

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO
GRANDE DO SUL FACULDADE DE
ODONTOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ODONTOLOGIA DOUTORADO EM ODONTOLÓGIA

LEANDRO SOEIRO DE SOUZA NUNES

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO CONTATO OSSO-IMPLANTE
E ESTABILIDADE DE IMPLANTES COM SUPERFÍCIES
MODIFICADAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM TÍBIAS DE
COELHOS**

Orientador: Claiton Heitz

Porto Alegre, Março de 2014

LEANDRO SOEIRO DE SOUZA NUNES

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO CONTATO OSSO-IMPLANTE
E ESTABILIDADE DE IMPLANTES COM SUPERFÍCIES
MODIFICADAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM TÍBIAS DE
COELHOS**

Effect of implant surface properties on osseointegration,
bone-to-implant contact and stability of modified sand-blasted acid-
etched implants: an experimental study in rabbits

Tese apresentada como requisito
para obtenção do grau de Doutor
pelo Programa de Pós-Graduação
em Odontologia da Faculdade de
Odontologia da Pontifícia
Universidade Católica do Rio
Grande do Sul

Orientador: Claiton Heitz

Porto Alegre, Março de

Dedicatória

Dedico esta tese à minha esposa, amiga e companheira, **Alini**, que sempre me apoiou e me incentivou para o meu crescimento profissional e pessoal. Dedico também aos nossos filhos, **Bernardo e Carlo**, que encheram a casa de vida e alegria.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha esposa, **Alini**, por todo o amor, paciência, compreensão e companheirismo durante esses anos, dos quais muitas manhãs de sábado foram dedicadas à tese de doutorado. Obrigado por manter o sorriso no rosto e o brilho no olhar, mesmo nas horas difíceis. Obrigado por fazer parte da minha vida.

Agradeço aos meus pais, **Vera e Lourival**, pelo amor, orientação, exemplo de caráter, incentivo e paciência. Muito obrigado pela incansável batalha em nos mostrar o que é correto, não permitindo que nos entregássemos frente aos desafios, nem que nos deixássemos vencer pelas dificuldades

Aos meus irmãos **Leonardo e Vanessa** pelo carinho, compreensão e incentivo na busca de aperfeiçoamento e crescimento pessoal e profissional;

Ao **Vô Alfredo** (*in memoriam*) que sempre foi um exemplo de ser humano e de quem sentimos muita falta.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Cláiton Heitz**, pelo agradável convívio e por sempre dividir conosco seus aprendizados. Agradeço pelo seu apoio e confiança depositados na minha pessoa. A minha eterna admiração, respeito, carinho e gratidão.

À minha co-orientadora, Prof^a Dr^a. **Mariza Akemi Matsumoto**, que novamente teve uma participação ativa na minha formação profissional, guiando sabiamente minha trajetória, com valiosa e competente orientação. Agradeço a todos os ensinamentos desde o tempo do Mestrado em Bauru, sua imensa paciência, otimismo e honestidade. Muito me honra os momentos que passamos juntos e os laços de amizade criados.

Ao amigo e colega **Thiago Revillion Dinato**, pela amizade e colaboração na concretização do nosso experimento. Sua vontade de ajudar e parceria foram fundamentais para a conclusão do projeto.

À colega **Cláudia Bighetti** pelo auxílio importantíssimo na fase experimental e estatística, colaboração, empenho e atenção sempre demonstrados

Ao amigos e colegas, **Prof. José Cicero Dinato, Prof Ricardo Smidt, Prof. Luiz Antonio Marchioni** pelo constante incentivo no meu crescimento profissional e

pessoal. Vocês sempre foram e serão sendo grandes exemplos de caráter e dedicação. Muito me honra fazer parte das equipes de vocês e obrigado por tudo.

Aos **funcionários da secretaria da Pós-graduação da Odontologia**, por ter estado sempre à disposição para resolver nossos problemas burocráticos, com bom-humor e atenção, facilitando nossas vidas na pós-graduação;

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Faculdade de Odontologia da Universidade Sagrado Coração, pelo ensino de qualidade.

Ao programa de Pós-Graduação de Odontologia da PUC-RS, na pessoa do Prof. Dr. José Antônio Poli Figueiredo, por acreditar na formação docente da Odontologia;

À Empresa Neodent pelo fornecimento dos implantes (Neodent Drive Acqua e Porous) utilizados neste trabalho;

À CAPES e CNPQ pelo incentivo a todos que contribuem pelo crescimento científico neste país.

RESUMO

A obtenção e a manutenção da estabilidade do implante são pré-requisitos para o sucesso clínico das próteses sobre implantes. Visto que a topografia, a rugosidade e a hidrofiliabilidade são algumas das alterações da superfície dos implantes que podem alterar a resposta do tecido ósseo, diversos estudos tem procurado entender os benefícios que estas modificações podem proporcionar. A quantificação histomorfométrica do contato osso-implante (BIC) e a análise de frequência de ressonância (AFR) são parâmetros frequentemente utilizados na implantodontia para verificar a osseointegração e a estabilidade dos implantes.

No presente estudo, foram instalados 32 implantes com duas diferentes superfícies nas tíbias de 16 coelhos, divididos em dois grupos: Grupo I) constituído pelos implantes com superfície tratada por jateamento de areia, ataque ácido, hidrofílica e modificada quimicamente (Neodent Drive® Acqua, Neodent, Curitiba, Brasil) e Grupo II) constituído pelos implantes com superfície tratada por jateamento de areia e ataque ácido (Neodent Drive® Porous, Neodent, Curitiba, Brasil). As amostras foram analisadas após 7, 14, 30 e 60 dias da colocação dos implantes.

Na comparação da média geral do BIC, entre Acqua e Porous, foram observadas diferenças estatisticamente significantes no período de 14 dias ($p=0,028$) e no período de 30 dias ($p=0,028$). As medidas médias de BIC obtidas para os implantes Acqua foram $43,32 \pm 1,31\%$ e $55,03 \pm 5,14\%$, aos 14 e 30 dias respectivamente. Para os implantes Porous, as medidas de BIC foram $46,27 \pm 0,10\%$ e $47,13 \pm 0,67\%$, aos 14 e 30 dias respectivamente. No período de 60 dias, os valores médios de BIC da superfície Acqua foram $54,68 \pm 3,51\%$ e da superfície Porous foram $50,86 \pm 1,03\%$.

Na comparação da média geral do quociente de estabilidade do implante (QEI), entre Acqua e Porous, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, com exceção no período de 07 dias, no qual os resultados do presente estudo demonstraram maiores valores de QEI para o grupo Porous ($68,75 \pm 4,16\%$) do que para o grupo Acqua ($61,5 \pm 8,01\%$). A análise do QEI durante os diferentes períodos dentro de um mesmo grupo, demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre os períodos de 7 vs 60 dias e 30 vs 60 dias, para a média geral do QEI no grupo Acqua e no grupo dos implantes Porous.

As conclusões do presente estudo são que os resultados demonstraram que a modificação da superfície por jateamento de areia e ataque ácido utilizada para produzir as superfícies Acqua e Porous resulta em uma adequada aposição óssea, visto que os valores do BIC e QEI encontrados são similares ou superiores aos resultados encontrados na literatura com modelos experimentais e superfícies similares. Os aumentos dos valores do BIC e QEI durante os períodos pós-operatórios revelaram a obtenção de estabilidade secundária e maior rigidez na ancoragem do implante com o passar do tempo. Não foram identificados melhores resultados com a superfície hidrofílica nos períodos iniciais da osseointegração. Sendo assim, são necessários estudos pré-clínicos e clínicos para confirmar as sugestões que os resultados deste presente estudo revelaram.

PALAVRAS – CHAVE: superfície de implantes, hidrofiliabilidade, sla, sla modificada, Neodent Acqua, BIC, RFA

ABSTRACT

The clinical success of the implant treatment is strongly related with the achievement and maintenance of the stability of the fixture. As the surface topography, roughness and wettability are modifications that can affect the quality of the osseointegration, several studies have analyzed the benefits of these modifications. The histomorphometric analyses of the bone-to-implant contact (BIC) and the resonance frequency analyses (RFA) are commonly used to verify the osseointegration and implant stability.

In the present study, 32 implants with two different surfaces treatment were installed in the tibia of 16 New Zealand rabbits and splitted in two groups. The Group I was formed by Neodent Drive implants, with sandblasted, acid etched and hydrophilic surface (Neodent Drive Acqua, Neodent, Curitiba, Brasil). The Group II was formed by Neodent Drive implants, with sandblasted and acid etched surface (Neodent Drive Porous, Neodent, Curitiba, Brasil). The samples were analyzed at 07, 14, 30 and 60 days after the implant placement.

The results showed statistically significant differences between the mean values for the BIC at 14 ($p=0.028$) and 30 days ($p=0.028$). The mean BIC for the Acqua implants (Group I) were $43,32 \pm 1,31\%$ and $55,03 \pm 5,14\%$, at 14 and 30 days respectively. The mean BIC in the Porous implants (Group II) were $46,27 \pm 0,10\%$ and $47,13 \pm 0,67\%$, at 14 and 30 days, respectively. At 60 days, the mean BIC for the Acqua implants were $54,68 \pm 3,51\%$ and for the Porous implants were $50,86 \pm 1,03\%$.

There were not statistically significant differences in the implant stability quotient (ISQ) measurements between Acqua and Porous implants, except at 07 days after the implant placement. At day 07, the results of the present study showed higher ISQ values for the Porous implants ($68,75 \pm 4,16\%$) than Acqua implants ($61,5 \pm 8,01\%$). The follow-up ISQ analyses in the same Group, showed statistically significant increases of the mean values from 7 to 60 days and from 30 to 60 days, for both groups.

In conclusion, the sandblasted and acid etched treatment used to create roughness on the Neodent implant surface is reliable and allows bone apposition, as the BIC and ISQ values found were similar or superior than the showed in the literature for similar animal models and similar implant surface. The increase of the BIC and ISQ values on the follow up showed the achievement of the secondary stability and the increase in stiffness between the implant fixture and the surrounding tissues. There were not identified better results with the hydrophilic surface during the early period of healing. Thus, further investigations are necessary to confirm the suggested results in this present study.

KEYWORDS: implant surface, SLA, SLA modified, wettability, Neodent Acqua, BIC, FRA

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Antissepsia com polivinilpirolidona (PVPI) a 1%

Figura 2: Incisão com lâmina 15

Figura 3: Elevação do periósteo com descolador de Molt.

Figura 4a: Acesso à porção proximal da tíbia

Figura 4b: Exposição da porção proximal da tíbia

Figura 5: Sequência de fresagem, de acordo com a indicação do fabricante. Broca piloto.

Figura 6: Broca helicoidal de 2mm de diâmetro.

Figura 7: Broca helicoidal de 2mm sob irrigação com soro fisiológico 0,9%.

Figura 8: Broca cônica com 3,5mm de diâmetro. Broca final para instalação de implantes com 3,5mm de diâmetro. No presente estudo foram utilizados implantes com 8mm de comprimento.

Figura 9: Sítio cirúrgico após a completa fresagem.

Figura 10: Instalação do implante Neodent Porous (3,5x8mm)

Figura 11a: Instalação do implante Neodent Acqua (3,5x8mm)

Figura 11b: Implante com superfície hidrofílica sendo instalado na tíbia do coelho.

Figura 12: Implante instalado na porção proximal da tíbia.

Figura 13: Conexão do transdutor do Ostell para medição do QEI.

Figura 14: Medição do QEI realizada no sentido proximal para distal (paralela à tíbia do coelho)

Figura 15: Medição do QEI realizada no sentido lateral para medial (Perpendicular à tíbia do coelho)

Figura 16: Visor do Ostell com a medida do QEI.

Figura 17a: Instalação do parafuso de cobertura sobre o implante

Figura 17b: Parafuso de cobertura aparafusado ao implante.

Figura 18: Sutura da musculatura e da fáscia com fio reabsorvível vicryl 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, USA)

Figura 19: Sutura da pele com fio de nylon 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, USA)

Figura 20: Esquema demonstrando a divisão do implante em terços (microrosca, cervical e apical) para análise do BIC.

Figura 21: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 7 dias de avaliação. Neste corte observa-se a região das microroscas e dois *chambers* cervicais. Observa-se tecido ósseo com coloração azul escuro em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas..

Figura 22: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 14 dias de avaliação. Neste corte observa-se a região das microroscas e parte dois *chambers* cervicais. Observa-se tecido ósseo com coloração azul escuro em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

Figura 23: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 30 dias de avaliação. Neste corte observa-se a região das microroscas e três *chambers* cervicais. Observa-se tecido ósseo com coloração azul escuro em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

Figura 24: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 60 dias de avaliação. Observa-se grande quantidade de tecido ósseo, com coloração azul escuro, em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

Figura 25: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 07 dias de avaliação. Observa-se o contato inicial de tecido ósseo, com coloração azul escuro, com a superfície do implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

Figura 26: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 14 dias de avaliação. Observa-se parcial contato de tecido ósseo, com coloração azul escuro, com a superfície do implante nas roscas, microroscas e nas câmaras entre as roscas.

Figura 27: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 30 dias de avaliação. Observa-se parcial contato de tecido ósseo, com coloração azul escuro, com a superfície do implante na região das microroscas.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média Geral (%) do BIC nos implantes Acqua vs Porous

Tabela 2: Médias (%) da Região da Microrosca do BIC nos implantes Acqua vs Porous

Tabela 3: Médias (%) da Região Cervical do BIC nos implantes Acqua vs Porous

Tabela 4: Médias (%) da Região Apical do BIC nos implantes Acqua vs Porous

Tabela 5: Média Geral (%) inicial e final do QEI nos implantes Acqua vs Porous

Tabela 6: Média Geral (%) inicial e final do QEI nos implantes Acqua vs Porous (medição paralela à tíbia do coelho – Vestibular)

Tabela 7: Média Geral (%) inicial e final do QEI nos implantes Acqua vs Porous (medição perpendicular à tíbia do coelho – Mesial)

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante. Média Geral (%) dos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Gráfico 2: Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante na região das microroscas. Média do BIC (%) nesta área nos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Gráfico 3: Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante na região cervical. Média do BIC (%) nesta área nos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Gráfico 4: Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante na região apical. Média do BIC (%) nesta área nos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Gráfico 5: Representação gráfica da estabilidade inicial e final. Sendo que a estabilidade inicial representa as medidas realizadas no momento da instalação dos implantes e a final no momento do sacrifício dos coelhos.

Gráfico 6: Representação gráfica da estabilidade inicial e final. Medição realizada no sentido proximal para distal (paralelo ao longo eixo da tibia). Sendo que a estabilidade inicial representa as medidas realizadas no momento da instalação dos implantes e a final no momento do sacrifício dos coelhos.

Gráfico 7: Representação gráfica da estabilidade inicial e final. Medição realizada no sentido lateral para medial (perpendicular ao longo eixo da tibia). Sendo que a estabilidade inicial representa as medidas realizadas no momento da instalação dos implantes e a final no momento do sacrifício dos coelhos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1 Osseointegração	17
1.2 Superfície dos implantes	22
1.3 Superfície SLA (<i>Sandblasted and acid etched</i>)	27
1.4 Superfície SLA Modificada	31
1.5 Estabilidade do implante	35
1.6 Contato osso-implante (BIC)	39
1.7 Modelo experimental	41
2. OBJETIVOS	46
3. MATERIAL E MÉTODOS	47
3.1 Considerações éticas	47
3.2 Animais	47
3.3 Tamanho da amostra	47
3.4 Delineamento experimental	48
3.4.1 Procedimento cirúrgico	48
3.4.2 Análise por Frequência de Ressonância (AFR)	61
3.5 Obtenção das amostras	61
3.6 Processamento histológico	61
3.6.1 Procedimentos de fixação e desidratação	62
3.6.2 Procedimentos de inclusão	62
3.6.3 Procedimentos de microtomia	63
3.6.4 Procedimentos de coloração	63

3.7 Calibração intra-examinador	64
3.8 Avaliação do contato osso-implante (BIC)	64
3.9 Análise estatística	68
4. RESULTADOS	70
4.1 Contato osso-implante (BIC)	70
4.2 Análise de frequência de ressonância (AFR)	75
5. DISCUSSÃO	80
6. CONCLUSÕES	88
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O termo osseointegração foi cunhado e primeiramente definido por Albrektsson em 1981 (ALBREKTSSON et al., 1981). A definição original foi baseada em observações em nível de microscopia óptica, como “uma conexão estrutural e funcional direta entre osso vivo organizado e a superfície de um implante suportando carga”. No entanto, esta definição não indica que porcentagem de osso precisa estar em contato com o implante para que este fenômeno possa ser chamado osseointegração.

Visto que o tecido ósseo é um tecido dinâmico e os mecanismos que ocorrem durante o processo de osseointegração ao redor de implantes são muito similares aos que ocorrem durante o reparo de uma fratura óssea, isto envolve uma sequência de vários eventos celulares e extracelulares. A resposta óssea inicial do hospedeiro após a implantação é caracterizada por uma reação inflamatória suscitada principalmente pelo inevitável trauma cirúrgico e modificado pela presença do implante. A qualidade e a quantidade óssea nas regiões a serem reabilitadas com implantes osseointegrados são variáveis importantes que afetam o sucesso da osseointegração. A obtenção e a manutenção da estabilidade do implante são pré-requisitos para o sucesso clínico das próteses sobre implantes.

Visto que a estabilidade primária é consequência direta do contato osso-implante, ela é dependente da densidade óssea, da técnica cirúrgica e da morfologia macroscópica e microscópica do implante utilizado. Já a estabilidade secundária é determinada pela resposta do tecido ósseo à cirurgia e à superfície do implante (DEGIDI et al., 2009; VANDAMME et al., 2007a). Diversas técnicas tem sido utilizadas para avaliar estabilidade primária e secundária. Meredith et al (1997) (MEREDITH et al., 1997) introduziram a análise de frequência de ressonância

(AFR) na implantodontia como um método não invasivo utilizado previamente na engenharia civil. AFR é baseado na contínua excitação do implante com o uso de um transdutor conectado ao implante, o qual é excitado através de uma escala de frequência sonora com subsequente medição da oscilação vibratória do implante. Esta técnica causa uma vibração no implante e as medições realizadas fornecem informações para um quociente de estabilidade do implante (QEI) em uma escala de 1 a 100. QEI é uma descrição numérica da estabilidade do implante determinada por um instrumento específico (Ostell, Integration Diagnostics), mas os valores obtidos não estão diretamente relacionados com qualquer parâmetro físico.

Os implantes inicialmente utilizados por Branemark et al (1977)(BRÅNEMARK et al., 1977) apresentavam uma superfície “lisa” ou maquinada, apresentando ranhuras decorrentes do torno utilizado no momento da confecção do implante. Estudos da década de 1990 (BUSER et al., 1991; ERICSSON et al., 1994; MARTIN et al., 1995) mostraram que, alterando a superfície dos implantes, a resposta do tecido ósseo adjacente também era alterada.

A rugosidade da superfície do implante pode ser originada pela adição de algum elemento à superfície do implante (hidroxiapatita, plasma spray) ou pela subtração do titânio por meio de ataque ácido, ataque eletroquímico e jateamento com partículas. Tais modificações criaram um aspecto macro e microscópico diferente do titânio usinado. Segundo London et al (2002)(LONDON et al., 2002a) as texturas das superfícies resultantes das várias formas de tratamento, podem influenciar significativamente o contato ósseo e fortalecer a interface mecânica. Diversos estudos tem avaliado o contato ósseo com as superfícies dos implantes em diferentes modelos, tanto animais quanto humanos (BORNSTEIN et al., 2008b; CALVO-GUIRADO et al., 2013; COCHRAN et al., 1998; COOLEY et al., 1992; KARABUDA et al., 1999;

LANG et al., 2011; LI et al., 2002).

A texturização da superfície através de jateamento com areia, que cria uma macrorugosidade, seguido de ataque ácido, capaz de criar microrugosidades, tem demonstrado bons resultados histológicos (ABRAHAMSSON et al., 2004; SUL et al., 2009; WENNERBERG et al., 1997). Este tratamento de superfície, que combina duas técnicas, cria uma superfície conhecida como SLA (*Sandblasted and acid etched*) e esta superfície é utilizada por várias empresas e estudada por diversos pesquisadores (BORNSTEIN et al., 2007; BUSER et al., 2004a; CALVO-GUIRADO et al., 2013; GOTTLAW; BARKAMO; SENNERBY, 2012; HONG; KURT; THOR, 2013; KIM et al., 2008; LI et al., 2002; PHILIPP et al., 2013; QUINLAN et al., 2005; VASAK et al., 2013; WENNERBERG; ALBREKTSSON, 2009)

Além da alteração topográfica das superfícies dos implantes, modificações químicas desta superfície podem influenciar positivamente a resposta do tecido ósseo durante a fase inicial de cicatrização. Schwarz et al (2007)(SCHWARZ et al., 2007b) demonstraram melhor estabilização do coágulo e pronunciada proliferação de estruturas vasculares em contato com implantes com superfície modificada quimicamente. A hidrofília da superfície é fortemente dependente da energia da superfície e influencia o grau de contato com o organismo. Aumentada hidrofília, portanto, melhora a interação entre a superfície do implante e o ambiente biológico. A superfície hidrofóbica do titânio proporciona melhor interação da superfície do implante com água, levando a uma adequada interação deste implante com o “escudo de água” que envolve delicadas biomoléculas, tais como as proteínas.

Devido à influência dos diferentes fatores acima citados na qualidade da osseointegração, pretendeu-se com o presente estudo analisar a estabilidade primária e secundária de implantes instalados em tíbias de coelhos, com o mesmo desenho

(Neodent Drive, Neodent Curitiba, Brasil) e duas diferentes superfícies, sendo uma hidrofóbica (Porous) e outra hidrofílica (Aqqua), avaliando o contato osso-implante e a estabilidade dos implantes. Serão utilizados como parâmetro de análise métodos morfológicos, histomorfométricos e AFR.

1.1 OSSEOINTEGRAÇÃO

O tecido ósseo é uma forma de tecido conjuntivo altamente especializado, com origem mesenquimal. A matriz extracelular é mineralizada, fornecendo rigidez e sustentação ao esqueleto, mas mantendo algum grau de elasticidade. Este tecido também atua mantendo a homeostase de cálcio no corpo. Morfologicamente o tecido ósseo é dividido em cortical/compacto e esponjoso/trabecular. As diferenças são tanto estruturais quanto funcionais, embora ambos tenham a mesma matriz na composição. O osso cortical tem maior densidade e menor porosidade, comparado ao osso medular, visto que o osso cortical maduro consiste de densas e compactas lamelas de colágeno, concêntricas, paralelas e intersticiais, enquanto no osso medular a matriz óssea é um emaranhado desorganizado de espículas e filetes de osso lamelar. Osso cortical e esponjoso podem ainda ser divididos em medular/primário e lamelar/secundário. Durante a cicatrização, osso medular é formado e então substituído por osso lamelar maduro (BURGOS et al., 2008).

