 피어 리뷰에 논문이 선택되거나 게재가 수락되는 것을 의미하거나 보장하지 않습니다. 원고가 수락될 경우, 출판 전 저희측 편집자에 의해 원고의 철자 및 문체를 검수하는 과정을 거치게 됩니다.

## ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the

COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”)).

A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).

No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions

No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.

Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are not accepted after acceptance of a manuscript.

Adding and/or deleting authors and/or changing the order of authors at revision stage may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the reason for the change(s) and the contribution role(s) of the added and/or deleted

author(s). Further documentation may be required to support your request.

Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:

If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author. If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is maintained on the platform, watermarked "retracted" and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.

The author's institution may be informed.

## COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed

consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” when submitting a paper:

Disclosure of potential conflicts of interest

Research involving Human Participants and/or Animals Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above- mentioned guidelines.

#### DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests that are directly or indirectly related to the research may include but are not limited to the following:

Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)

Honoraria for speaking at symposia Financial support for attending symposia Financial support for educational programs Employment or consultation

Support from a project sponsor

Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships

Multiple affiliations

Financial relationships, for example equity ownership or investment interest Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights) Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found

here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict

of interest disclosure form(s).

Please make sure to submit all Conflict of Interest disclosure forms together with the manuscript.

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

**RESEARCH INVOLVING HUMAN PARTICIPANTS AND/OR ANIMALS**

### 1) Statement of human rights

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

The following statements should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.”

#### Ethical approval retrospective studies

Although retrospective studies are conducted on already available data or biological material (for which formal consent may not be needed or is difficult to obtain) ethical approval may be required dependent on the law and the national ethical guidelines of a country. Authors should check with their institution to make sure they are complying with the specific requirements of their country.

### 2) Statement on the welfare of animals

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed, and that the studies have been approved by a research ethics committee at the institution or practice at which the studies were conducted (where such a committee exists).

For studies with animals, the following statement should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All applicable international, national, and/or institutional guidelines

for the care and use of animals were followed.”

If applicable (where such a committee exists): “All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution or practice at which the studies were conducted.”

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, please select one of the following statements:

“This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.”

## INFORMED CONSENT

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. Hence it is important that all participants gave their informed consent in writing prior to inclusion in the study. Identifying details (names, dates of birth, identity numbers and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scientific purposes and the participant (or parent or guardian if the participant is incapable) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases, and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning.

The following statement should be included:

Informed consent: “Informed consent was obtained from all individual participants

included in the study.”

If identifying information about participants is available in the article, the following statement should be included:

“Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article.”

## RESEARCH DATA POLICY

The journal encourages authors, where possible and applicable, to deposit data that support the findings of their research in a public repository. Authors and editors who do not have a preferred repository should consult Springer Nature’s list of repositories and research data policy.

### List of Repositories Research Data Policy

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may also be used.

Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

### DataCite

Springer Nature provides a research data policy support service for authors and editors, which can be contacted at [researchdata@springernature.com](mailto:researchdata@springernature.com).

This service provides advice on research data policy compliance and on finding research data repositories. It is independent of journal, book and conference proceedings editorial offices and does not advise on specific manuscripts.

### Helpdesk

## AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

#### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

#### Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

#### Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

#### Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

#### Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

#### OPEN CHOICE

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication.

Article processing charges (APCs) vary by journal – view the full list Benefits:

Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.

Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average\*.

Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our funding and support pages for more information.

\*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

Open Choice

Funding and Support pages

Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Find more about the license agreement

READ THIS JOURNAL ON SPRINGERLINK

Online First Articles All Volumes & Issues

FOR AUTHORS AND EDITORS

2017 Impact Factor 2.386

[Aims and Scope Submit Online](#)

[Open Choice - Your Way to Open Access Instructions for Authors](#)

[ICMJE Conflict of Interest form](#)

#### SERVICES FOR THE JOURNAL

[Contacts](#)

[Download Product Flyer Order Back Issues Article Reprints](#)

[Bulk Orders](#)

#### ALERTS FOR THIS JOURNAL

Get the table of contents of every new issue published in *Clinical Oral Investigations*.