O tecido ósseo é constituído principalmente de cristais de hidroxiapatita (HA) e vários tipos de proteínas extracelulares incluindo colágeno tipo I, osteocalcina, osteopontina, osteonectina, sialoproteína óssea e proteoglicanos. A maioria destas proteínas é secretada e depositada por osteoblastos maduros, que estão alinhados na superfície óssea. A linhagem osteogênica de células consiste de pré-osteoblastos, osteoblastos, osteócitos e células de revestimento. Células osteogênicas surgem a

partir de células mesenquimais primitivas contidas no estroma do osso medular e a partir de pericitos adjacentes a pequenos vasos sanguíneos no tecido conjuntivo (REILLY et al., 1998). Diferenciação de células-tronco osteogênicas requer estimulação pelos fatores de crescimento β (TGF- β) e proteína óssea morfogenética 2 (*bone morphogenetic protein 2*, BMP-2). Marcadores de diferenciação incluem a expressão de osteocalcina, osteonectina, fosfatase alcalina e sialoproteína óssea (DE SOUZA NUNES et al., 2010).

O titânio é um material com larga documentação de utilização em osso e tecidos moles, apresentando biocompatibilidade e não provocando reações negativas. Um contato direto entre osso e implantes de titânio foi primeiramente descrito por Branemark et al em 1969 (BRÅNEMARK et al., 1969) e mais tarde por Schroeder et al em 1976 (SCHROEDER; POHLER; SUTTER, 1976).

Durante estudos de microcirculação em tíbias de coelhos, o médico Per-Ingvar Branemark na década de 60, utilizou implantes de titânio com microcâmeras no interior, para a realização da investigação. Ao final do experimento, o implante de titânio apresentou firme ancoragem óssea no momento da remoção, ou seja o implante estava integrado ao tecido ósseo (BRÅNEMARK et al., 1977).

O termo osseointegração foi cunhado e primeiramente definido por Albrektsson em 1981 (ALBREKTSSON et al., 1981). A definição original foi baseada em observações em nível de microscopia óptica, como “uma conexão estrutural e funcional direta entre osso vivo organizado e a superfície de um implante suportando carga”. No entanto, esta definição não indica que porcentagem de osso precisa estar em contato com o implante para que este fenômeno possa ser chamado osseointegração.

Com o passar dos anos, a osseointegração tem sido redefinida, a partir do conceito baseado em microscopia óptica, para abordagens baseadas em engenharia e observações clínicas. Albrektsson and Sennerby (ALBREKTSSON; SENNERBY, 1990) definiram a osseointegração como uma fixação rígida de material aloplástico, que é obtida e mantida no osso, de maneira clinicamente assintomática, sob cargas funcionais.

A definição de osseointegração no dicionário médico de Dorland (DORLAND, 2011) é a formação de um contato direto entre um implante dentário ou ortopédico com o osso, sem interposição de tecido mole. Tal definição é similar com o conceito original descrito em 1981, baseado em observações no microscópio óptico.

No entanto, para melhor entender esse complexo processo de formação de osso novo ao redor do implante até a osseointegração, é importante destacar o que acontece no espaço peri-implantar quando um implante é inserido em uma cavidade óssea pré-preparada. Os mecanismos base que ocorrem durante o processo de osseointegração ao redor de implantes são muito similares aos que ocorrem durante o reparo de uma fratura óssea, e envolve uma sequência de vários eventos celulares e extracelulares. A resposta óssea inicial do hospedeiro após a implantação é caracterizada por uma reação inflamatória suscitada principalmente pelo inevitável trauma cirúrgico e modificado pela presença do implante. A cavidade óssea do implante precisa ser considerada como uma lesão óssea comum onde os danos ao osso pré-existente, presumidamente consequência do aquecimento, estão localizadas entre 100 μm (FUTAMI et al., 2000) ou até além de 500 μm (LISTGARTEN, 1996). Imediatamente após o dano cirúrgico as paredes ósseas são rapidamente cobertas com sangue, de modo que esse seja o primeiro tecido a ter contato com a superfície do implante após ele ser posicionado na cavidade óssea (DAVIES, 1996). Células

inflamatórias, inicialmente granulócitos polimorfonucleados e posteriormente monócitos, emigram de vênulas pós-capilares e migram para o tecido que circunda o implante. Depois que o sangue entra em contato com a superfície do implante, proteínas do sangue e dos fluidos teciduais são absorvidas. A resposta óssea primária do hospedeiro envolve a deposição de células osteogênicas de uma camada de matriz não-colágena na superfície do implante, similar às linhas de cimento ósseo e lâminas limitantes (ALBREKTSSON; HANSSON, 1986; DAVIES; LOWENBERG; SHIGA, 1990). Estudos morfológicos mostraram uma heterogeneidade na interface osso-implante mas as camadas afibrilares inicialmente calcificadas parecem similares em todos os tipos de implantes, apesar da diferença dos materiais implantados (PULEO; NANCI, 1999). Davies (1996)(DAVIES, 1996) sugeriu que as células menos diferenciadas na linhagem osteogênica, ou talvez células mesenquimais, migram para colonizar a superfície do implante como o primeiro evento que conduz a neoformação óssea na superfície do implante. A interação das dos glóbulos vermelhos do sangue, fibrinas e plaquetas com a superfície do implante pode modular a migração, a diferenciação e a atividade das células osteogênicas durante o período da cicatrização peri-implantar (DAVIES, 2003).

Quando o implante é posicionado e firmemente fixado na cavidade óssea do hospedeiro (estabilidade primária), a deposição inicial de uma linha de cimento do osso do hospedeiro e uma camada similar mineralizada podem ser vistas na superfície do implante. Essa dupla de eventos similares sugere que a superfície do implante possa ser positivamente reconhecida pelas células osteogênicas como um andaime biomimético que possa favorecer a primeira osteogênese peri-implantar. A neorfomação óssea no ambiente peri-implantar é o resultado de um processo aposicional na linha/lâmina limitante de cimento que se prende sobre a superfície

sólida do implante. Os osteoblastos nem sempre podem migrar de maneira tão rápida de modo a evitar que sejam completamente envolvidos pela frente de matriz mineralizada calcificada, assim eles se agrupam como osteócitos em lacunas ósseas. Esse tipo de mineralização pode ser comparada como a chamada ‘osteogênese estática’, localizada na parede da primeira estrutura óssea trabecular (FERRETTI et al., 2002). A deposição inicial de nova matriz calcificada na superfície do implante é seguida pelo arranjo do tecido ósseo e trabéculas ósseas, desenvolvendo-se em direções tridimensionais e delimitando espaços medulares. Este tecido consiste em tecido ósseo esponjoso ou osso trabecular e é particularmente adequado para o processo de cicatrização do implante, uma vez que apresenta uma grande área de superfície muito ativa, contendo amplos espaços medulares, incluindo muitos vasos e células mesenquimais (FRANCHI et al., 2004). Este tecido medular contém uma ótima vascularização, suporta precursores mononucleares de osteoclastos, remodelando assim a trabécula óssea mais rapidamente do que o osso cortical (DAVIES, 2003).

Entretanto, até o presente momento não existem números exatos ou valores precisos que descrevam o fenômeno de osseointegração. A correta extensão do implante que deve estar integrado ao osso, para que isto possa ser chamado de osseointegração, ainda é desconhecida. Isto deve-se ao fato que o osso é um tecido vivo e dinâmico que está sob constante remodelação, impossibilitando a definição de parâmetros e medidas exatas de quanto osso deve estar em contato com o implante para preencher completamente os critérios de osseointegração.

1.2 SUPERFÍCIES DOS IMPLANTES

Os implantes inicialmente utilizados por Branemark et al (BRÅNEMARK et al., 1977) apresentavam uma superfície “lisa” ou maquinada, apresentando ranhuras decorrentes do torno utilizado no momento da confecção do implante. O titânio comercialmente puro maquinado é uma superfície com uma média de rugosidade superficial (S_a) entre 0,53 a 0,96 μ m dependendo do protocolo de fabricação, do grau do material e do instrumento de corte (WENNERBERG; ALBREKTSSON; LAUSMAA, 1996).

Estes implantes maquinados foram utilizados para reabilitar 211 pacientes edêntulos que receberam próteses fixas sobre 1618 fixações. O acompanhamento destas próteses foi realizado entre setembro de 1965 a junho de 1975 e a conclusão dos autores foi de que os implantes osseointegrados poderiam ser utilizados para suportar uma prótese fixa com um prognóstico favorável em longo prazo (BRÅNEMARK et al., 1977).

Adell et al. (1981)(ADELL et al., 1981) acompanharam por 15 anos 2768 implantes instalados em 371 pacientes. Neste trabalho também foram utilizados implantes maquinados e o protocolo cirúrgico foi realizado em duas etapas, que incluía um período de espera aproximado de 6 meses entre a instalação do implante e utilização desse implante para suportar cargas mastigatórias. Após o período de osseointegração, foi realizada a abertura dos implantes e iniciou-se a fase protética, alcançando-se 89% de sucesso nos implantes instalados na maxila e 100% de sucesso na mandíbula. No início do anos 80, (ALBREKTSSON et al., 1981) identificou que a estrutura da superfície do implante era um fator particularmente importante para a incorporação do implante no osso.

Estudos da década de 1990 (BUSER et al., 1991; ERICSSON et al., 1994; MARTIN et al., 1995) mostraram que, alterando a superfície dos implantes, a resposta do tecido ósseo adjacente também era alterada. A rugosidade pode ser originada pela adição de algum elemento à superfície do implante (hidroxiapatita, plasma spray) ou pela subtração do titânio por meio de ataque ácido, ataque eletroquímico ou jateamento com partículas. Tais modificações criaram um aspecto macro e microscópico diferente do titânio usinado. Segundo London et al (2002)(LONDON et al., 2002b) as texturas das superfícies resultantes das várias formas de tratamento, podem influenciar significativamente o contato ósseo e fortalecer a interface mecânica. Diversos estudos tem avaliado o contato ósseo com as superfícies dos implantes em diferentes modelos, tanto animais quanto humanos (BRAGA et al., 2007; BUSER et al., 1991; COOLEY et al., 1992; GOTTLow; BARKAMO; SENNERBY, 2012; KARABUDA et al., 1999; VANDAMME et al., 2008).

A superfície do implante tem sido reconhecida como um fator crucial para a obtenção da osseointegração (ALBREKTSSON et al., 1981). As propriedades mais importantes da superfícies são topografia, química, carga de superfície e hidrofília. As propriedades da superfície afetam certos processos, tais como a adsorção de proteínas, interação celular e desenvolvimento da interface células/tecidos entre o corpo e o biomaterial, os quais são muito relevantes para a função do implante (SCHWARZ et al., 2007a).

Nos últimos anos, a topografia das superfícies dos implantes de titânio tem sido largamente investigada (BORNSTEIN et al., 2008b; BUSER et al., 2004a; GERMANIER et al., 2006; LANG et al., 2011; LIND et al., 1999; LONDON et al., 2002b; SCHWARZ et al., 2009; VANDAMME et al., 2008). Diversas técnicas tem sido utilizadas para produzir microrugosidades no titânio, incluindo jateamento de

areia, ataque ácido, oxidação anodizada, jateamento de óxido de alumínio, plasma spray, entre outras. O objetivo principal destes estudos foi determinar como a aposição óssea poderia ser melhorada por novas microrugosidades na superfície do titânio, comparadas às superfícies originalmente utilizadas e conhecidas como maquinadas.

Albrektsson e Wennerberg (ALBREKTSSON; WENNERBERG, 2004) sugeriram em 2004, que superfícies lisas devem apresentar $S_a < 0,5\mu\text{m}$; superfícies minimamente rugosas foram identificadas com um S_a entre $0,5 - 1\mu\text{m}$; superfície moderadamente rugosas com S_a entre $1 - 2\mu\text{m}$ e superfícies rugosas com um $S_a > 2\mu\text{m}$.

Buser et al (1991)(BUSER et al., 1991) compararam implantes com superfície maquinada, plasma spray de titânio (PST), jateada por areia e jateada com ataque ácido. Os autores instalaram os implantes em porcos e demonstraram que as superfícies jateadas por areia e PST demonstraram um leve aumento no contato ósseo em relação à superfície maquinada. O ataque com ácido sulfúrico e hidrocloreídrico após o jateamento resultaram em um dramático aumento no contato ósseo.

Wennerberg et al (1997)(WENNERBERG et al., 1997) compararam três diferentes superfícies, maquinada e duas jateadas com diferentes graus de rugosidade. A superfície maquinada apresentou uma rugosidade superficial média de $0,96\mu\text{m}$, enquanto as superfícies texturizadas apresentaram valores médios de rugosidade de $1,16\mu\text{m}$ e $1,94\mu\text{m}$. Maior fixação óssea foi encontrada para as duas superfícies jateadas, com aumento estatisticamente significativo no torque de remoção e percentagem de contato osso implante.

Lazzara et al (1999)(LAZZARA et al., 1999) avaliaram, em humanos, as diferenças entre as superfícies maquinadas e com duplo ataque ácido. Os autores

demonstraram amplas diferenças, com maior contato ósseo na superfície rugosa. London et al (2002) (LONDON et al., 2002b) utilizaram tíbias de coelhos para avaliar o comportamento de quatro diferentes superfícies (duplo ataque ácido, hidroxiapatita, plasma spray e maquinada). As avaliações foram realizadas semanalmente, entre o período de uma a oito semanas. Os resultados histológicos demonstraram maiores níveis de contato osso-implante para a superfície com duplo ataque ácido, sendo que esta diferença estatisticamente significante pôde ser observada a partir da terceira semana. A conclusão dos autores foi que as superfícies de hidroxiapatita e plasma spray não demonstram vantagens em relação à superfície maquinada, entretanto a superfície com duplo ataque ácido demonstrou vantagens no contato osso-implante, principalmente nas fases iniciais da cicatrização em tíbias de coelhos.

Em uma revisão de literatura realizada por Cooper em 2000 (COOPER, 2000), o autor concluiu que o aumento da rugosidade do titânio comercialmente puro aumentou a integração óssea, com relação à quantidade de osso formada na interface, aumentada osteoindução e osteogênese. O estudo baseou-se em relatos prévios, onde implantes com superfície maquinada foram utilizados como controles.

Modificações eletroquímicas (anodização) tem sido utilizadas para criar rugosidades na superfície do implante e têm sido demonstrado uma maior aumento no contato osso-implante nas fases iniciais da osseointegração (ERICSSON et al., 1994; LARSSON et al., 1996). Estudos experimentais têm demonstrado, histológica e histomorfometricamente, melhor resposta óssea e uma conexão mais forte com o osso durante as fases iniciais da osseointegração, em implantes com superfície anodizada, quando comparados com implantes maquinados (CHOI et al., 2006; IVANOFF et al., 2003; PARK et al., 2007). Lee et al (2009) (LEE et al., 2009) avaliaram as diferenças

na cicatrização do osso cortical e medular ao redor de duas diferentes superfícies (anodizada e maquinada) em tíbias de coelhos. Foram criados dois canais transversais aos implantes e estes canais foram posicionados no osso cortical e medular. Após 4 semanas, as análises histomorfométricas demonstraram uma percentagem de contato osso-implante de $16,45\% \pm 4,05\%$ para o controle (maquinada) e $24,85\% \pm 4,85\%$ para o teste (anodizada) no canal superior (cortical). No canal inferior (medular), o contato osso-implante foi de $7,01\% \pm 2,34\%$ para grupo controle e $11,35\% \pm 2,67\%$ para o grupo teste. A conclusão dos autores foi que os resultados sugerem que a anodização da superfície é benéfica para a cicatrização óssea.

Khang et al (2001) (KHANG et al., 2001) comparou implantes maquinados com implantes com duplo ataque ácido. Noventa e sete pacientes e 432 implantes foram incluídos neste estudo clínico randomizado. Após 36 meses de cicatrização, o sucesso cumulativo dos implantes com duplo ataque ácido foi de 95% e 86,7% para os implantes maquinados, o que demonstra uma diferença estatisticamente significativa, relacionada às superfícies dos implantes. Superfícies que recebem ataque ácido demonstram melhor osseointegração do que as superfícies maquinadas, em animais. Nesta revisão sistemática, os autores relatam que, baseado em estudos realizados em animais, o processo de ataque ácido permitiu uma osseointegração mais forte, quando estes implantes foram comparados a implantes lisos e rugosos, cujas superfícies foram modificadas através de outras técnicas (WENNERBERG; ALBREKTSSON, 2009).

Buser (BUSER et al., 1991) comparou seis diferentes processos de alteração da superfície dos implantes em mini-pigs. Os resultados deste trabalho demonstraram que a utilização combinada de diferentes processos pode melhorar o contato osso implante, visto que as análises histológicas revelaram o maior BIC para implantes que

foram jateados com grandes partículas seguidas por um ataque ácido (valores médios de BIC de 50-60%).

1.3 SUPERFÍCIE SLA (*Sandblasted and acid-etched - SLA*)

A combinação de jateamento com partículas e ataque ácido é uma técnica que tem sido comumente utilizada para a modificação da superfície do titânio nos últimos anos. A razão para a combinação destes métodos é que o processo de jateamento hipoteticamente atinge uma excelente rugosidade para fixação mecânica e o ataque ácido adicional regulariza alguns picos e arestas (WENNERBERG; ALBREKTSSON, 2009). Ou seja, dentre os diferentes tratamentos do titânio o jateamento de partículas é capaz de criar uma macrorugosidade, que é seguida do ataque ácido, capaz de criar microrugosidades.

Em 1991, Buser et al (BUSER et al., 1991) compararam implantes com superfície polida, jateada seguida de ataque ácido e coberta de Hidroxiapatita (HA), com valores de rugosidade variando entre 0,6 a 50 μ m. A superfície que demonstrou maior quantidade de contato osso implante foi a superfície jateada seguida de ataque ácido, embora esta superfície não fosse a mais rugosa.

Implante com superfície tratada por jateamento com partículas de areia, seguido de ataque ácido (*sandblasted and acid-etched*, [SLA]) tem demonstrado aumentada aposição óssea em estudos histomorfométricos (BUSER et al., 1991; COCHRAN et al., 1998) e maiores valores de torque de remoção em testes biomecânicos (LI et al., 2002).

A comparação dos valores de torque de remoção entre diferentes superfícies, foi realizado por Buser et al (BUSER et al., 1998). Neste estudo foram utilizados implantes com superfície maquinada, duplo ataque ácido, plasma spray e SLA, que

apresentaram rugosidade média de 0,15 μ m, 1,3 μ m, 3,1 μ m e 2 μ m, respectivamente. Os valores de torque de remoção foram significativamente mais altos para os implantes com superfície SLA. Os resultados podem ser interpretados de maneira que uma ótima rugosidade pode dever-se à adição de microrugosidades (*micropits*), sendo esta característica mais importante do que o aumento da altura da rugosidade, isto é, da profundidade dos poros.

Sammons et al em 2005 (SAMMONS et al., 2005), comparou as interações entre os osteoblastos da calvária do rato e o titânio com diferentes micro-estruturas na superfície (plasma-spray, jateamento e/ou ataque ácido, maquinada e superfícies anodizadas). Superfícies combinando jateamento com partículas e ataque ácido demonstraram índices significativos de maior aposição óssea, em comparação com as outras superfícies.

Abrahamsson et al (2004) (ABRAHAMSSON et al., 2004) avaliaram, em cães, o padrão de formação óssea em superfícies lisas (maquinadas) e SLA durante as primeiras 12 semanas de cicatrização. Os resultados demonstraram características similares de cicatrização, com eventos de reabsorção e aposição para ambas superfícies. No entanto, o grau de osseointegração foi claramente maior para as superfícies SLA.

Degidi et al (2009)(DEGIDI et al., 2009) utilizaram implantes com superfície tratada SLA, que demonstraram uma regular microrugosidade com poros micrométricos sobre uma estrutura macrorugosa criada pelo jateamento. A topografia da superfície SLA foi avaliada com microscopia eletrônica de varredura e perfilometro por Kim et al (2007) (KIM; PARK, 2007). Os valores médios de rugosidade demonstraram pequenos e uniformes micro poros com diâmetros entre 1 e 2 microns. A avaliação *in vivo* de implantes SLA colocados em tíbias de coelhos,

demonstraram bom contato osso-implante, com valor médio de 29% no comprimento total do implante. Resultados semelhantes foram apresentados por Keller et al (2003)(KELLER et al., 2003), ao demonstrarem que as superfícies rugosas SLA são mais condutivas para a adesão de osteoblastos do que as superfícies lisas.

Gebran e Wassal (2007)(GEBRAN; WASSAL, 2007) avaliaram *in vitro* a adesão de osteoblastos sobre a superfície de implantes fabricados pela Neodent (Neodent, Curitiba, Brasil). O implante estudado apresenta uma superfície porosa que promove uma irregularidade superficial com diâmetro dos seus poros variando entre 1,5 e 2 micras (microsuperfície), obtida através da subtração ácida. Os autores concluíram que o grau de rugosidade da superfície do implante apresentou sucesso na adesão óssea de células osteoblásticas.

Xavier et al (2010)(XAVIER; IKUNO; TAVARES, 2010) avaliaram a neoformação óssea ao redor de 32 implantes instalados em mandíbulas de cães. Os implantes utilizados tinham superfície maquinada e superfície rugosa (Neodent Porous) e foram avaliados após 3 e 8 semanas de cicatrização. Os implantes com superfície tratada apresentaram maior BIC do que os implantes lisos em 3 semanas ($55,0 \pm 12,5\%$ e $35,6 \pm 15\%$), enquanto não houve diferença em 8 semanas ($51,2 \pm 21,0\%$ e $48,6 \pm 18,1\%$).

Calvo-Guirado et al (2013)(CALVO-GUIRADO et al., 2013), avaliaram diferentes superfícies de implante, incluindo superfícies jateadas com partículas, superfícies que foram submetidas a ataque ácido e a combinação desses tratamentos. De acordo com os autores, as superfícies SLA são as mais comumente utilizadas e existem variações devido às combinações de tratamento disponíveis. Neste estudo, foram utilizados 30 coelhos para a instalação de 120 implantes, que foram submetidos à RFA no momento da instalação e nos períodos de avaliações subsequentes (14, 28 e

56 dias). As medidas de ISQ no momento da instalação demonstraram diferenças significativas entre os grupos e a média desses valores foi de $59,9 \pm 12,7$ no dia 0 e média de $71,5 \pm 3,7$ aos 56 dias. Aos 15 dias, não foram observadas diferenças entre os valores de QEI entre os grupos, no entanto todos os grupos apresentaram um aumento médio de 19% nos valores do QEI, do dia 0 ao dia 15.

Com o objetivo de determinar as consequências da carga prematura e da carga imediata em implante com superfície SLA, Quinlan et al (2005)(QUINLAN et al., 2005) instalaram 48 implantes em cães e determinaram 4 diferentes tempos de restauração. Os grupos foram divididos em 3 meses (A), 21 dias (B), 10 dias (C) e 2 dias (D). O BIC total para os 4 grupos foi de 69,1% (A), 71,3% (B), 74,6% (C) e 75,2% (D). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os 4 grupos e a conclusão dos autores foi que é possível se realizar carga prematura e imediata em implantes SLA, neste modelo experimental.

Baseado nestes estudos experimentais, estudos clínicos foram realizados para carregar implantes SLA após um período de cicatrização reduzido. Cochran et al (2007)(COCHRAN et al., 2007) realizaram um estudo multicêntrico com o objetivo de avaliar um grande número de implantes com superfície SLA e a redução do tempo de cicatrização (6 a 8 semanas). A população deste estudo clínico consistiu em 590 pacientes com 990 implantes SLA, carregados em até 8 semanas. Destes implantes, quatro falharam logo após o procedimento cirúrgico e uma falha tardia foi registrada após 49 meses de função. A taxa de sucesso desses implantes, determinada pelo implante estar livre de qualquer sintoma como periimplantite, dor ou infecção e por estar em função durante a última revisão, foi de 99,12% após 3 anos e de 97,38% após 5 anos.

Em uma revisão sistemática sobre os efeitos da topografia da superfície do

titânio na osseointegração, Wennerberg et al (2009)(WENNERBERG; ALBREKTSSON, 2009) relataram que as superfícies do tipo SLA, quando comparadas com superfícies maquinadas, os resultados demonstram uma osseointegração mais forte. Quando se comparam essas superfícies com outras superfícies rugosas, os resultados podem variar.

1.4 SUPERFÍCIE SLA (*Sandblasted and acid-etched*) MODIFICADA

Além da topografia da superfície, a química da superfície é outra variável importante para a aposição óssea peri-implantar, desde que isto influencia a carga da superfície e a hidrofília (KILPADI; LEMONS, 1994). A hidrofília da superfície é fortemente dependente da energia da superfície e influencia o grau de contato com o organismo. Aumentada hidrofília, portanto, melhora a interação entre a superfície do implante e o ambiente biológico. A superfície hidrofílica do titânio proporciona melhor interação da superfície do implante com água, levando a uma adequada interação deste implante com o “escudo de água” que envolve delicadas biomoléculas, tais como as proteínas. Um aumento na proliferação e na diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas, osteoprogenitoras e pré-osteoblastos em osteoblastos pode melhorar a resposta óssea e conseqüentemente a osseointegração desses implantes de titânio (SCHWARZ et al., 2007b).

In vitro, superfícies hidrofílicas suportam a adesão de monócitos, ativação plaquetária e formação de um coágulo sanguíneo, que são os eventos iniciais da osseointegração (HONG; KURT; THOR, 2013). Superfícies hidrofílicas são favoráveis para a diferenciação osteogênica de células mesenquimais e estas tem demonstrado propriedades anti-inflamatórias (DONOS et al., 2011; HAMLET et al.,

2012).

Nos últimos anos, várias modificações em propriedades específicas de superfície, como topografia, estrutura, química, carga de superfície e a umidade tem sido investigados com o objetivo de melhorar a osseointegração de implantes de titânio (FERGUSON et al., 2006; LANG et al., 2011; MORTON et al., 2010; SCHWARZ et al., 2007b). A presença de proteínas relevantes no processo de formação óssea pode ser um indicativo da bioatividade dos materiais utilizados. A alteração da composição química da superfície do implante, pode levar a diferentes respostas biológicas, em termos de neoformação óssea.

Mais recentemente, foi desenvolvida uma superfície de titânio SLA quimicamente modificada (modSLA), que tem sido introduzida com o objetivo de aumentar a aposição óssea (BUSER et al., 2004a; SCHWARZ et al., 2009). O processo de produção usado para modificar as superfícies SLA incluem a lavagem da superfície do titânio após o jateamento e ataque ácido, sob a proteção de N₂ e armazenamento contínuo em uma solução isotônica de NaCl. Esse processo tem sido capaz de produzir uma superfície quimicamente ativada com uma pequena quantidade de hidrocarbonetos e carbonatos. A superfície modificada SLA hidroxilada/hidratada resultante mostrou ter um ângulo de contato inicial avançado com a água, indicando um caráter de contato imediato com a água, ultra-hidrofílico. Schwarz et al (2007) (SCHWARZ et al., 2007b) demonstrou melhor estabilização do coágulo e pronunciada proliferação de estruturas vasculares em contato com implantes com superfície modificada quimicamente.

Bornstein et al (2008)(BORNSTEIN et al., 2008b) compararam a aposição óssea sobre duas superfícies com a mesma topografia (SLA), porém com uma modificação química (modSLA) em uma delas. A hipótese do estudo era de que a

superfície hidrofílica promoveria maior aposição óssea do que a superfície convencional, durante as fases iniciais de cicatrização. Neste estudo foram utilizados cinco cães, que tiveram os pré-molares e molares mandibulares extraídos. Após seis meses de cicatrização, os implantes foram instalados e as análises histológicas e histomorfométricas foram realizadas após 2 e 4 semanas. O contato osso/implante após 2 semanas foi significativamente maior para a superfície modificada ($28,2 \pm 7,9\%$) do que para SLA ($22,2 \pm 7,3\%$). Entretanto, o contato/osso implante atingiu valores similares para ambas superfícies após 4 semanas (modSLA, $38,2 \pm 19,7\%$; SLA $38 \pm 14,1\%$).

Em um estudo similar, Buser et al (2004)(BUSER et al., 2004b), compararam o comportamento de uma superfície SLA modificada quimicamente com uma superfície SLA. O estudo foi realizado em maxilas de *mini-pigs* e os resultados demonstraram uma diferença estatisticamente significativa entre os valores de contato osso/implante durante as fases iniciais (2 e 4 semanas) de cicatrização. Após um período de cicatrização de 4 semanas, os valores do contato osso/implante para a superfície SLA modificada foi 81,9%, comparado com 66,6% para a superfície SLA convencional. Após 8 semanas, resultados similares foram encontrados para ambas superfícies.

Ambos estudos citados anteriormente (BORNSTEIN et al., 2008a; BUSER et al., 2004b) confirmaram o potencial da superfície SLA modificada em promover maior aposição óssea especialmente durante as fases iniciais de cicatrização.

Vasak et al (2103) (VASAK et al., 2013) avaliaram o impacto da hidroflicidade nas fases iniciais da osseointegração, utilizando dois sistemas de implantes com superfícies hidrofílicas (INICELL e SLActive) e um sistema com superfície hidrofóbica micro-rugosa. Os implantes foram instalados em mini pigs e após 5, 10 e 15 dias de cicatrização, as amostras foram submetidas a análises

histológicas e histomorfométricas. As análises histológicas revelaram um padrão de cicatrização similar entre as superfícies de implantes hidrofílicas e hidrofóbicas, com formação óssea extensiva ocorrendo entre o quinto e o décimo dia, com valores de contato osso-implante (BIC) maiores que 50% após 10 dias. No dia 15, o BIC da superfície hidrofílica INICELL ($55,8 \pm 14,4\%$) foi levemente maior do que o BIC da superfície hidrofóbica ($40,6 \pm 20,2\%$). Comparando as mudanças no novo contato osso-implante do dia 5 para o dia 10, mudanças estatisticamente significativas ocorreram tanto no grupo hidrofílico como no grupo hidrofóbico, com quase metade das superfícies do implante cobertas com osso recém formado (BIC controle $49,4 \pm 27,9\%$).

Em 2011, Niklaus Lang (LANG et al., 2011) realizou um estudo pioneiro, a fim de estudar o processo de osseointegração de implantes colocados em humanos. Para isso, ele selecionou 28 voluntários na Universidade de Bern (Suíça) e instalou implantes com 4mm de altura e 2,8mm de diâmetro na região retro-molar destes pacientes. Os dois grupos de implantes utilizados foram produzidos pela mesma empresa (Straumann, Basel, CH) e receberam tratamentos de superfície disponíveis comercialmente, sendo um grupo SLA (hidrofóbica) e o outro modSLA (hidrofílica). Os implantes foram removidos após 7, 14, 28 e 42 dias para análises histológicas e histomorfométricas. Aos 7 dias, não foram observadas diferenças entre os implantes hidrofílicos e hidrofóbicos. Um BIC de 6% foi encontrado neste período, no entanto estava caracterizado por um linha de osteoblastos não mineralizada. Ocasionalmente, prematura aposição óssea sobre a superfície do implante ocorreu em locais onde o osso primário esteve em íntimo contato com a superfície do implante. A maior parte do espaço entre a superfície do implante e o leito ósseo estava preenchido com tecido mole, constituindo uma matriz primitiva com quantidade variada de *debris* ósseos.

Aos 14 dias, o BIC aumentou de 6% para 12,2% e 14,8% nas superfícies hidrofóbica e hidrofílica, respectivamente. No período de 28 dias, o BIC aumentou significativamente e a superfície SLA demonstrou um contato osso-implante de 32,4%, enquanto que a superfície modSLA apresentou 48,3% de contato entre osso e implante, demonstrando que amplas áreas das superfícies estavam agora cobertas por uma camada óssea. Após seis semanas de cicatrização, o BIC novamente aumentou significativamente e alcançou 62% para ambas superfícies. Neste momento, estava evidente um avançado estágio de maturação óssea sobre as duas superfícies.

Com relação à relevância clínica, de acordo com Lang et al (2011)(LANG et al., 2011), a superfície modSLA parece oferecer algumas vantagens, quando comparada à superfície SLA convencional. A superioridade da superfície hidrofílica é predominantemente baseada no maior BIC após 14 e 28 dias em humanos(LANG et al., 2011) e maior BIC aos 7 e 14 dias em animais(BORNSTEIN et al., 2008c).

1.5 ESTABILIDADE DO IMPLANTE

Um dos pré-requisitos para se obter a osseointegração é a estabilidade do implante no momento da instalação. Isto depende do contato mecânico e da fricção entre o implante e o osso adjacente. Durante a cicatrização, ocorre uma série de eventos que incluem necrose e reabsorção do osso traumatizado, concomitantemente com neoformação óssea. Consequentemente, a estabilidade mecânica primária é substituída por uma adesão biológica do osso durante a cicatrização, que pode ser chamada de estabilidade secundária, ou osseointegração (ABRAHAMSSON et al., 2004). Sendo assim, estabilidade primária é consequência direta do contato osso-implante e depende da densidade óssea, da técnica cirúrgica e da morfologia

macroscópica e microscópica do implante utilizado, já a estabilidade secundária é determinada pela resposta do tecido ósseo à cirurgia e à superfície do implante (DEGIDI et al., 2009; VANDAMME et al., 2008).

A estabilidade dos implantes está relacionada com propriedades biomecânicas e com a quantidade de osso em contato com o implante, como pôde ser demonstrado no estudo de Johansson & Albrektsson (JOHANSSON; ALBREKTSSON, 1991), através da utilização de testes de torque de remoção dos implantes. Neste estudo, foram utilizados implantes em tíbias de coelhos e o aumento do contato osso/implante pôde ser relacionado com maiores valores de remoção ao final do período experimental. No estudo de Szmukler-Moncler et al (2004)(SZMUKLER-MONCLER et al., 2004) implantes com superfície SLA e maquinados foram instalados em minipigs e avaliados após 10 semanas. Os valores do torque de remoção dos implantes SLA foram mais altos do que os valores dos implantes maquinados, demonstrando uma osseointegração mais forte. Hsu et al (2007)(HSU et al., 2007) compararam uma superfície maquinada com uma superfície que foi alterada por jateamento, laser e ataque ácido. Os implantes foram inseridos em coelhos e removidos após 12 semanas. O valor do torque de remoção da superfície modificada foi significativamente mais alto, levando os autores a concluir que esta fato deveu-se a maior osteocondutividade desta superfície.

Testes biomecânicos são capazes de fornecer informações sobre a rigidez da fixação entre o implante e o osso, em determinado momento da cicatrização. No entanto, a utilização de testes invasivos, que incluem medidas de torque de remoção e tração do implante, necessariamente sacrificam o implante e não podem ser utilizados clinicamente.

Sendo assim, algumas técnicas tem sido desenvolvidas para avaliar estabilidade primária e secundária, de maneira que possam ser aplicadas clinicamente em humanos. Meredith et al (1997) (MEREDITH et al., 1997) introduziram a análise de frequência de ressonância (AFR) na implantodontia como um método não invasivo utilizado previamente na engenharia civil. AFR é baseado na contínua excitação do implante com o uso de um transdutor conectado ao implante, o qual é excitado através de uma escala de frequência sonora com subsequente medição da oscilação vibratória do implante. Esta técnica causa uma vibração no implante e as medições realizadas fornecem informações para um quociente de estabilidade do implante (QEI) em uma escala de 1 a 100. QEI é uma descrição numérica da estabilidade do implante determinada por um instrumento específico (Ostell, Integration Diagnostics), mas os valores obtidos não estão diretamente relacionados com qualquer parâmetro físico.

No estudo de Meredith et al (1997)(MEREDITH et al., 1997), foram utilizados tíbias de coelhos para a instalação de implantes e posterior análise de estabilidade através do método de análise de frequência de ressonância. Para a realização da medida de AFR, um transdutor foi aparafusado no topo do pilar do implante e este elemento foi excitado por uma onda com amplitude de 1,0v, a qual variou entre frequências de 6-12 kHz em intervalos de 25 Hz. A resposta do feixe foi medido por um segundo elemento *piezo*-cerâmico e a frequência de ressonância do sistema implante/transdutor foi calculado pela amplitude do pico do sinal. Foi observado que a resposta do transdutor pode ser direcional e variar com a orientação. Por isso, os autores sugerem que se façam medidas com diferentes orientações, perpendicularmente e paralelamente ao longo eixo da tíbia, por exemplo, para se obter um resultado mais preciso. Após as medidas de AFR, os animais foram sacrificados e os implantes foram analisados histomorfometricamente. Os resultados deste estudo

demonstraram aumento significativo nas medidas de AFR entre 14 e 28 dias. A média de aumento para as medidas com orientação paralela à tíbia foi de 405Hz (± 234 Hz) após 14 dias e 658Hz (± 332 Hz) após 28 dias. Na direção perpendicular, o aumento médio foi de 435Hz (± 291 Hz) após 14 dias e 750Hz (± 441 Hz) após 28 dias. O aumento das medidas de AFR observadas aos 14 dias e o contínuo aumento após 28 dias, sugere uma continuidade do processo de cicatrização dos implantes. Os autores sugerem que os aumentos observados nas medidas de AFR podem ser atribuídos ao aumento da rigidez entre o implante e o tecido adjacente. A relação entre as medidas de AFR e o BIC não ficaram claras neste estudo e os autores sugerem que novos estudos devem ser realizados para elucidar esta questão. Os autores salientaram que esta técnica foi criada para ser não invasiva e por esta razão, o implante não vibra diretamente, mas somente o feixe no transdutor que é excitado. Se houver qualquer vibração indireta na interface entre implante/tecido, esta seria de baixa amplitude, o que não causa dano ao reparo tecidual.

A estabilidade de implantes colocados em tíbias de coelhos foi testada por Sul et al.(SUL et al., 2009), utilizando a técnica de AFR. Foram avaliadas seis diferentes superfícies e a conclusão dos autores foi que as propriedades das superfícies influenciam nas medidas de estabilidade dos implantes. Já a relação entre AFR e a quantidade de contato osso-implante ainda é obscura. No estudo de Abrahamsson et al.(ABRAHAMSSON; LINDER; LANG, 2009), os autores avaliaram os valores da AFR com relação à osseointegração. Em cães, os autores realizaram as extrações de todos os pré-molares e após 3 meses, instalaram implantes (maquinados e com superfície SLA) nestes locais. Os resultados falharam em demonstrar correlação entre os parâmetros histológicos de osseointegração com os valores de QEI, durante o período estudado.

Em um estudo prospectivo, Bornstein et al (2009)(BORNSTEIN et al., 2009) avaliaram 56 implantes com superfície SLA e SLA modificada, colocados na mandíbula posterior de 40 pacientes parcialmente edêntulos. Após 3 semanas de cicatrização, os implantes receberam carga e as medidas de AFR, além de exames clínicos e radiográficos, foram realizadas em 4, 7, 12 e 26 semanas. Os valores de ISQ aumentaram consistentemente durante o período de acompanhamento. No momento da colocação dos implantes, os valores de ISQ médios foram 74,33 e na 26ª semana, o valor médio alcançado foi 83,82. Todos os implantes obtiveram sucesso clínico e a conclusão dos autores foi que as medidas de ISQ parecem ser confiáveis para monitorar a estabilidade do implante durante o período inicial de cicatrização.

1.6 CONTATO OSSO-IMPLATE (*Bone to implant contact – BIC*)

Osseointegração tem sido reivindicado como a condição clínica que permite carga funcional sobre os implantes dentários (ADELL et al., 1981) e histologicamente, consiste no contato direto entre osso e implante (BRÅNEMARK et al., 1977). Esse processo envolve uma complexa ordem de eventos e a resposta tecidual que promove a osseointegração dos implantes depende de vários fatores como a superfície do implante, sítio anatômico, trauma cirúrgico, tempo de cicatrização, entre outros(MARCO et al., 2005). Consequentemente, nos últimos anos, muitos estudos experimentais em animais (ABRAHAMSSON; LINDER; LANG, 2009; BOTTICELLI et al., 2005; BUSER et al., 2004a; SCHWARZ et al., 2007b) foram executados com o objetivo de investigar os diferentes estágios de osseointegração seguindo a inserção de vários tipos de implantes de titânio com diferentes designs e modificações de superfície. A primeira descoberta variável na maioria desses estudos

foi a porcentagem de um novo contato osso-implante, acessado histomorfometricamente por meios de coloração convencional de áreas descalcificadas e não-descalcificadas de tecidos. O Percentual de contato osso-implante está relacionado com um grande número de fatores, como já foi citado anteriormente, e todos esses fatores influenciam na adsorção de proteínas na superfície do implante, na adesão de células osteoblásticas e no desenvolvimento de osso neoformado na superfície do implante (LE GUEHENNEC et al., 2008).

A topografia dos implantes tem sido amplamente estudada e várias alterações na superfície do titânio tem sido propostas para obter melhores resultados clínicos e histológicos. Entretanto, os resultados desses estudos são inconclusivos com relação à melhor superfície para obter sucesso clínico. Existe sim, um consenso na literatura, de que implantes com superfície moderadamente rugosas apresentam melhor integração com o tecido ósseo do que as superfícies chamadas maquinadas ou lisas.

Com o objetivo de comparar diferentes superfícies, Calvo-guirado et al (2013)(CALVO-GUIRADO et al., 2013), realizaram análises histomorfométricas para avaliar o BIC, além de medidas de torque reverso e AFR, de 120 implantes instalados na tíbia de 30 coelhos. As análises do contato osso-implante do estudo demonstraram, nos primeiros 15 dias de cicatrização, um valor médio de $40,8 \pm 2,3\%$, diminuindo para $27,7 \pm 1,1\%$ após 28 dias, com um valor final de $39,4 \pm 1,4\%$ aos 56 dias pós-operatórios. O grupo de implantes com superfície SLA demonstrou valores médios de BIC de $32,5 \pm 2,5\%$ após 15 dias de cicatrização, $32,85 \pm 1,4\%$ aos 28 dias e $34,04 \pm 2,3\%$ aos 56 dias.

O padrão de cicatrização óssea ao redor de uma superfície hidrofóbica SLA tem muitas características em comum com o padrão observado nas superfícies hidrofílicas SLA. Um prematura proliferação de estruturas vasculares e migração de

células mesenquimais e fibroblastos, precedem a deposição do tecido osteóide que é normalmente coberto por osteoblastos. Estes eventos precoces resultam na deposição de uma fina camada de matriz óssea na superfície do implante. Entretanto, o contato osso-implante final, resultante deste processo pode depender das características da superfície do implante. Superfícies do tipo SLA parecem ser realmente osteocondutivas, favorecendo a precoce osseointegração, em comparação com superfícies maquinadas. A modificação dessa superfície SLA também parece oferecer vantagens, com superiores valores de contato osso-implante no primeiro mês de cicatrização (LANG et al., 2011).

1.7 MODELO EXPERIMENTAL

Atualmente, a investigação de quais modificações na morfologia da superfície dos implantes podem influenciar positivamente o fenômeno da osseointegração, tem sido largamente realizada (ALBREKTSSON; SENNERBY, 1990; BORNSTEIN et al., 2008c; BUSER et al., 2004a; COCHRAN et al., 2007; FERGUSON et al., 2006; LI et al., 2002; WENNERBERG et al., 1997). O desenvolvimento de uma interface ideal entre osso e implante é um processo que vem sendo investigado, com o objetivo de determinar que parâmetros de rugosidade, tipo e espessura de oxidação e alterações químicas podem acelerar o processo de osseointegração. A avaliação de biocompatibilidade, estabilidade mecânica e segurança deve ser realizada sob rigorosas condições em testes *in vitro* e *in vivo*. As vantagens dos estudos *in vitro* incluem uma rápida resposta com relação à toxicidade e citocompatibilidade.

Com o objetivo de avaliar diferentes superfícies de implantes, pesquisas pré-clínicas são fundamentais e a definição de um adequado modelo experimental é muito

importante. O coelho é um dos animais mais comumente utilizados para pesquisas de implantes dentários e este animal é utilizado em aproximadamente 35% de todos os estudos muscoesqueléticos (ARX et al., 2005; DE SOUZA NUNES et al., 2010; JOHANSSON; ALBREKTSSON, 1991; LONDON et al., 2002a; PARK et al., 2007; TAMIMI et al., 2006; TRESGUERRES et al., 2002; WENNERBERG et al., 1997). O coelho atinge a maturidade entre 6 e 8 meses de idade e de acordo com Roberts et al. (1984)(ROBERTS et al., 1984), o metabolismo do coelho é 3 a 4 vezes mais rápido do que o humano. Em um período de espera de 8 semanas, é possível observar a maioria do remodelamento osteogênico, que em coelhos irá ocorrer entre as primeiras 6 a 8 semanas pós-cirurgia.

Os locais experimentais mais utilizados para estudar a interação entre superfícies e tecidos adjacentes são a tíbia e o fêmur, visto que a anatomia e dimensões destes ossos correspondem razoavelmente bem com os maxilares edêntulos em humanos(HSU et al., 2007). Além disso, o acesso cirúrgico é fácil e parece gerar mínima morbidade aos animais. Sendo assim, o coelho vem sendo amplamente utilizado para avaliar o processo de osseointegração e a influência que diferentes tratamentos na superfície do titânio podem causar neste processo(BURGOS et al., 2008; CALVO-GUIRADO et al., 2013; CHOI et al., 2006; HSU et al., 2007; JOHANSSON; ALBREKTSSON, 1991; LEE et al., 2009; PARK et al., 2007)

London et al (2002)(LONDON et al., 2002a) utilizaram a tíbia de coelhos para avaliar o contato osso-implante em quatro diferentes superfícies de implantes. Neste estudo foram realizadas avaliações histomorfométricas entre 1 e 8 semanas e os resultados demonstraram melhores escores numéricos para o BIC de implantes com superfície modificada por duplo ataque ácido. Gottlow et al (2012)(GOTTLOW; BARKAMO; SENNERBY, 2012) utilizaram a tíbia e o fêmur de 30 coelhos para

avaliar a influência do desenho dos implantes e da alteração na superfície do titânio. Neste estudo, foram utilizados 90 implantes com superfície oxidada [(Replace Select Tapered, TiUnite, Nobel Biocare AB, Gothenburg, Sweden), (OX)] e 90 implantes com superfície SLA hidrofílica [(Standard Plus, SLActive, Institut Straumann AG, Basel, Switzerland) (HSBA)]. Os implantes foram analisados através de histomorfometria (BIC), estabilidade do implante (ISQ) e torque de remoção (RTQ), após 10 dias, 3 e 6 semanas. As medidas ISQ mostraram um aumento na estabilidade em ambos os tipos de implantes no período de 6 semanas. Os implantes HSBA demonstraram uma estabilidade primária mais baixa do que os implantes OX ($p < .001$). Os implantes HSBA instalados na tíbia distal apresentaram um valor de ISQ mais baixo após 10 dias ($p < .05$). Após 6 semanas, os implantes HSBA posicionados no fêmur se mostraram mais estáveis do que os implantes OX ($p < .05$). As análises histológicas revelaram formação óssea direta nos dois tipos de superfícies de implante. As medidas histomorfométricas mostraram significativamente mais contato osso-implante para os implantes HSBA após 10 dias ($p < .01$), valores similares após 3 semanas e um contato osso-implante significativamente maior nos implantes OX após 6 semanas. Estes resultados estão de acordo com estudos experimentais anteriores que usavam implantes não-hidrofílicos como controle. Os achados podem ser explicados pela hidrofiliabilidade, pela habilidade de atração e pela ligação sanguínea para a superfície em um estágio primário. Foi especulado que o contato osteogênico possa ser explicado pela formação de um coágulo de sangue estável na interface tecido-implante, e que a rede de fibrinas serve como um esqueleto para a migração de células osteogênicas para a interface. Também é provável que o possível efeito da hidrofiliabilidade seja visto durante os períodos iniciais de cicatrização mas não nos estágios mais tardios, o que poderia explicar o porquê dos valores similares de contato

osso-implante vistos após 3 semanas. Medidas do contato osso-implante e do preenchimento ósseo ao redor do implante são comumente usadas, e é genericamente antecipado que valores maiores indicam uma melhor resposta do tecido ósseo. No entanto, este estudo demonstrou uma pequena correlação entre os dados biomecânicos e histológicos. Os implantes HSBA mostraram maior fixação apesar do nível de contato osso-implante ser menor ou igual quando comparados aos implantes oxidados.

Uma série de estudos realizada com implantes instalados em tíbias de coelhos utilizou protótipos dentro de uma câmara óssea e teve como objetivo avaliar a resposta tecidual que ocorre ao redor dos implantes com carga imediata. Os experimentos foram realizados em câmaras ósseas colocadas na tíbia de 10 coelhos, que permitiam o crescimento tecidual no interior dessas câmaras. Graças a uma estrutura dupla, os tecidos no interior da câmara eram retirados sem danificar a câmara, o que permitiu diversos experimentos com o mesmo animal. Em cada uma das 10 câmaras ósseas, quatro experimentos foram conduzidos: carga imediata induzida por um deslocamento do implante de 0 (controle), 30, 60 e 90 μ m, 800 ciclos por dia com frequência de 1Hz, duas vezes por semana durante 6 semanas. Após esses testes, foram realizadas análises histológicas e histomorfométricas. No estudo publicado por Duyck em 2006 (DUYCK et al., 2006), essas câmaras continham um implante de titânio cilíndrico e maquinado, que sofreu carga controlada imediatamente após a instalação. O volume total de tecido encontrado foi significativamente menor nos implantes sem carga. A densidade óssea aumentou com o aumento do micro-movimento, demonstrando valores significativamente maiores para as condições de teste de 60 μ m e 90 μ m, comparados com a situação sem carga. No entanto, o BIC diminuiu significativamente nos grupos com micro-movimentação dos implantes. A conclusão dos autores foi que a movimentação dos implantes tem

efeito significativo na diferenciação tecidual ao redor dos implantes com carga imediata e prejudica o contato osso-implante em implantes maquinados. Já nos implantes com superfície rugosa, que foram avaliados com a mesma metodologia no estudo de Vandamme et al (2008)(VANDAMME et al., 2008), a resposta tecidual foi diferente e a carga controlada pareceu influenciar positivamente os valores do BIC. Neste estudo, a incidência de contato entre a superfície do implante e o tecido ósseo foi significativamente maior para o grupo com micro-movimentos de 90 μ m, comparados aos implantes que não receberam carga. A conclusão dos autores foi que cargas controladas parecem influenciar positivamente a neoformação óssea na interface osso-implante.

Nessa mesma série de estudos, Vandamme et al. (VANDAMME et al., 2007b) avaliaram a influência do desenho do implante no BIC, sob condições de presença e ausência de carga. Implantes cilíndricos (com carga imediata) e cônicos (com carga imediata e sem carga) foram instalados nas tíbias dos coelhos. Os resultados demonstraram maior BIC para os implantes cônicos que receberam carga imediata, porém sem diferenças estatisticamente significante quando comparados aos implantes cilíndricos.

Utilizando 20 coelhos como modelo experimental, Le Guehenec et al (2008) (LE GUEHENEC et al., 2008), avaliaram a osseointegração de diferentes superfícies de implantes, através de análises de contato osso-implante, após 2 e 8 semanas. Os valores médios de BIC para as superfície SLA após 2 semanas foi de 84,3 \pm 7,7% e após 8 semanas, 68,0 \pm 3,9%.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram comparar o contato osso/implante e estabilidade de implantes com superfície hidrofóbica texturizada por jateamento de areia e ataque ácido e implantes com superfície hidrofílica texturizada por jateamento de areia e ataque ácido e modificada quimicamente. Foram utilizados como parâmetro de análise métodos morfológicos, histomorfométricos, e de estabilidade dos implantes, conforme relacionados a seguir:

- Contato osso/implante dos implantes corados em hematoxilina e eosina (HE) e tricômio de Goldner (TG);
- Quantificação do contato osso/implante por meio de morfometria da área;
- Análise de frequência de ressonância (AFR) imediata e mediata (Ostell, Diagnostics Innovations).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

Foram adotados os Princípios Éticos em Experimentação Animal, preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), instituição filiada ao *International Council for Laboratory Animal Science* e a Legislação Brasileira de Animais de Experimentação, Lei Federal nº 11.794, de 09 de outubro de 2008. A execução desta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais (CEEPA), da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, em 18 de fevereiro de 2013, sob processo número 036/2012.

3.2 Animais

No estudo, foram utilizados 16 coelhos Nova Zelândia machos adultos, com aproximadamente quatro meses de idade e peso variando de 3 a 4Kg. Cada coelho recebeu um implante em cada tibia, totalizando 32 implantes. Durante todo o período experimental os animais permaneceram confinados em gaiolas de aço individuais no Biotério da Universidade Sagrado Coração de Bauru, São Paulo (USC), sendo limpas diariamente, recebendo água e ração sem restrição.

3.3 Tamanho da amostra

A definição do tamanho da amostra (N=16 por grupo, N total=32) baseou-se em dados encontrados na literatura (MARDAS; STAVROPOULOS; KARRING, 2008) optando-se pelo número mínimo que não pudesse comprometer os resultados. Para Rang et al. (2007) (RANG; DALE, 2007), considerações éticas e

financeiras pedem que um teste deva abranger uma amostra com o menor “N” possível.

3.4 Delineamento experimental

Os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para instalação de um implante em cada tíbia, sendo posteriormente constituídos os dois grupos, de acordo com o tipo de implante utilizado, como se segue:

- **Acqua (Grupo I):** implante cônico com alterações nos desenhos das roscas e superfície tratada por jateamento de areia, ataque ácido, hidrofílica e modificada quimicamente (Neodent Drive® Acqua, Neodent, Curitiba, Brasil).
- **Porous (Grupo II):** implante cônico com alterações nos desenhos das roscas e superfície tratada por jateamento de areia e ataque ácido (Neodent Drive® Porous, Neodent, Curitiba, Brasil);

3.4.1 Procedimento Cirúrgico

Ao início do delineamento experimental, todos os animais foram submetidos à cirurgia para a instalação de um implante em cada tíbia. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no biotério da Universidade Sagrado Coração (USC/Bauru). A anestesia dos animais foi realizada por meio de injeção intramuscular do anestésico Quetamina a 1% (Francotar, Virbac Ltda., São Paulo, Brasil) associado ao sedativo Cloridrato de Xilazina a 2% (Virbaxyl 2%, Virbac Ltda., São Paulo, Brasil), na dosagem recomendada pelo fabricante, em relação ao peso do coelho.

Após a tricotomia da região a ser operada, a anti-sepsia foi realizada com solução aquosa de polivinilpirolidona 1% (Ceras Johson, Rio de Janeiro, Brasil) (Figura 1). Foi realizada anestesia local com mepivacaína 2% com nor-adrenalina

1:100.000 (DFL, Rio de Janeiro, Brasil), a fim de obter hemostasia e analgesia pós-operatória. A incisão da pele foi realizada com lâmina de bisturi número 15 (Figura 2), para expor a porção proximal de cada tíbia. A musculatura foi dissecada para permitir o acesso e elevação do periósteo (Figura 3). A superfície plana da porção proximal da tíbia foi utilizada para a colocação do implante (Figura 4). Para a instalação do implante, foram realizadas as fresagens determinadas pelo fabricante para o tamanho de implante selecionado (Neodent Drive® 3,5mm x 8mm). A sequência de fresagem foi realizada com 1.500rpm e sob constante irrigação de solução fisiológica para não aquecer o tecido ósseo (Figuras 5-9). Randomicamente, as tíbias foram separadas e os implantes instalados, constituindo os Grupos I e II (Figuras 10 e 11). Logo após a instalação dos implantes, o transdutor específico foi conectado ao implante e foi realizada a medida de AFR, com o Ostell (Diagnostics Innovations), em ambas as fixações por outro pesquisador (Figuras 12 e 13). Estas medidas foram realizadas em dois sentidos (Figuras 14 – 16): proximal para distal (paralelo ao longo eixo da tíbia; chamado de vestibular) e lateral para medial (perpendicular ao longo eixo da tíbia; chamado mesial). Após a aferição da AFR, parafusos de cobertura foram utilizados para proteger os implantes e os retalhos foram reposicionados e suturados (Figura 17). A musculatura e a fáscia foram suturadas com fio reabsorvível de poliglactina 910 4.0 (Vicryl Ethicon, Johnson & Johnson, USA) e a pele com fio de nylon 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, USA) (Figuras 18 e 19).

Os animais receberam antibiótico Flotril 2,5% (Schering-Plough S.A., Rio de Janeiro, Brasil) na dose de 0,2mL/Kg (equivalente a 5mg/Kg de peso de enrofloxacina) por cinco dias e antiinflamatório tramadol na dose de 5mg/kg em aplicação intramuscular imediatamente após o procedimento cirúrgico. Não houve intercorrências durante o período de observação.



Figura 1: Antissepsia com polivinilpirolidona (PVPI) a 1%



Figura 2: Incisão com lâmina 15



Figura 3: Elevação do periósteo com descolador de Molt.

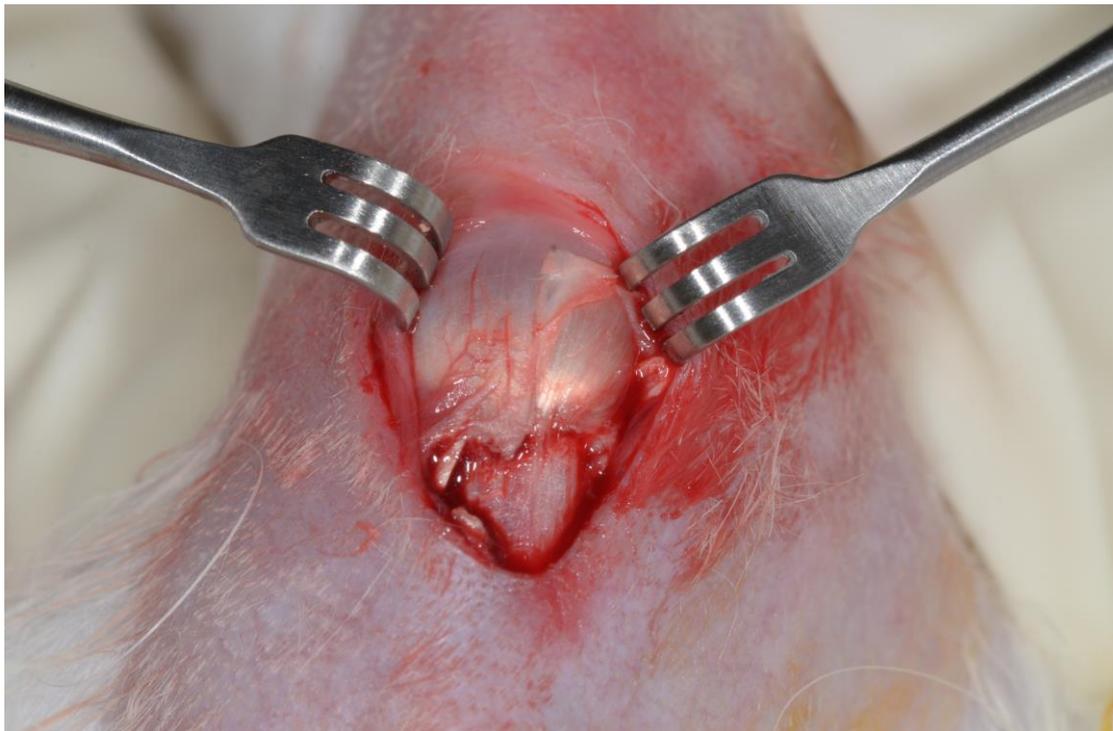


Figura 4a: Acesso à porção proximal da tíbia

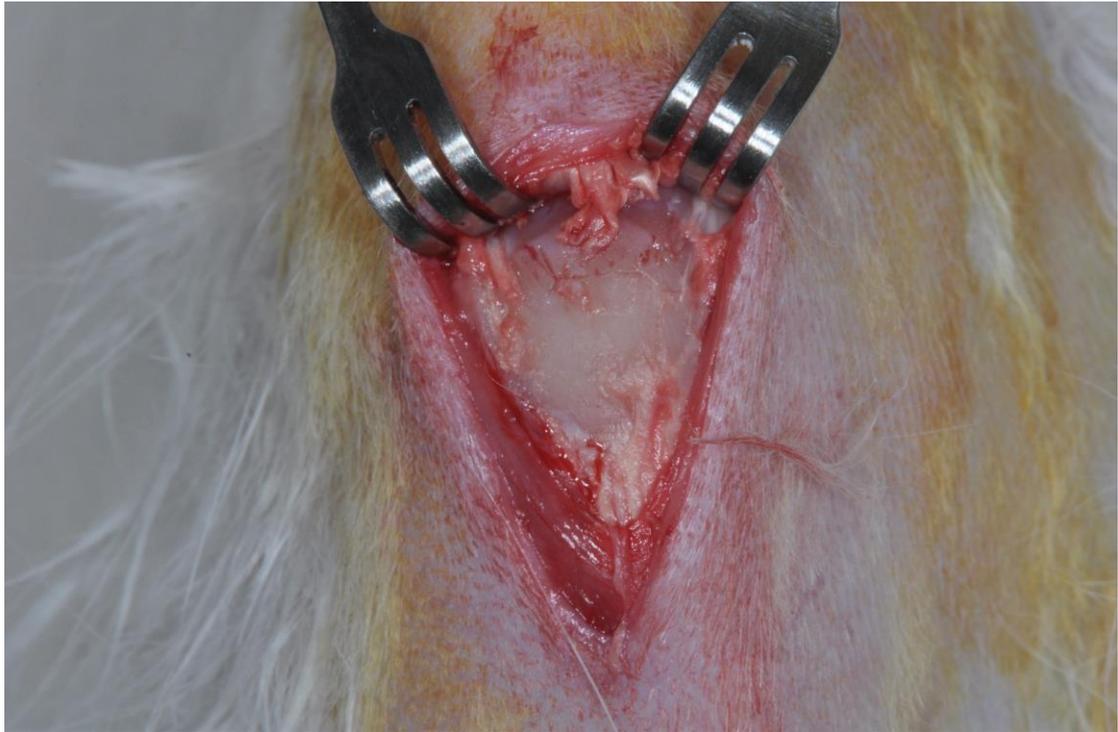


Figura 4b: Exposição da porção proximal da tíbia

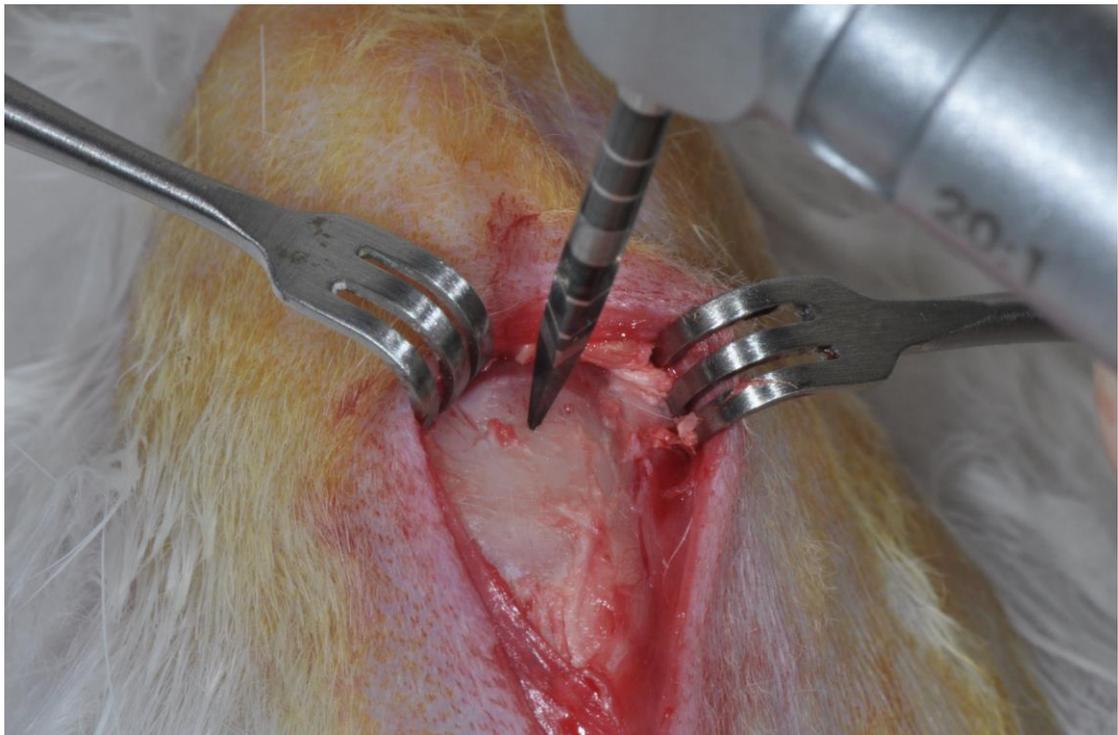


Figura 5: Sequência de fresagem, de acordo com a indicação do fabricante. Broca piloto.

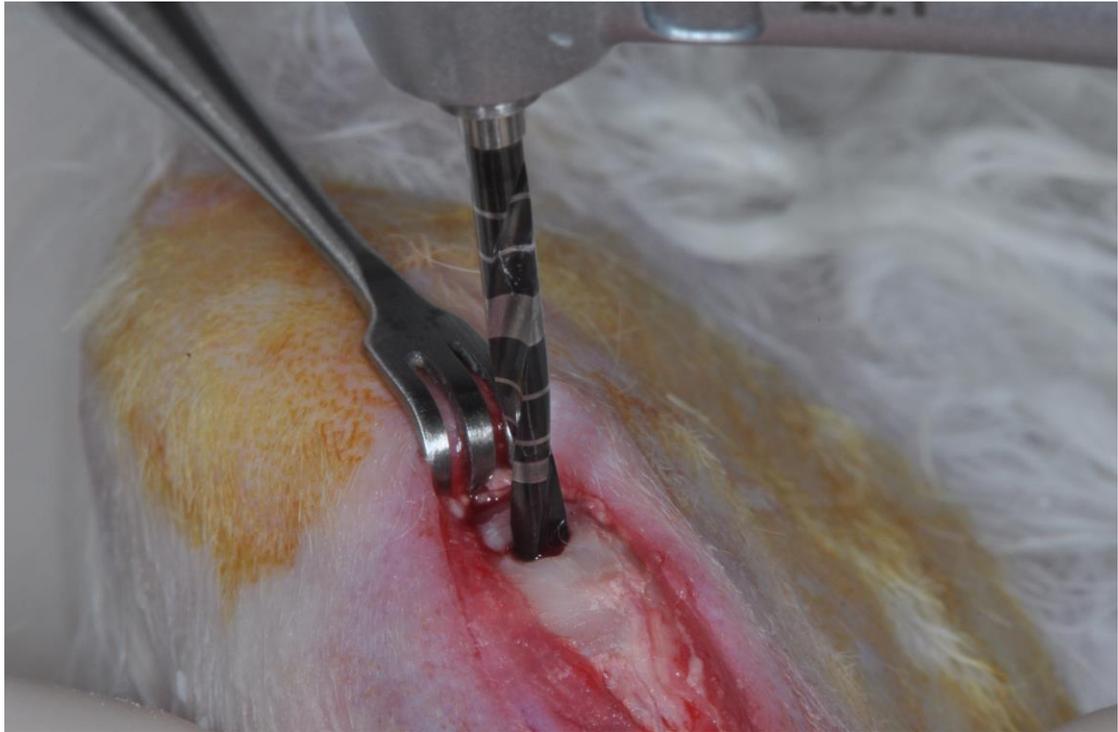


Figura 6: Broca helicoidal de 2mm de diâmetro.



Figura 7: Broca helicoidal de 2mm sob irrigação com soro fisiológico 0,9%.

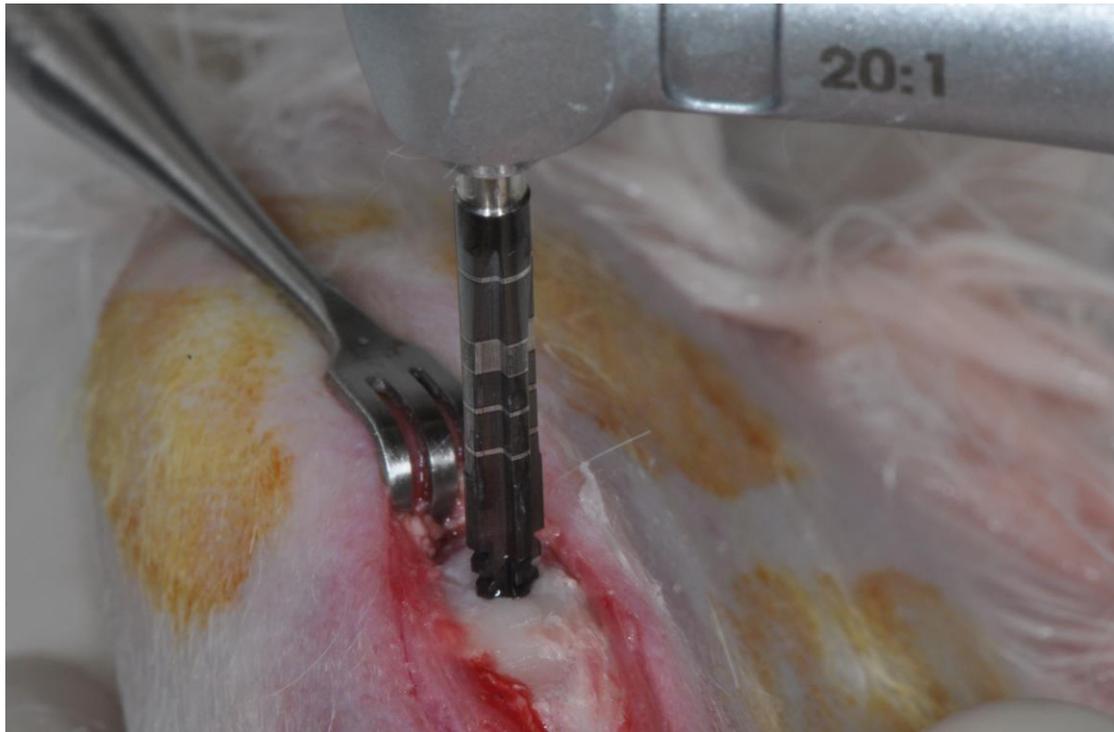


Figura 8: Broca cônica com 3,5mm de diâmetro. Broca final para instalação de implantes com 3,5mm de diâmetro. No presente estudo foram utilizados implantes com 8mm de comprimento.

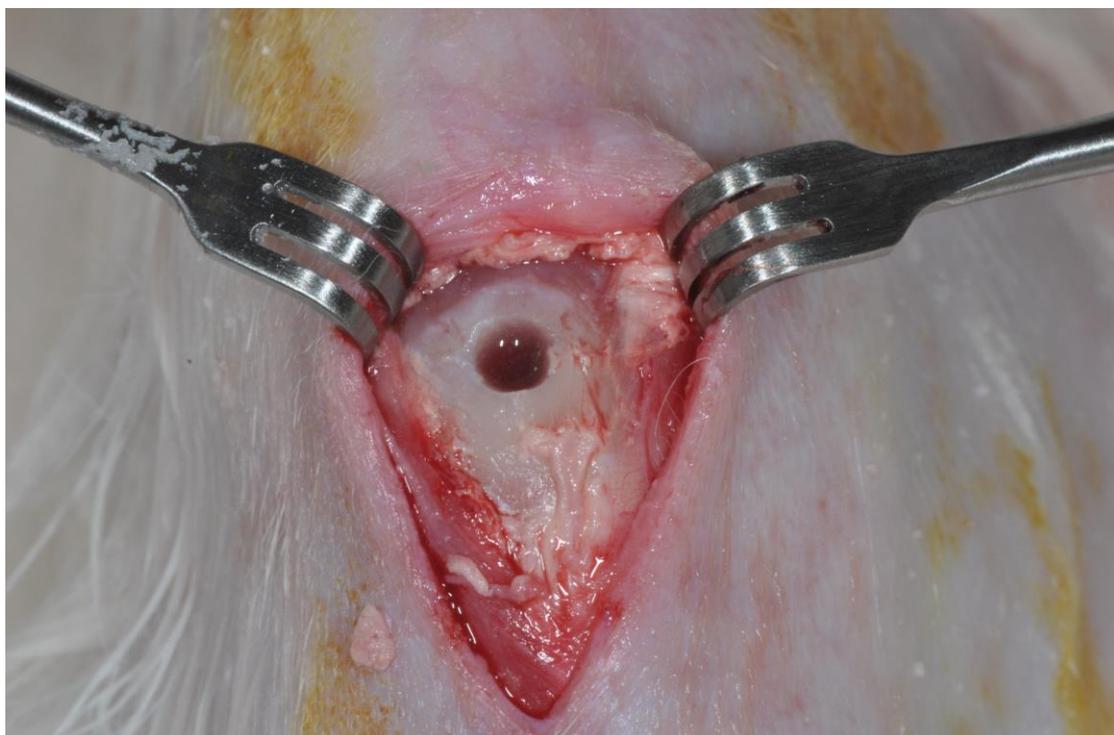


Figura 9: Sítio cirúrgico após a completa fresagem.

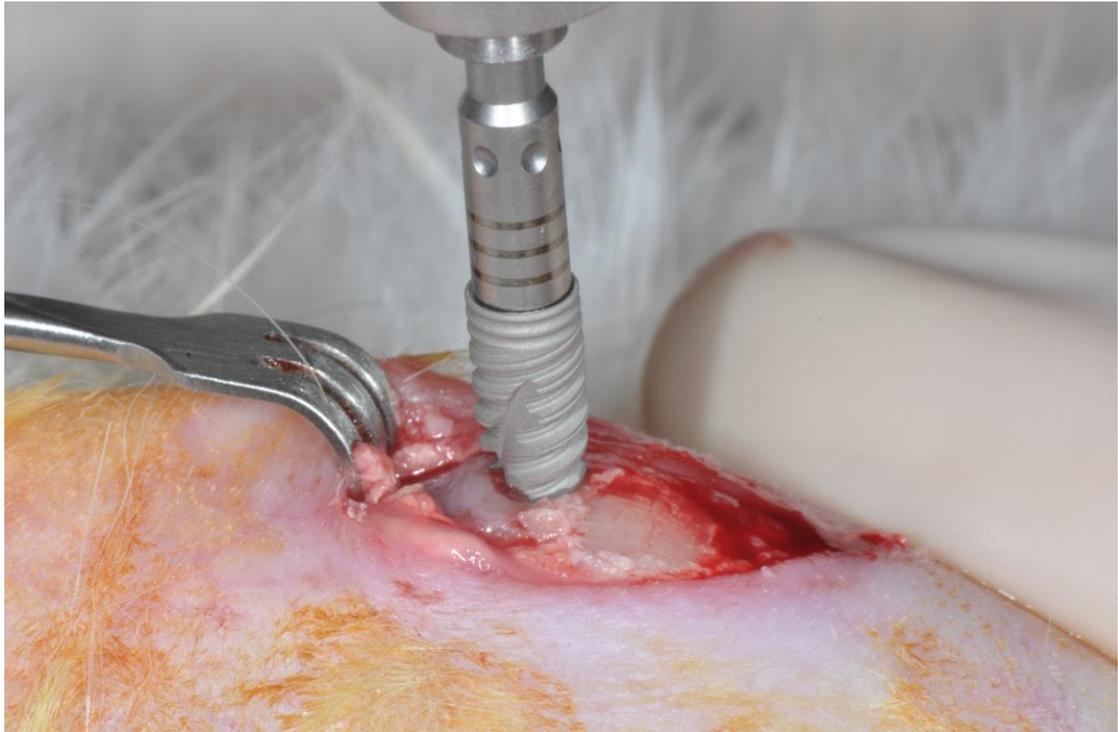


Figura 10: Instalação do implante Neodent Porous (3,5x8mm)



Figura 11a: Instalação do implante Neodent Acqua (3,5x8mm)

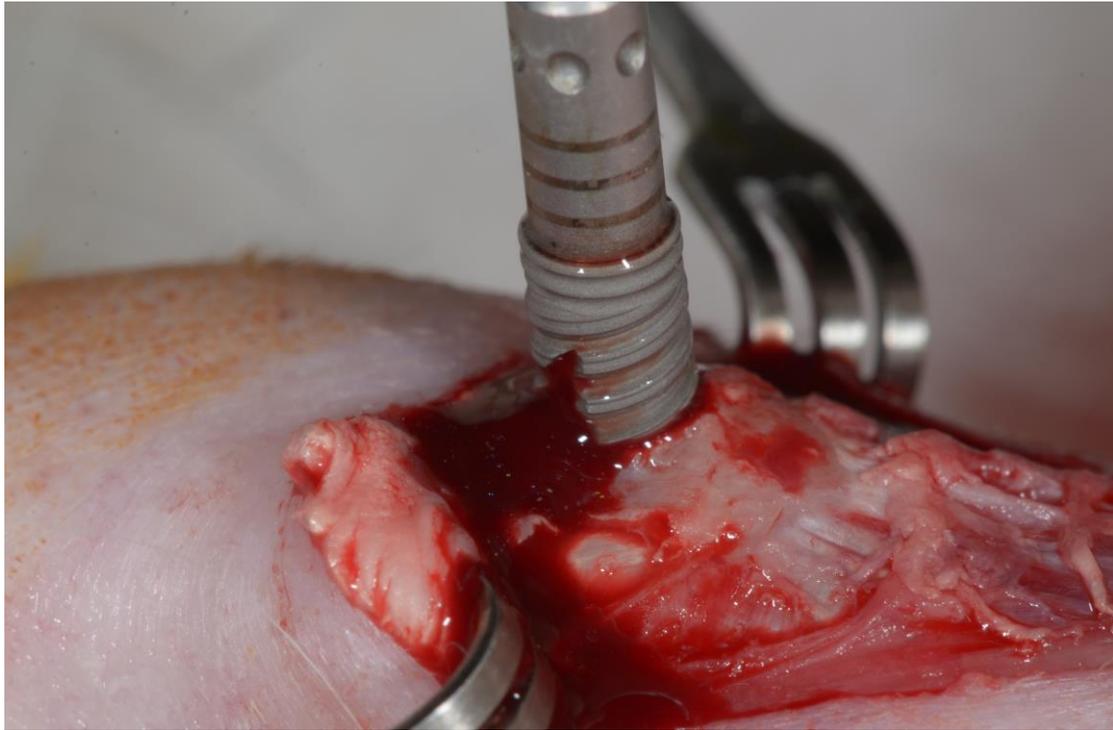


Figura 11b: Implante com superfície hidrofílica sendo instalado na tíbia do coelho.

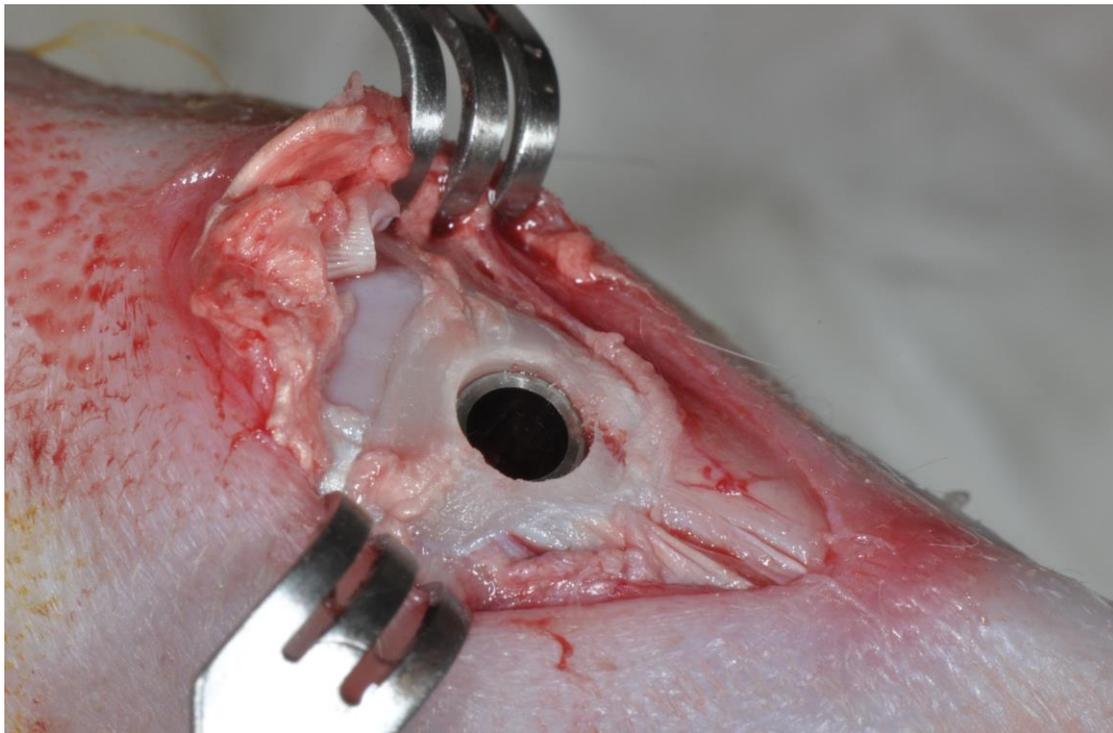


Figura 12: Implante instalado na porção proximal da tíbia.



Figura 13: Conexão do transdutor do Ostell para medição do QEI.



Figura 14: Medição do QEI realizada no sentido proximal para distal (paralela à tíbia do coelho)



Figura 15: Medição do QEI realizada no sentido lateral para medial (Perpendicular à tibia do coelho)

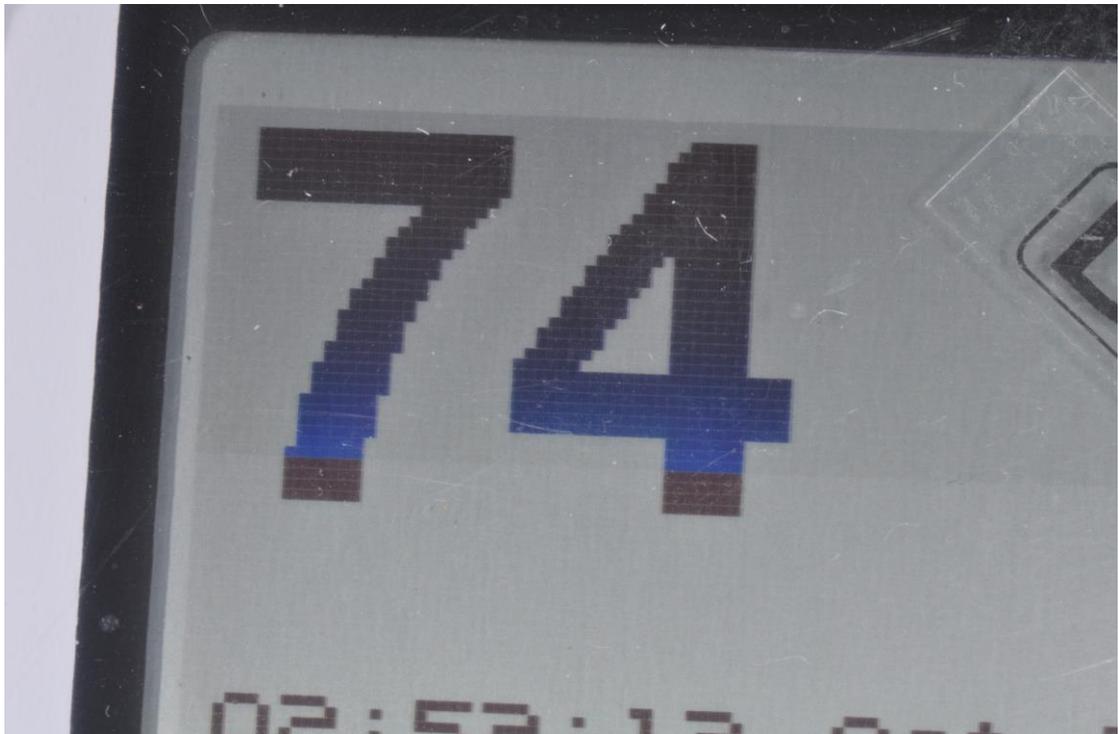


Figura 16: Visor do Ostell com a medida do QEI.

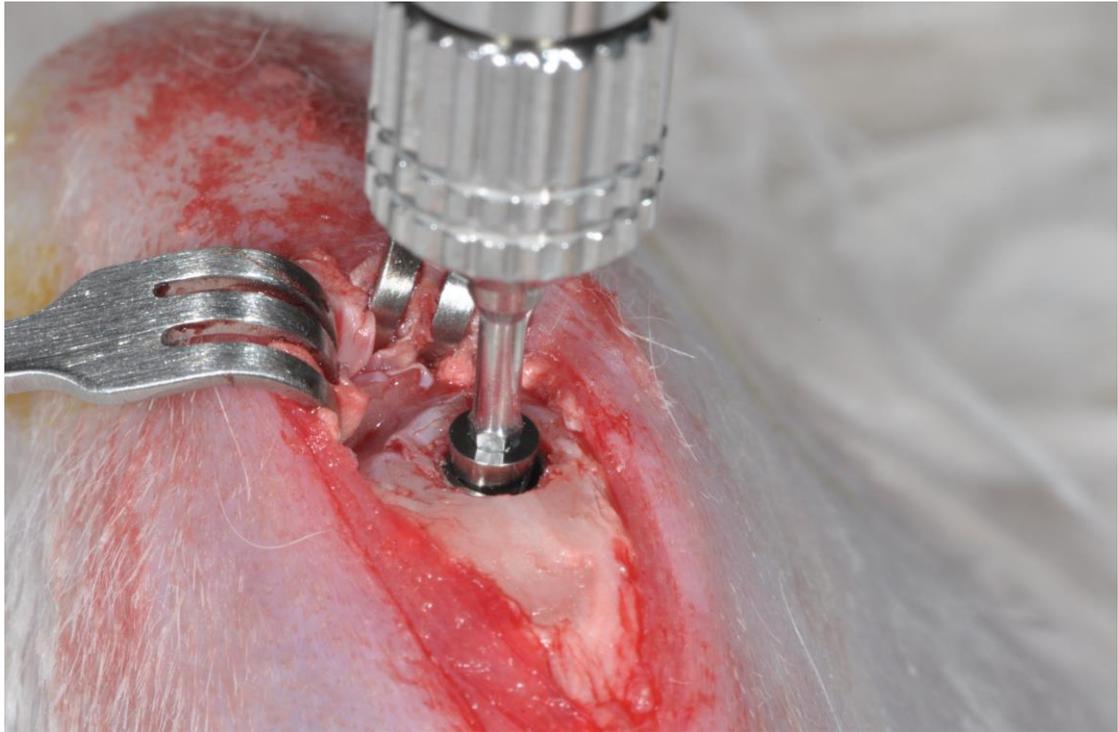


Figura 17a: Instalação do parafuso de cobertura sobre o implante

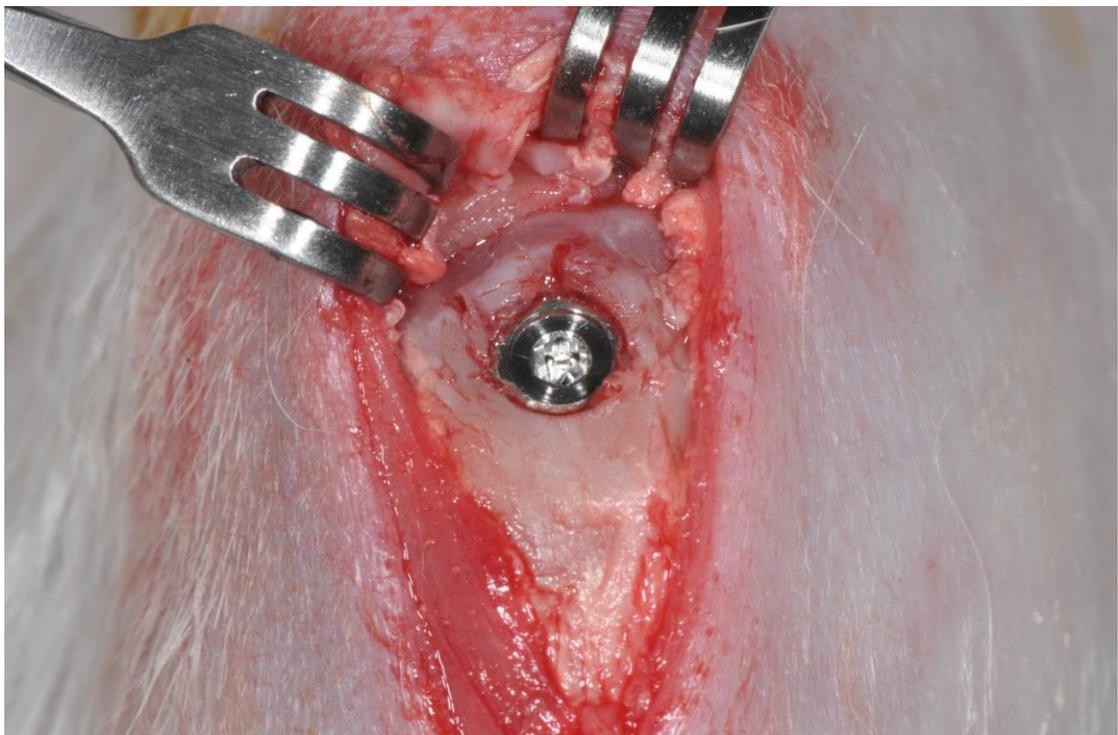


Figura 17b: Parafuso de cobertura aparafusado ao implante.



Figura 18: Sutura da musculatura e da fáscia com fio reabsorvível vicryl 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, USA)



Figura 19: Sutura da pele com fio de nylon 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, USA)

3.4.2 Análise de Frequência de Ressonância (AFR)

Para a realização da AFR foram utilizados transdutores específicos para o tipo de conexão do implante, fornecidos pelo fabricante do implante (Neodent, Curitiba, Brasil). As medições foram realizadas em dois sentidos: proximal para distal e medial para lateral, em cada implante. As medidas de AFR foram realizadas por um pesquisador que não participou dos procedimentos cirúrgicos nem da randomização dos implantes, em dois momentos: imediatamente à instalação dos implantes e posteriormente, ao término dos períodos experimentais estabelecidos. Os valores obtidos, ou seja, o Quociente de Estabilidade do Implante (QEI) foram analisados e comparados entre os grupos estudados, bem como entre os períodos analisados.

3.5 Obtenção das amostras

No presente estudo, foram estabelecidos quatro períodos experimentais de 1, 2, 4 e 8 semanas, com o objetivo de avaliar as fases iniciais de cicatrização, bem como o período de maturação óssea.

Após o término dos períodos experimentais estabelecidos, foram obtidas as peças para avaliação histológica e histomorfométrica. Para tanto, os coelhos foram anestesiados e sacrificados por meio de sobredosagem anestésica.

As tíbias foram removidas com auxílio de brocas tipo *carburundum* em baixa rotação, fixadas em formalina (Merck) a 10% por 48 horas. As amostras foram então submetidas ao processamento histológico, conforme descrição a seguir.

3.6 Processamento Histológico

Completado os delineamentos experimentais estabelecidos, procedeu-se a descrição morfológica macro e microscópica das áreas reconstruídas em todos os

espécimes considerando padrão das estruturas ósseas adjacentes, enfatizando a quantificação do contato osso/implante, bem como padrão do tecido ósseo adjacente, neoformação, maturação e remodelação óssea. O processamento histológico foi baseado no protocolo de Oltramari-Navarro (2010) (OLTRAMARI-NAVARRO; NAVARRO, 2010), utilizando o sistema Struers (Mintom, Struers, Dinamarca) para a realização da microtomia.

3.6.1 Procedimentos de fixação e desidratação

A fixação das amostras foi realizada em solução de formalina a 10% (Merck) durante 48 horas. Após esta etapa, as peças passaram por uma secagem em estufa por 2 horas a 60° C. A desidratação em álcool etílico das peças foi realizada seguindo a sequência de proporcionalidade do álcool etílico. Cada banho teve duração de 7 dias e iniciou com álcool a 70%. Após, as peças foram banhadas com álcool a 80% e 90%, sendo ambas soluções preparadas com álcool etílico a 95% e água. O último banho foi realizado com álcool absoluto.

Após a desidratação, a amostra foi retirada de seus recipientes, drenada e submetida ao procedimento de secagem em uma incubadora por 2 horas a 60°C.

3.6.2 Procedimentos de inclusão

As amostras foram embutidas a frio com a resina LR White (London Resin Company, UK), seguindo as seguintes proporções: banho de resina 70% e álcool absoluto 30% por 7 dias; banho de resina 80% e álcool absoluto 20% por 7 dias; banho de resina 90% e álcool absoluto 20% por 7 dias; banho de resina 100% por 7 dias.

Em seguida, o catalisador da própria resina (London Resin Company, UK) foi adicionado na resina em concentração de 100%, sendo acondicionado em temperatura de 4°C por 24 horas.

3.6.3 Procedimentos de microtomia

Os blocos foram seccionados paralelamente ao longo eixo do implante com o auxílio de uma cortadeira de precisão (Mintom, Struers, Dinamarca) com velocidade de 100rpm e precisão do corte de 0,01mm.

O corte teve início a partir da cabeça do parafuso usando um disco de corte diamantado. A espessura do corte foi de aproximadamente $500 \pm 10 \mu\text{m}$. Estes cortes foram fixados em uma lâmina de resina acrílica com resina LR White. Ambos os lados da amostra foram submetidos ao desgaste com lixas de carbetto de silício 500#. O desgaste fino foi realizado com lixa de carbetto de silício 1200# e 2400#, finalizando com uma espessura aproximada de $30\mu\text{m}$. A espessura da secção foi verificada em intervalos regulares com o microscópio

3.6.4 Procedimento de coloração

O protocolo para coloração foi baseado em um banho inicial com água oxigenada a 10% durante 5 minutos. Em seguida, os cortes foram enxaguados em água destilada. Na sequência, procedeu-se a coloração com a solução de azul de toluidina (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil) durante 20 minutos, seguidos pelo enxágue em água destilada. Após a coloração, os cortes permaneceram em temperatura ambiente *overnight* para secagem. Após a secagem, as lamínulas foram aderidas utilizando bálsamo do Canadá (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil).

3.7 Calibração intra-examinador

A avaliação histológica e histomorfométrica foram realizadas pelo mesmo examinador, previamente calibrado. Para calibração, supervisionada por Patologista experiente, a cada 20 lâminas observadas, o examinador repetiu a observação de 10 lâminas, comparando as medidas obtidas entre ambas as observações e aplicando o teste *Kappa* intra-examinador a fim de verificar a veracidade das medidas. Para quantificar o grau de concordância para os resultados dos testes *Kappa* aplicados, foi utilizada a porcentagem de concordância recomendada por Landis e Koch (LANDIS; KOCH, 1977), em que foram aceitos apenas os seguintes valores: 0,61 a 0,80, representando importante concordância, e 0,81 a 1,0, representando quase concordância completa. Caso essas concordâncias não tenham sido obtidas, a análise das lâminas foi repetida.

3.8 Avaliação histomorfométrica do contato osso-implante (*Bone to implant Contact, BIC*)

A análise histomorfométrica foi realizada com o auxílio do programa ImageJ64 (National Institutes of Health, USA), com aumento de 40x num monitor de 27 polegadas (Apple Inc, USA). Cada implante examinado foi primeiramente dividido em terços (microrosca, cervical e apical), a fim de permitir a identificação e medição do BIC em todas as roscas (Figuras 20 - 28). Assim sendo, para cada rosca do implante foi determinado o comprimento do *chamber* e, num segundo momento, foram identificadas todas as áreas que apresentavam contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante. A soma da superfície linear de todas as áreas ósseas que estavam em contato com a superfície do implante foram divididas pelo comprimento total do *chamber*, obtendo-se assim uma medida percentual que representa o contato

osso-implante (BIC) para cada rosca. Essa análise foi repetida em todas as roscas de todos os implantes utilizados, a fim de se obter o BIC total para cada implante.

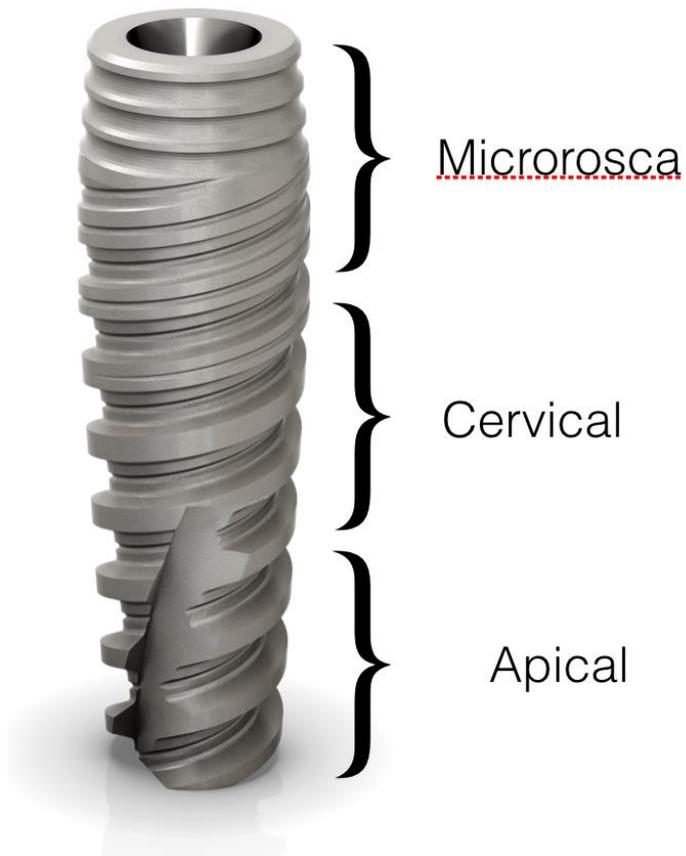


Figura 20: Esquema demonstrando a divisão do implante em terços (microrosca, cervical e apical) para análise do BIC.

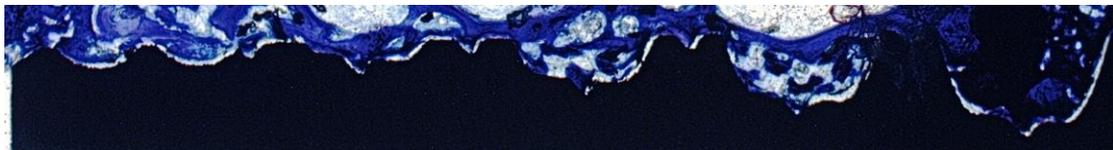


Figura 21: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 7 dias de avaliação. Neste corte observa-se a região das microroscas e dois *chambers* cervicais. Observa-se tecido ósseo com coloração azul escuro em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas..

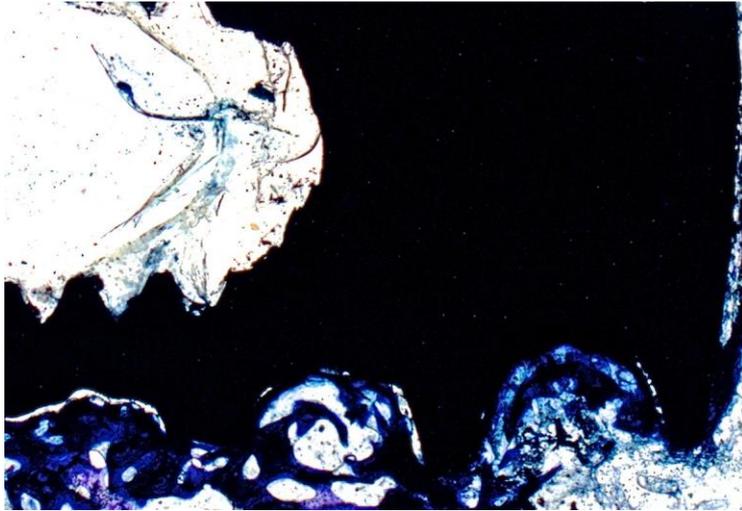


Figura 22: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 14 dias de avaliação. Neste corte observa-se a região das microroscas e parte dois *chambers* cervicais. Observa-se tecido ósseo com coloração azul escuro em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

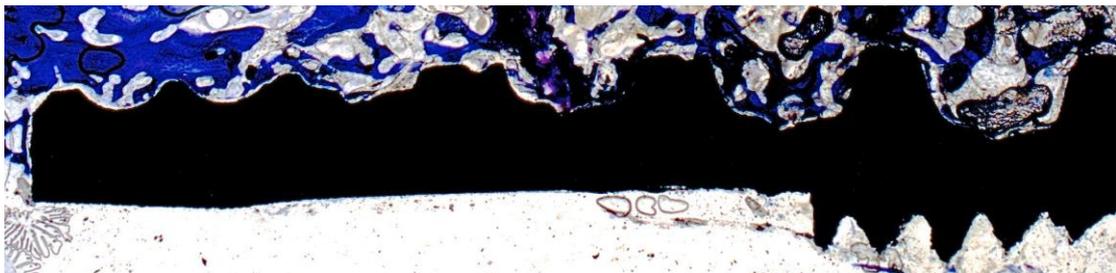


Figura 23: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 30 dias de avaliação. Neste corte observa-se a região das microroscas e três *chambers* cervicais. Observa-se tecido ósseo com coloração azul escuro em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

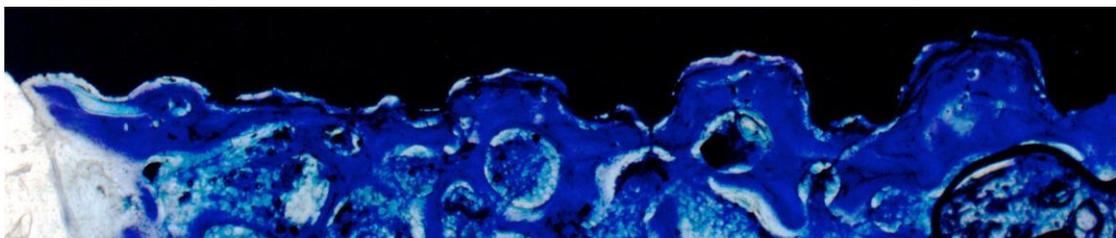


Figura 24: Grupo Acqua, demonstrando o BIC aos 60 dias de avaliação. Observa-se grande quantidade de tecido ósseo, com coloração azul escuro, em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

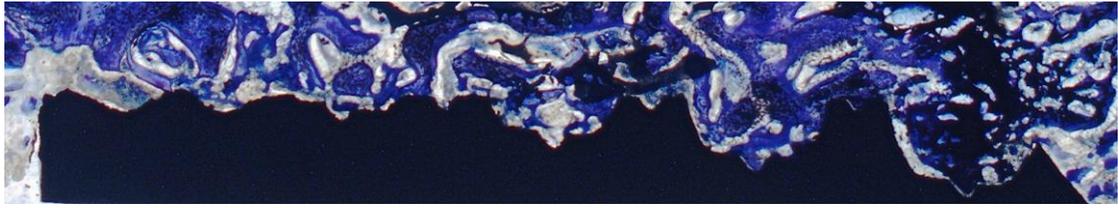


Figura 25: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 07 dias de avaliação. Observa-se o contato inicial de tecido ósseo, com coloração azul escuro, com a superfície do implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

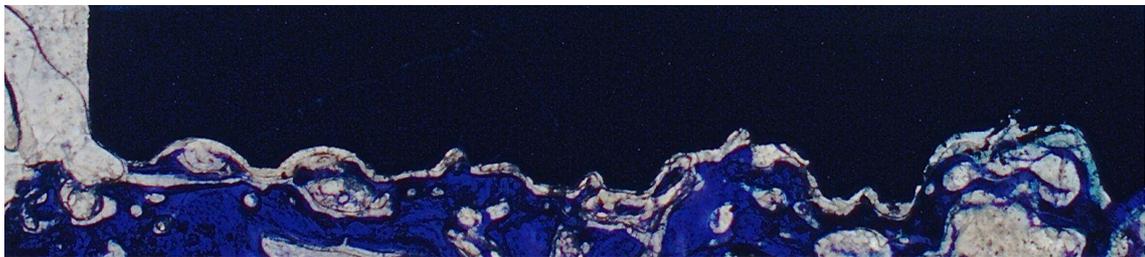


Figura 26: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 14 dias de avaliação. Observa-se parcial contato de tecido ósseo, com coloração azul escuro, com a superfície do implante nas roscas, microroscas e nas câmaras entre as roscas.



Figura 27: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 30 dias de avaliação. Observa-se parcial contato de tecido ósseo, com coloração azul escuro, com a superfície do implante na região das microroscas.

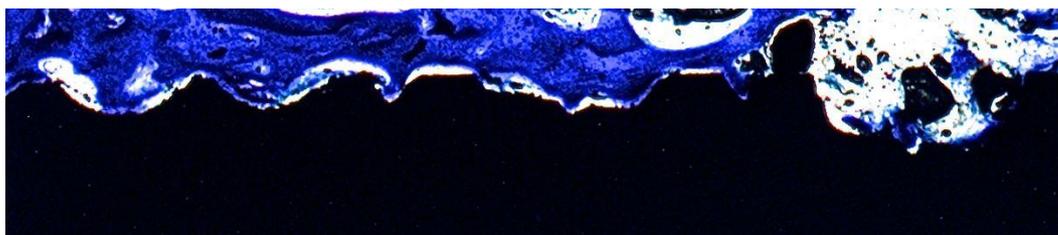


Figura 28: Grupo Porous, demonstrando o BIC aos 60 dias de avaliação. Observa-se grande quantidade de tecido ósseo, com coloração azul escuro, em contato com o implante nas roscas e nas câmaras entre as roscas.

3.9 Análise estatística

Os valores das médias do BIC de ambos os grupos, grupo I e II, foram submetidos à análise estatística por meio de testes não paramétricos sobre variáveis quantitativas de amostras independentes. Para observar as diferenças entre grupos, os valores tanto das médias gerais do BIC, quanto das médias de regiões individuais do BIC (microrosca, cervical e apical) foram comparados entre si em cada período individualmente, por meio do teste t não paramétrico Mann-Whitney. Já os valores do mesmo grupo em função do tempo, foram comparados por meio do teste de Kruskal – Wallis seguido do pós teste de Dunns para observar as diferenças estatísticas em relação à BIC durante a osseointegração. O nível de probabilidade de erro foi fixado em 5% ($p < 0,05$), considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$. Os testes foram aplicados utilizando os programas GraphPad InStat e GraphPad Prisma 5 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Os valores das médias do QEI inicial e final de ambos grupos, Acqua e Porous, foram submetidos à análise estatística por meio de testes não paramétricos sobre variáveis quantitativas de amostras independentes. Para observar as diferenças entre grupos, os valores tanto das médias gerais do QEI inicial e final, quanto das

médias individuais Vestibular (paralelo ao longo eixo da tíbia) e Mesial (perpendicular ao longo eixo da tíbia) foram comparados entre si em cada período individualmente, por meio do teste t não paramétrico Mann-Whitney . Já os valores do mesmo grupo em função do tempo, foram comparados por meio do teste de Kruskal – Wallis seguido do pós teste de Dunns. O nível de probabilidade de erro foi fixado em 5% ($p < 0,05$), considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$. Os testes foram aplicados utilizando os programas GraphPad InStat e GraphPad Prisma 5 (GraphPad Software, San Diego, CA).

A correlação entre os valores de BIC e QEI foi testada através do teste de correlação de Pearson (Microsoft Excel, Version 14.3.9, Microsoft Corporation, Santa Rosa, CA).

4. RESULTADOS

4.1 CONTATO OSSO-IMPLANTE (*Bone Implant Contact -BIC*)

A análise histomorfométrica realizada objetivou quantificar o contato osso-implante (BIC) em todas as roscas do implante. Os valores das médias do BIC de ambos os grupos, Acqua e Porous, foram submetidos à análise estatística por meio de testes não paramétricos sobre variáveis quantitativas de amostras independentes. Para observar as diferenças entre grupos, os valores tanto das médias gerais do BIC, quanto das médias de regiões individuais do BIC (microrosca, cervical e apical) foram comparados entre si em cada período individualmente, por meio do teste t não paramétrico Mann-Whitney. Já os valores do mesmo grupo em função do tempo, foram comparados por meio do teste de Kruskal – Wallis seguido do pós teste de Dunns para observar as diferenças estatísticas em relação à BIC durante a osseointegração. O nível de probabilidade de erro foi fixado em 5% ($p < 0,05$), considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$. Os testes foram aplicados utilizando os programas GraphPad InStat e GraphPad Prisma 5 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Na comparação da média geral do BIC, entre Acqua e Porous, foram observadas diferenças estatisticamente significantes no período de 14 dias ($p=0,028$) e no período de 30 dias ($p=0,028$). Em relação aos terços separados do BIC, a média da região cervical foi estatisticamente diferente apenas aos 30 dias ($p=0,028$), enquanto a média da região apical apresentou diferenças aos 14 e aos 30 dias ($p=0,028$). Não foram apontadas diferenças estatisticamente significantes na região da microrosca entre os grupos.

Na análise da cinética de osseointegração durante os diferentes períodos dentro de um mesmo grupo, foram apontadas diferenças entre os períodos de 7 vs 30

dias, 7 vs 60 dias, 14 vs 30 dias, e 14 vs 60 dias para a média geral do BIC no grupo Acqua. Na região da microrosca, foram observadas diferenças entre 14 vs 30 dias e 14 vs 60 dias. Considerando a região cervical, observou-se diferença entre 7 vs 60 dias. Já na região apical, foram apontadas diferenças entre 7 vs 30 dias e 14 vs 30 dias ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças significantes durante os períodos no grupo Porous.

Tabela 1. Média Geral do BIC nos implantes Acqua vs Porous

	Acqua	Porous
7dias	43,47±2,20 ^{aA}	45,38±1,80 ^{aA}
14dias	43,32±1,31 ^{aA}	46,27±0,10 ^{bA}
30 dias	55,03±5,14 ^{aB}	47,13±0,67 ^{bA}
60 dias	54,68±3,51 ^{aB}	50,86±1,03 ^{aA}

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na comparação entre os grupos (linhas), letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre as colunas (períodos) ($P < 0.05$).

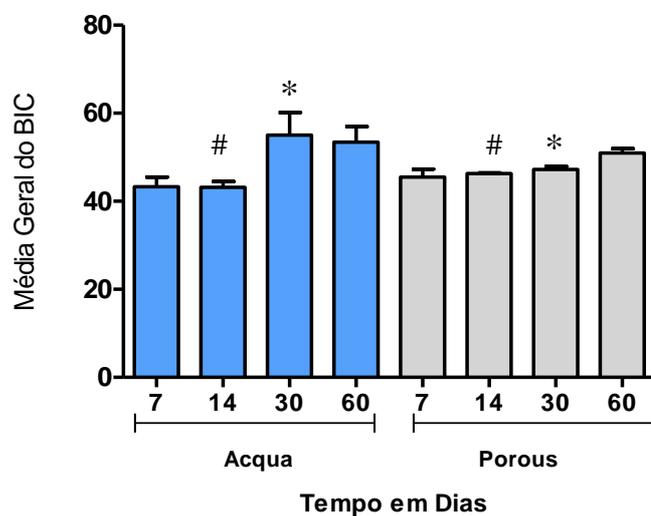


Gráfico 1. Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante. Média Geral (%) dos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Tabela 2. Médias da Região da Microrosca do BIC nos implantes Acqua vs Porous

	Acqua	Porous
7 dias	44,62±3,29 ^{aAB}	46,4±2,62 ^{aA}
14 dias	41,94±3,43 ^{aB}	46,63±1,21 ^{aA}
30 dias	56,77±8,01 ^{aA}	48,42±1,58 ^{aA}
60 dias	51,08±4,35 ^{aA}	53,66±2,19 ^{aA}

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na comparação entre os grupos (linhas), letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre as colunas (períodos) ($P < 0.05$).

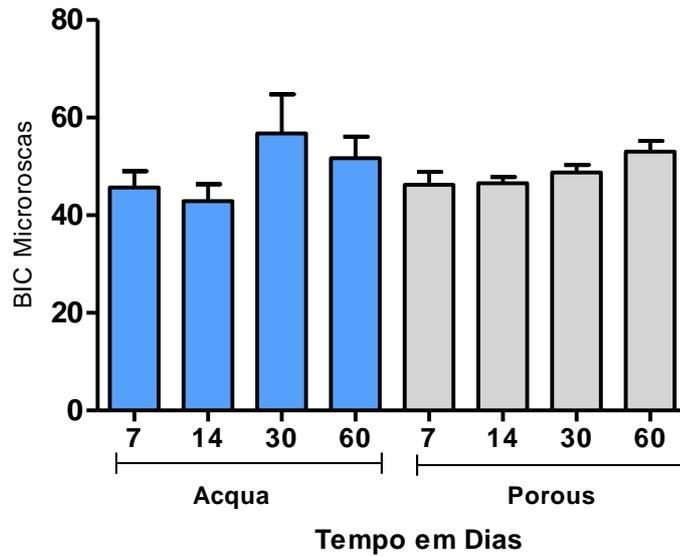


Gráfico 2. Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante na região das microroscas. Média do BIC (%) nesta área nos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Tabela 3. Médias da Região Cervical do BIC nos implantes Acqua vs Porous

	Acqua	Porous
7 dias	43,72±3,98 ^{aA}	45,71±2,72 ^{aA}
14 dias	45,89±1,33 ^{aAB}	46,81±1,37 ^{aA}
30 dias	53,66±5,90 ^{aAB}	47,59±0,93 ^{bA}
60 dias	51,86±6,20 ^{aB}	49,6±0,85 ^{aA}

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na comparação entre os grupos (linhas), letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre as colunas (períodos) ($p < 0.05$).

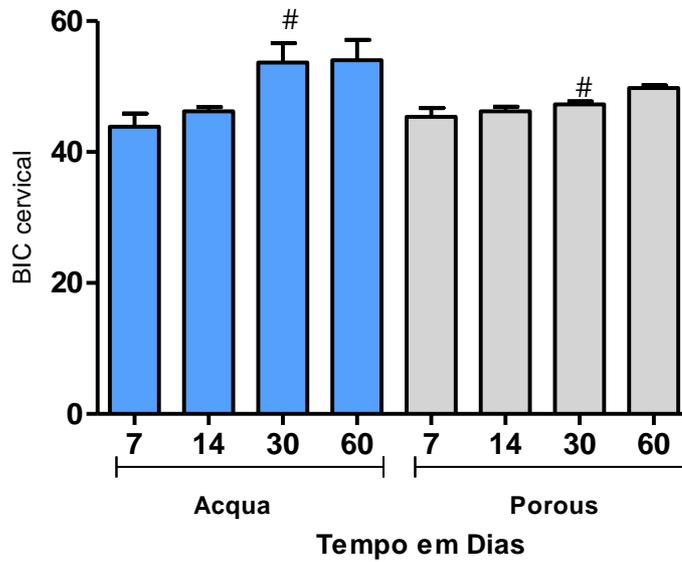


Gráfico 3. Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante na região cervical. Média do BIC (%) nesta área nos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Tabela 4. Médias da Região Apical do BIC nos implantes Acqua vs Porous

	Acqua	Porous
7 dias	39,22±4,13 ^{aA}	43,74±5,55 ^{aA}
14 dias	40,48±2,37 ^{aA}	45,77±2,19 ^{bA}
30 dias	55,34±1,15 ^{aB}	45,45±1,26 ^{bA}
60 dias	53,92±5,57 ^{aAB}	50,66±1,78 ^{aA}

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na comparação entre os grupos (linhas),

letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas entre as colunas (períodos) ($P < 0.05$).

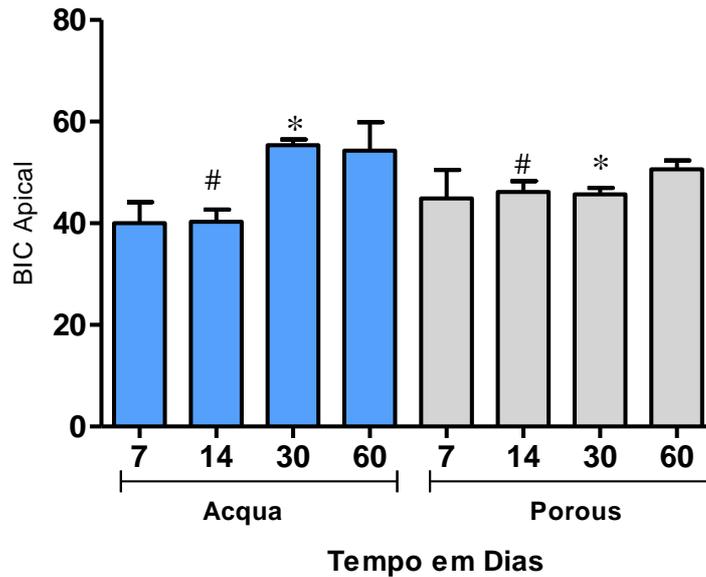


Gráfico 4. Representação gráfica da formação óssea em contato com o implante na região apical. Média do BIC (%) nesta área nos dois grupos (Acqua e Porous). Símbolos (# *) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

4.2 ANÁLISE DE FREQUÊNCIA DE RESSONÂNCIA (AFR)

Os valores das médias do QEI inicial e final de ambos grupos, Acqua e Porous, foram submetidos à análise estatística por meio de testes não paramétricos sobre variáveis quantitativas de amostras independentes. Para observar as diferenças entre grupos, os valores tanto das médias gerais do QEI inicial e final, quanto das médias individuais Vestibular (paralelo ao longo eixo da tibia) e Mesial (perpendicular ao longo eixo da tibia) foram comparados entre si em cada período individualmente, por meio do teste t não paramétrico Mann-Whitney. Já os valores do mesmo grupo em função do tempo, foram comparados por meio do teste de Kruskal – Wallis seguido do pós teste de Dunns. O nível de probabilidade de erro foi

fixado em 5% ($p < 0,05$), considerados estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$. Os testes foram aplicados utilizando os programas GraphPad InStat e GraphPad Prisma 5 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Na comparação da média geral do QEI, entre Acqua e Porous, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Não foram observadas diferenças significantes para as medições realizadas com diferentes orientações (paralela e perpendicularmente à tibia do coelho). Os resultados do teste Mann-whitney para comparação entre grupos revelou diferenças estatisticamente significantes entre os implante Acqua e Porous no período de 07 dias ($p=0,026$).

Na análise da cinética de osseointegração durante os diferentes períodos dentro de um mesmo grupo, foram apontadas diferenças estatisticamente significativas entre os períodos de 7 vs 60 dias e 30 vs 60 dias, para a média geral do QEI no grupo Acqua. No grupo dos implantes Porous, foram encontradas diferenças estatisticamente significante entre os períodos de 30 vs 60 dias, para a média geral do QEI.

Tabela 5. Média Geral (%) inicial e final do QEI nos implantes Acqua vs Porous

	Acqua		Porous	
	Inicial	Final	Inicial	Final
7dias	63,88 ± 3,9	61,5 ± 8,01	65,5 ± 7,32	68,75 ± 4,16
14dias	63 ± 3,96	71,38 ± 3,77	64,63 ± 4,13	70,63 ± 2,38
30 dias	68,25 ± 7,74	62,5 ± 5,83	66,38 ± 4,17	56,38 ± 14,89
60 dias	69,63 ± 2,2	76,13 ± 2,23	70 ± 2,13	75,63 ± 3,88

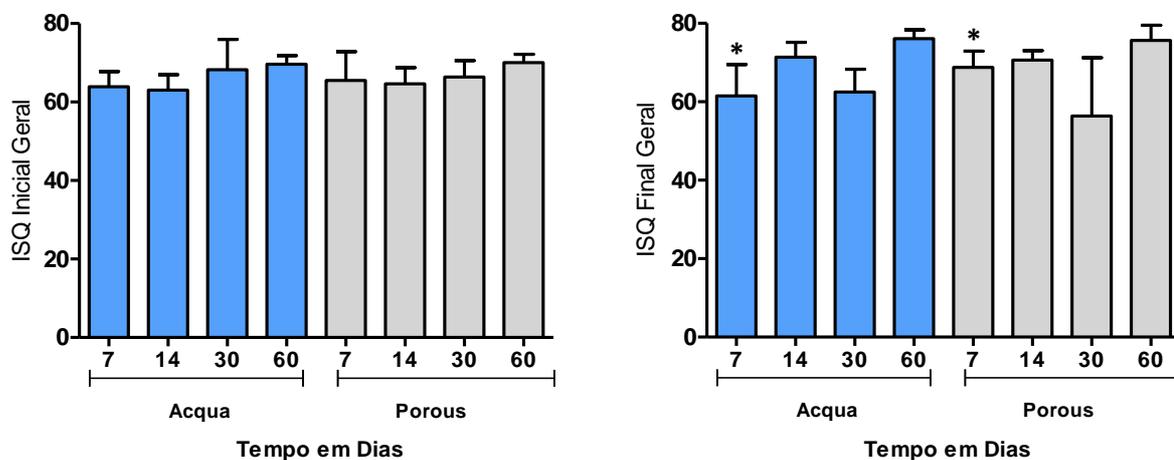


Gráfico 5. Representação gráfica da estabilidade inicial e final. Sendo que a estabilidade inicial representa as medidas realizadas no momento da instalação dos implantes e a final no momento do sacrifício dos coelhos. Símbolo (*) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si (p < 0,05).

Tabela 6. Média Geral (%) inicial e final do QEI nos implantes Acqua vs Porous (medição paralela à tibia do coelho – Vestibular)

	Acqua		Porous	
	Inicial	Final	Inicial	Final
7dias	64,5 ± 3,41	66 ± 2,94	64,75 ± 4,42	65,5 ± 2,51
14dias	64,25 ± 4,78	71,5 ± 3,87	67 ± 2,16	70,25 ± 2,87
30 dias	64,75 ± 8,5	62,5 ± 7,04	67,5 ± 4,35	58,5 ± 15,72
60 dias	70 ± 2,94	76 ± 2,16	71 ± 1,15	75,75 ± 4,34

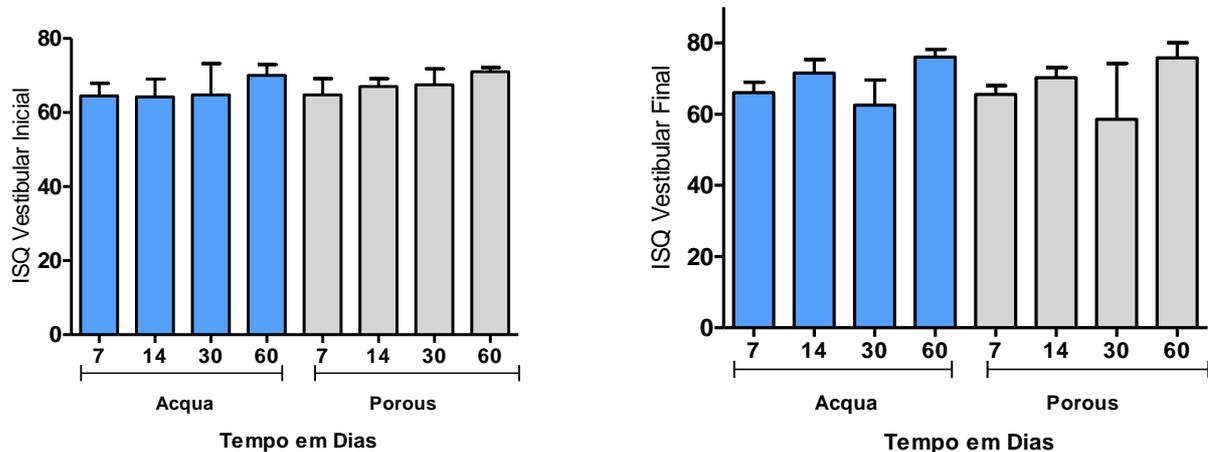


Gráfico 6. Representação gráfica da estabilidade inicial e final. Medição realizada no sentido proximal para distal (paralelo ao longo eixo da tíbia). Sendo que a estabilidade inicial representa as medidas realizadas no momento da instalação dos implantes e a final no momento do sacrifício dos coelhos. Símbolo (*) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

Tabela 7. Média Geral (%) inicial e final do QEI nos implantes Acqua vs Porous (medição perpendicular à tíbia do coelho – Mesial)

	Acqua		Porous	
	Inicial	Final	Inicial	Final
7dias	63,25 ± 4,78	57 ± 9,34	66,25 ± 10,21	72 ± 2,44
14dias	61,75 ± 3,09	71,25 ± 4,27	62,25 ± 4,5	71 ± 2,16
30 dias	71,75 ± 5,90	62,5 ± 5,44	65,25 ± 4,27	54,25 ± 16,07
60 dias	69,25 ± 1,5	76,25 ± 2,63	69 ± 1,58	75,5 ± 4,04

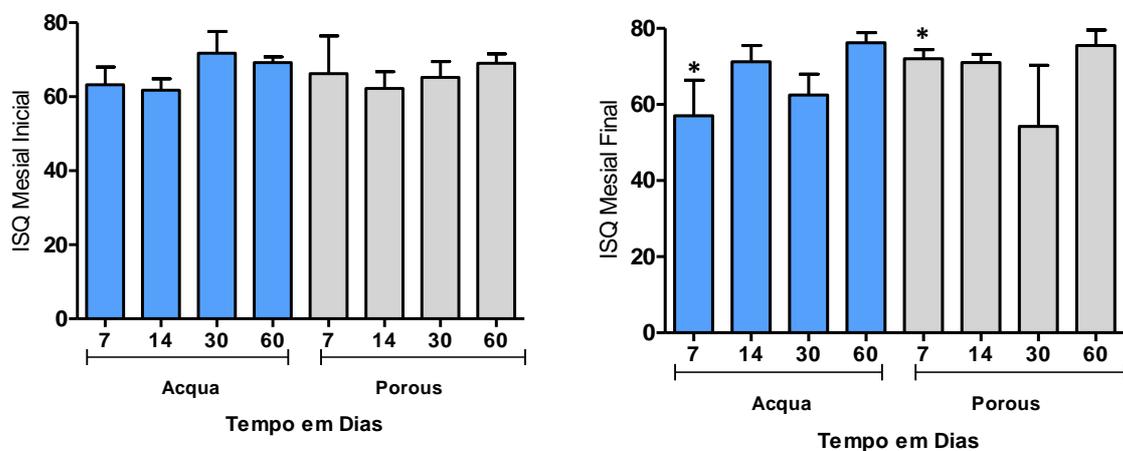


Gráfico 7. Representação gráfica da estabilidade inicial e final. Medição realizada no sentido lateral para medial (perpendicular ao longo eixo da tíbia). Sendo que a estabilidade inicial representa as medidas realizadas no momento da instalação dos implantes e a final no momento do sacrifício dos coelhos. Símbolo (*) indicam grupos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0.05$).

A correlação entre os valores médios do BIC e do QEI nos diferentes períodos foi verificada através do teste de correlação de Pearson e foi observada fraca correlação para ambos os grupos (Acqua, $r = 0,21$; Porous, $r = 0,42$).

5. DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi comparar o contato osso/implante e estabilidade de implantes com superfície texturizada por jateamento de areia e ataque ácido (NeoPoros) e implantes com superfície texturizada por jateamento de areia e ataque ácido e modificada quimicamente (Acqua), instalados em tíbias de coelhos, através da análise do contato osso-implante (BIC) e análise de frequência de ressonância (AFR).

O uso do coelho como modelo experimental tem sido sugerido por diversos autores como um valioso e adequado modelo para avaliar superfícies de implantes, antes de realizar estudos em humanos (CALVO-GUIRADO et al., 2013; DAVIES, 2003; HSU et al., 2007; JOHANSSON; ALBREKTSSON, 1991; LE GUEHENNEC et al., 2008; LONDON et al., 2002a; VANDAMME et al., 2008). O desenvolvimento de modificações de estrutura e rugosidade, além de modificações químicas da superfície dos implantes, objetiva melhorar o processo de osseointegração e diminuir os tempos de tratamento com segurança e previsibilidade. De acordo com Roberts et al (1984)(ROBERTS et al., 1984), a neoformação, remodelamento e maturação óssea no coelho é 2 a 3 vezes mais rápida. A transformação do osso medular periimplantar em osso cortical, requer aproximadamente 4 a 6 semanas após a instalação do implante (ROBERTS et al., 1984). Alguns autores reportaram que o remodelamento em coelhos necessita um tempo de 6 a 18 semanas(LARS, 2006; ROBERTS et al., 1984). Meredith et al (1997) (MEREDITH et al., 1997), avaliaram a estabilidade de implantes em tíbias de coelhos por um período maior que 5 meses e encontrou aumento nos valores de frequência de ressonância até 40 dias (aproximadamente 6 semanas) de cicatrização, e após isto, ocorreram somente pequenas mudanças. Uma

desvantagem do uso do coelho como modelo experimental é que os implantes não podem receber cargas e, assim, os resultados histológicos podem ser diferentes da situação clínica.

No presente estudo, os implantes foram instalados na tíbia dos coelhos e as amostras foram obtidas após 1, 2, 4 e 8 semanas, o que permite a observação do processo de cicatrização óssea, segundo relatos prévios na literatura(LEE et al., 2009; LONDON et al., 2002a). As amostras passaram pelo processamento histológico previamente descrito por Oltramari-Navarro (2010)(OLTRAMARI-NAVARRO; NAVARRO, 2010) e após a microtomia com o sistema Struers (Dinamarca), as sessões foram finalizadas com uma espessura de $30 \pm 10 \mu\text{m}$. Johansson e Morberg (1995)(JOHANSSON; MORBERG, 1995) demonstraram a importância da espessura da sessão, com o objetivo de evitar contato osso-implante superestimado, sendo que uma espessura maior que $30 \mu\text{m}$ proporciona resultados superestimados.

A definição original de osseointegração foi baseada em observações em nível de microscopia óptica, como “uma conexão estrutural e funcional direta entre osso vivo organizado e a superfície de um implante suportando carga” (ALBREKTSSON et al., 1981). No entanto, esta definição não indica que porcentagem de osso precisa estar em contato com o implante para que este fenômeno possa ser chamado osseointegração. Conseqüentemente, nos últimos anos, muitos estudos experimentais em animais (ABRAHAMSSON; LINDER; LANG, 2009; BOTTICELLI et al., 2005; BUSER et al., 2004a; SCHWARZ et al., 2007b) foram executados com o objetivo de investigar os diferentes estágios de osseointegração seguindo a inserção de vários tipos de implantes de titânio com diferentes designs e modificações de superfície. Entretanto, os resultados desses estudos são inconclusivos com relação à melhor superfície para obter sucesso clínico. Existe sim, um consenso na literatura, de que

implantes com superfície moderadamente rugosas apresentam melhor integração com o tecido ósseo do que as superfícies chamadas maquinadas ou lisas.

A combinação de duas técnicas de subtração, como o jateamento com partículas e ataque ácido é uma técnica que tem sido comumente utilizada para a modificação da superfície do titânio nos últimos anos. A razão para a combinação destes métodos é que o processo de jateamento hipoteticamente atinge uma excelente rugosidade para fixação mecânica e o ataque ácido adicional regulariza alguns picos e arestas (WENNERBERG; ALBREKTSSON, 2009). Ou seja, dentre os diferentes tratamentos do titânio o jateamento de partículas é capaz de criar uma macrorugosidade, que é seguida do ataque ácido, capaz de criar microrugosidades.

Implante com superfície tratada por jateamento com partículas de areia, seguido de ataque ácido (*sandblasted and acid-etched*, [SLA]) tem demonstrado aumentada aposição óssea em estudos histomorfométricos (BUSER et al., 1991; COCHRAN et al., 1998) e maiores valores de torque de remoção em testes biomecânicos (LI et al., 2002). Os implantes utilizados no presente estudo (Neodent, Curitiba, Brasil) apresentam uma superfície modificada por essa combinação de tratamentos (SLA). No entanto, a espessura da partícula, bem como a concentração do ácido utilizado não são fornecidas pelo fabricante e não está disponível na literatura.

Além da topografia da superfície, a química da superfície é outra variável importante para a aposição óssea peri-implantar, desde que isto influencia a carga da superfície e a hidrofília (KILPADI; LEMONS, 1994). Aumentada hidrofília, portanto, melhora a interação entre a superfície do implante e o ambiente biológico. O processo de produção utilizado pela companhia Neodent para produzir uma superfície hidrofílica (Neodent Acqua, Neodent, Curitiba, Brasil) não foi divulgado e não está disponível na literatura.

Com o objetivo de testar essa nova superfície hidrofílica, o presente estudo instalou implantes com superfícies porosas hidrofóbicas (Neodent Porous) e hidrofílicas (Neodent Acqua) em tíbias de coelhos. Os implantes foram divididos em 3 terços (microrosca, cervical e apical) e o BIC foi medido histomorfometricamente em todas as roscas. Na comparação da média geral do BIC, entre Acqua e Porous, foram observadas diferenças estatisticamente significantes no período de 14 dias ($p=0,028$) e no período de 30 dias ($p=0,028$). As medidas de BIC obtidas para os implantes Acqua foram $43,32 \pm 1,31\%$ e $55,03 \pm 5,14\%$, aos 14 e 30 dias respectivamente. Para os implantes Porous, as medidas de BIC foram $46,27 \pm 0,10\%$ e $47,13 \pm 0,67\%$, aos 14 e 30 dias respectivamente. Em relação aos terços separados do BIC, a média da região cervical foi estatisticamente diferente apenas aos 30 dias (Acqua, $53,66 \pm 5,90\%$; Porous, $47,59 \pm 0,93\%$)($p=0,028$), enquanto a média da região apical apresentou diferenças aos 14 (Acqua, $40,48 \pm 2,37\%$; Porous, $45,77 \pm 2,19\%$) e aos 30 dias (Acqua, $55,34 \pm 1,15\%$, Porous, $45,45 \pm 1,26\%$) ($p=0,028$). Não foram apontadas diferenças estatisticamente significantes na região da microrosca entre os grupos. A comparação dos valores de BIC entre as diferentes superfícies no presente estudo, demonstrou resultados superiores para superfícies hidrofílicas. No período de 60 dias (8 semanas), os valores médios de BIC da superfície Acqua foram $54,68 \pm 3,51\%$ e da superfície Porous foram $50,86 \pm 1,03\%$. Estes resultados estão de acordo com os achados na literatura e sugerem melhores resultados clínicos dos implantes com superfícies modificadas. Entretanto, os resultados do presente estudo não demonstraram maior BIC nos períodos iniciais de cicatrização para as superfícies hidrofílicas, e sim nos períodos mais tardios, diferentemente do que encontra-se em outros relatos que utilizaram superfícies hidrofílicas (BORNSTEIN et al., 2008c; BUSER et al., 2004a; LANG et al., 2011; SCHWARZ et al., 2007b).

No estudo de Vasak et al (2013) (VASAK et al., 2013) o padrão de resultados foi semelhante ao presente estudo, visto que as análises histológicas revelaram um padrão de cicatrização similar entre as superfícies de implantes hidrofílicas e hidrofóbicas. Formação óssea extensiva ocorreu entre o quinto e o décimo dia, com valores de contato osso-implante (BIC) maiores que 50% após 10 dias. Uma possível explicação para esse achado pode ser baseada nas afirmações de Davies (2003)(DAVIES, 2003) que coloca que quando o implante é posicionado e firmemente fixado na cavidade óssea do hospedeiro (estabilidade primária), a deposição inicial de uma linha de cemento do osso do hospedeiro e uma camada similar mineralizada podem ser vistas na superfície do implante. Essa dupla de eventos similares sugere que a superfície do implante possa ser positivamente reconhecida pelas células osteogênicas como um andaime biomimético que possa favorecer a primeira osteogênese peri-implantar. Sendo assim, a grande estabilidade primária obtida pela alteração nos desenhos da rosca desse tipo de implante (Neodent Drive), pode mascarar o efeito da hidrofiliabilidade no período inicial de cicatrização. Os resultados de BIC da superfície SLA utilizada no presente estudo demonstraram valores similares e algumas vezes superiores aos resultados descritos na literatura, quando utilizado o mesmo modelo experimental e superfície similar (SLA) (CALVO-GUIRADO et al., 2013; KIM et al., 2008; LE GUEHENNEC et al., 2008; LEE et al., 2009; LONDON et al., 2002a). Diferentes resultados no BIC entre o presente estudo e outros relatos na literatura que utilizaram diferentes modelos experimentais (cães, *mini-pigs* e humanos) pode ser explicado pelo tipo de modelo e padrão de regeneração de cada modelo(BORNSTEIN et al., 2008b; BUSER et al., 2004a; COCHRAN et al., 1998; LANG et al., 2011; VASAK et al., 2013).

Sendo a estabilidade um fator crucial para o sucesso da osseointegração, diversos estudos tem avaliado as mudanças que ocorrem na estabilidade durante o período de cicatrização óssea. A estabilidade dos implantes está relacionada com propriedades biomecânicas e com a quantidade de osso em contato com o implante, como pôde ser demonstrado no estudo de Johansson & Albrektsson (JOHANSSON; ALBREKTSSON, 1991), através da utilização de testes de torque de remoção dos implantes. Em estudos pré-clínicos, utilizou-se por muitos anos valores de torque de remoção para avaliar a qualidade da osseointegração (BUSER et al., 1998; JOHANSSON; ALBREKTSSON, 1991; LI et al., 2002; SHIN et al., 2010; WENNERBERG; ALBREKTSSON; LAUSMAA, 1996; WENNERBERG et al., 1997). Contudo, esse parâmetro não poderia ser utilizado clinicamente, visto que removeria o implante instalado e, assim, Meredith et al (1997)(MEREDITH et al., 1997) propuseram a utilização da análise da frequência de ressonância (AFR), como um método não invasivo para avaliar a estabilidade do implante.

No estudo de Meredith et al (1997)(MEREDITH et al., 1997), foram utilizados tíbias de coelhos para a instalação de implantes e posterior análise de estabilidade através do método de análise de frequência de ressonância. Foi observado que a resposta do transdutor pode ser direcional e variar com a orientação. Por isso, os autores sugerem que se façam medidas com diferentes orientações, perpendicularmente e paralelamente ao longo eixo da tíbia, por exemplo, para se obter um resultado mais preciso. Após as medidas de AFR, os animais foram sacrificados e os implantes foram analisados histomorfometricamente. Os resultados deste estudo demonstraram aumento significativo nas medidas de AFR entre 14 e 28 dias. O aumento das medidas de AFR observadas aos 14 dias e o contínuo aumento após 28 dias, sugere uma continuidade do processo de cicatrização dos implantes. Os autores

sugerem que os aumentos observados nas medidas de AFR podem ser atribuídos ao aumento da rigidez entre o implante e o tecido adjacente. A relação entre as medidas de AFR e o BIC não ficaram claras neste estudo e os autores sugerem que novos estudos devem ser realizados para elucidar esta questão. Abrahamsson et al (2009)(ABRAHAMSSON; LINDER; LANG, 2009) avaliaram, em cães, os valores da AFR com relação à osseointegração. Os resultados falharam em demonstrar correlação entre os parâmetros histológicos de osseointegração com os valores de QEI, durante o período estudado.

No presente estudo, as medidas de AFR foram realizadas no momento da instalação dos implantes e nos períodos de avaliações aos 7, 14, 30 e 60 dias. Foram obtidas duas medidas para cada implante, sendo uma paralela ao longo eixo da tíbia (vestibular) e outra, perpendicular ao longo eixo da tíbia (mesial). Na comparação da média geral do QEI, entre Acqua e Porous, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, com exceção do período de 07 dias. Estes resultados são similares aos encontrados por Burgos (2008)(BURGOS et al., 2008), que relataram não ter encontrado diferenças na comparação da estabilidade primária com a estabilidade secundária de implantes lisos e rugosos. O alto valor da estabilidade primária encontrado no presente estudo, pode ser explicado pela alteração do desenho do implante (Neodent Drive®, Neodent, Curitiba, Brasil) que permite um excelente contato ósseo primário e forte ancoragem durante a inserção.

No período de 07 dias, os resultados do presente estudo demonstraram maiores valores de QEI para o grupo Porous ($68,75 \pm 4,16\%$) do que para o grupo Acqua ($61,5 \pm 8,01\%$), que podem ser relacionados com um maior BIC para estes implantes neste período inicial (BIC: Acqua, $43,47 \pm 2,20\%$; Porous, $45,38 \pm 1,80\%$).

A análise do QEI durante os diferentes períodos dentro de um mesmo grupo,

demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre os períodos de 7 vs 60 dias e 30 vs 60 dias, para a média geral do QEI no grupo Acqua e no grupo dos implantes Porous, foram encontradas diferenças estatisticamente significante entre os períodos de 30 vs 60 dias, para a média geral do QEI. Estes achados vão de encontro aos resultados de diversos estudos (BORNSTEIN et al., 2008c; CALVO-GUIRADO et al., 2013; CHOI et al., 2007; LARS, 2006; MEREDITH et al., 1997; SUL et al., 2009), que demonstraram aumento nos valores do QEI durante a cicatrização óssea. Sendo assim, os implantes utilizados no presente estudo demonstraram capacidade de osseointegração, com aumento significativo da rigidez medida pela AFR.

Não foram observadas diferenças significantes para as medições realizadas com diferentes orientações (paralela e perpendicularmente à tibia do coelho), o que difere dos achados de Meredith et al (1997)(MEREDITH et al., 1997), que demonstrou influência da direção da medição nos valores de QEI.

No presente estudo foi observada fraca correlação entre os valores médios do BIC e do QEI durante os períodos de cicatrização para ambos os grupos (Acqua, $r = 0,21$; Porous, $r = 0,42$). Estes resultados estão de acordo com diversos relatos na literatura (ABRAHAMSSON; LINDER; LANG, 2009; ITO et al., 2008; SCHLIEPHAKE; SEWING; AREF, 2006), que fracassaram em demonstrar correlação entre o aumento do BIC observado nos períodos pós-operatórios com os valores do QEI.

6. CONCLUSÕES

Os achados do presente estudo demonstram que a modificação da superfície por jateamento de areia e ataque ácido utilizada para produzir as superfícies Acqua e Porous resulta em uma adequada aposição óssea, visto que os valores do BIC encontrados são similares ou superiores aos resultados encontrados na literatura com modelos experimentais e superfícies similares. No entanto, não foi possível provar que a modificação química da superfície Acqua resultou em diferenças estatisticamente significante do BIC nos períodos iniciais de osseointegração ou formação óssea mais rápida na superfície do implante.

As medidas da AFR demonstraram uma adequada estabilidade primária e os aumentos dos valores do QEI durante os períodos pós-operatórios revelaram a obtenção de estabilidade secundária e maior rigidez na ancoragem do implante com o passar do tempo. Sendo assim, o tratamento de superfície de ambos os implantes parecem ser adequados e permitem que o fenômeno da osseointegração ocorra.

No presente estudo foi observada fraca correlação entre os valores médios do BIC e do QEI nos períodos de acompanhamento da cicatrização, para ambos os grupos (Acqua, $r = 0,21$; Porous, $r = 0,42$).

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSSON, I. et al. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. **Clinical oral implants research**, v. 15, n. 4, p. 381–392, ago. 2004.

ABRAHAMSSON, I.; LINDER, E.; LANG, N. P. Implant stability in relation to osseointegration: an experimental study in the Labrador dog. **Clinical oral implants research**, v. 20, n. 3, p. 313–318, mar. 2009.

ADELL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **International journal of oral surgery**, v. 10, n. 6, p. 387–416, dez. 1981.

ALBREKTSSON, T. et al. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. **Acta orthopaedica Scandinavica**, v. 52, n. 2, p. 155–170, 1981.

ALBREKTSSON, T.; HANSSON, H. A. An ultrastructural characterization of the interface between bone and sputtered titanium or stainless steel surfaces. **Biomaterials**, v. 7, n. 3, p. 201–205, 1 maio 1986.

ALBREKTSSON, T.; SENNERBY, L. Direct bone anchorage of oral implants: clinical and experimental considerations of the concept of osseointegration. **The International journal of prosthodontics**, v. 3, n. 1, p. 30–41, jan. 1990.

ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A. Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. **The International journal of prosthodontics**, v. 17, n. 5, p. 536–543, 1 set. 2004.

ARX, VON, T. et al. Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: a histologic study in the rabbit calvarium. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 20, n. 6, p. 843–853, out. 2005.

BORNSTEIN, M. M. et al. A retrospective analysis of patients referred for implant placement to a specialty clinic: indications, surgical procedures, and early failures. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 23, n. 6, p. 1109, 2008a.

BORNSTEIN, M. M. et al. Bone apposition around two different sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces: a histomorphometric study in canine mandibles. **Clinical oral implants research**, v. 19, n. 3, p. 233–241, mar. 2008b.

BORNSTEIN, M. M. et al. Bone apposition around two different sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces: a histomorphometric study in canine mandibles. **Clinical oral implants research**, v. 19, n. 3, p. 233–241, mar. 2008c.

BORNSTEIN, M. M. et al. Early Loading of Nonsubmerged Titanium Implants with

a Chemically Modified Sand-Blasted and Acid-Etched Surface: 6-Month Results of a Prospective Case Series Study in the Posterior Mandible Focusing on Peri-Implant Crestal Bone Changes and Implant Stability Quotient (ISQ) Values. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 11, n. 4, p. 338–347, dez. 2009.

BORNSTEIN, M. M. M. et al. Clinical performance of wide-body implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: results of a 3-year follow-up study in a referral clinic. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 22, n. 4, p. 631–638, 1 jan. 2007.

BOTTICELLI, D. et al. Bone regeneration at implants with turned or rough surfaces in self-contained defects. An experimental study in the dog. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 5, p. 448–455, maio 2005.

BRAGA, F. J. C. et al. Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. **Applied Surface Science**, v. 253, n. 23, p. 9203–9208, set. 2007.

BRÅNEMARK, P. I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery**, v. 3, n. 2, p. 81–100, 1969.

BRÅNEMARK, P. I. et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. **Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery. Supplementum**, v. 16, p. 1–132, 1977.

BURGOS, P. M. et al. Early bone tissue responses to turned and oxidized implants in the rabbit tibia. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 10, n. 3, p. 181–190, set. 2008.

BUSER, D. et al. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. **Journal of biomedical materials research**, v. 25, n. 7, p. 889–902, jul. 1991.

BUSER, D. et al. Removal torque values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 13, n. 5, p. 611–619, 1 set. 1998.

BUSER, D. et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. **Journal of dental research**, v. 83, n. 7, p. 529–533, jul. 2004a.

BUSER, D. et al. Enhanced Bone Apposition to a Chemically Modified SLA Titanium Surface. **Journal of dental research**, v. 83, n. 7, p. 529–533, 1 jul. 2004b.

CALVO-GUIRADO, J. L. et al. Biomechanical and histological evaluation of four different titanium implant surface modifications: an experimental study in the rabbit tibia. **Clinical Oral Investigations**, 18 out. 2013.

CHOI, J. E. et al. Bone response of three different surface implants: Histomorphometric, perio test value and resonance frequency analysis in beagle dogs. **The Journal of Korean Academy of Prosthodontics**, v. 45, n. 3, p. 362–374, 2007.

CHOI, J. W. et al. Biological responses of anodized titanium implants under different

current voltages. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 33, n. 12, p. 889–897, 1 dez. 2006.

COCHRAN, D. et al. Clinical Field Trial Examining an Implant With a Sand-Blasted, Acid-Etched Surface. **Journal of Periodontology**, v. 78, n. 6, p. 974–982, jun. 2007.

COCHRAN, D. L. D. et al. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. **Journal of biomedical materials research**, v. 40, n. 1, p. 1–11, 1 abr. 1998.

COOLEY, D. R. D. et al. The advantages of coated titanium implants prepared by radiofrequency sputtering from hydroxyapatite. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 67, n. 1, p. 93–100, 1 jan. 1992.

COOPER, L. F. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 84, n. 5, p. 522–534, 1 nov. 2000.

DAVIES, J. E. Understanding peri-implant endosseous healing. **Journal of Dental Education**, v. 67, n. 8, p. 932–949, 1 ago. 2003.

DAVIES, J. E. J. In vitro modeling of the bone/implant interface. **Anatomical Record. Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology**, v. 245, n. 2, p. 426–445, 1 jun. 1996.

DAVIES, J. E.; LOWENBERG, B.; SHIGA, A. The bone-titanium interface in vitro. **Journal of biomedical materials research**, v. 24, n. 10, p. 1289–1306, 1 out. 1990.

DE SOUZA NUNES, L. S. et al. Immunoexpression of Cbfa-1/Runx2 and VEGF in sinus lift procedures using bone substitutes in rabbits. **Clinical oral implants research**, v. 21, n. 6, p. 584–590, 22 jan. 2010.

DEGIDI, M. et al. Bone formation around immediately loaded and submerged dental implants with a modified sandblasted and acid-etched surface after 4 and 8 weeks: a human histologic and histomorphometric analysis. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 24, n. 5, p. 896–901, ago. 2009.

DONOS, N. et al. Gene expression profile of osseointegration of a hydrophilic compared with a hydrophobic microrough implant surface. **Clinical oral implants research**, v. 22, n. 4, p. 365–372, 9 mar. 2011.

DORLAND. **Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 32e (Dorland's Medical Dictionary)**. Tradução. 32. ed. [s.l.] Saunders, 2011.

DUYCK, J. et al. The influence of micro-motion on the tissue differentiation around immediately loaded cylindrical turned titanium implants. **Archives of Oral Biology**, v. 51, n. 1, p. 1–9, 1 jan. 2006.

ERICSSON, I. I. et al. A histomorphometric evaluation of bone-to-implant contact on machine-prepared and roughened titanium dental implants. A pilot study in the dog. **Clinical oral implants research**, v. 5, n. 4, p. 202–206, 1 dez. 1994.

FERGUSON, S. J. et al. Biomechanical evaluation of the interfacial strength of a chemically modified sandblasted and acid-etched titanium surface. **Journal of biomedical materials research**, v. 78A, n. 2, p. 291–297, 2006.

FERRETTI, M. et al. Static and dynamic osteogenesis: two different types of bone formation. **Anatomy and Embryology**, v. 206, n. 1-2, p. 21–29, 1 dez. 2002.

FRANCHI, M. et al. Early detachment of titanium particles from various different surfaces of endosseous dental implants. **Biomaterials**, v. 25, n. 12, p. 2239–2246, 1 maio 2004.

FUTAMI, T. et al. Tissue response to titanium implants in the rat maxilla: ultrastructural and histochemical observations of the bone-titanium interface. **Journal of Periodontology**, v. 71, n. 2, p. 287–298, 1 fev. 2000.

GEBRAN, M. P.; WASSAL, T. Evaluation in vitro of the adhesion of osteoblasts on osseointegrated implant with treated surface (Titamax II®). **ImplantNews**, v. 4, n. 1, p. 79–84, 1 fev. 2007.

GERMANIER, Y. et al. Enhanced bone apposition around biofunctionalized sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces. A histomorphometric study in miniature pigs. **Clinical oral implants research**, v. 17, n. 3, p. 251–257, jun. 2006.

GOTTLOW, J.; BARKAMO, S.; SENNERBY, L. An Experimental Comparison of Two Different Clinically Used Implant Designs and Surfaces. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 14, p. e204–e212, 5 abr. 2012.

HAMLET, S. S. et al. The effect of hydrophilic titanium surface modification on macrophage inflammatory cytokine gene expression. **Clinical oral implants research**, v. 23, n. 5, p. 584–590, 1 maio 2012.

HONG, J.; KURT, S.; THOR, A. A hydrophilic dental implant surface exhibits thrombogenic properties in vitro. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 15, n. 1, p. 105–112, 1 fev. 2013.

HSU, S.-H. et al. Characterization and biocompatibility of a titanium dental implant with a laser irradiated and dual-acid etched surface. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 17, n. 1, p. 53–68, 1 jan. 2007.

ITO, Y. et al. Relevance of resonance frequency analysis to evaluate dental implant stability: simulation and histomorphometrical animal experiments. **Clinical oral implants research**, v. 19, n. 1, p. 9–14, jan. 2008.

IVANOFF, C.-J. et al. Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 18, n. 3, p. 341–348, maio 2003.

JOHANSSON, C. B.; ALBREKTSSON, T. A removal torque and histomorphometric study of commercially pure niobium and titanium implants in rabbit bone. **Clinical oral implants research**, v. 2, n. 1, p. 24–29, jan. 1991.

JOHANSSON, C. B.; MORBERG, P. Importance of ground section thickness for

- reliable histomorphometrical results. **Biomaterials**, v. 16, n. 2, p. 91–95, jan. 1995.
- KARABUDA, C. C. et al. Histologic and histomorphometric comparison of immediately placed hydroxyapatite-coated and titanium plasma-sprayed implants: a pilot study in dogs. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 14, n. 4, p. 510–515, 1 jul. 1999.
- KELLER, J. C. et al. Effects of implant microtopography on osteoblast cell attachment. **Implant Dentistry**, v. 12, n. 2, p. 175–181, 2003.
- KHANG, W. et al. A multi-center study comparing dual acid-etched and machined-surfaced implants in various bone qualities. **Journal of Periodontology**, v. 72, n. 10, p. 1384–1390, 1 out. 2001.
- KILPADI, D. V. D.; LEMONS, J. E. J. Surface energy characterization of unalloyed titanium implants. **Journal of biomedical materials research**, v. 28, n. 12, p. 1419–1425, 1 dez. 1994.
- KIM, H. et al. The biocompatibility of SLA-treated titanium implants. **Biomedical materials (Bristol, England)**, v. 3, n. 2, p. 025011, jun. 2008.
- KIM, S.-G.; PARK, S.-S. Incidence of Complications and Problems Related to Orthognathic Surgery. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 65, n. 12, p. 2438–2444, dez. 2007.
- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. **Biometrics**, v. 33, n. 2, p. 363–374, jun. 1977.
- LANG, N. P. et al. Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. **Clinical oral implants research**, v. 22, n. 4, p. 349–356, 9 mar. 2011.
- LARS. Försidor. p. 1–71, 24 out. 2006.
- LARSSON, C. et al. Bone response to surface-modified titanium implants: studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. **Biomaterials**, v. 17, n. 6, p. 605–616, mar. 1996.
- LAZZARA, R. J. et al. A human histologic analysis of osseotite and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. **The International journal of periodontics & restorative dentistry**, v. 19, n. 2, p. 117–129, abr. 1999.
- LE GUEHENNEC, L. et al. Histomorphometric analysis of the osseointegration of four different implant surfaces in the femoral epiphyses of rabbits. **Clinical oral implants research**, v. 19, n. 11, p. 1103–1110, nov. 2008.
- LEE, J.-E. J. et al. Healing response of cortical and cancellous bone around titanium implants. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 24, n. 4, p. 655–662, 1 jul. 2009.
- LI, D. et al. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the

machined and acid-etched titanium surface for dental implants. **Journal of biomedical materials research**, v. 60, n. 2, p. 325–332, 1 maio 2002.

LIND, M. M. et al. Improved bone anchorage of hydroxyapatite coated implants compared with tricalcium-phosphate coated implants in trabecular bone in dogs. **Biomaterials**, v. 20, n. 9, p. 803–808, 1 maio 1999.

LISTGARTEN, M. A. M. Soft and hard tissue response to endosseous dental implants. **Anatomical Record. Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology**, v. 245, n. 2, p. 410–425, 1 jun. 1996.

LONDON, R. M. et al. Histologic comparison of a thermal dual-etched implant surface to machined, TPS, and HA surfaces: bone contact in vivo in rabbits. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 17, n. 3, p. 369, 2002a.

LONDON, R. M. et al. Histologic comparison of a thermal dual-etched implant surface to machined, TPS, and HA surfaces: bone contact in vivo in rabbits. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 17, n. 3, p. 369–376, maio 2002b.

MARCO, F. et al. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. **Micron**, v. 36, n. 7-8, p. 630–644, out. 2005.

MARDAS, N.; STAVROPOULOS, A.; KARRING, T. Calvarial bone regeneration by a combination of natural anorganic bovine-derived hydroxyapatite matrix coupled with a synthetic cell-binding peptide (PepGen): an experimental study in rats. **Clinical oral implants research**, v. 19, n. 10, p. 1010–1015, out. 2008.

MARTIN, J. Y. et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). **Journal of biomedical materials research**, v. 29, n. 3, p. 389–401, 1 mar. 1995.

MEREDITH, N. et al. The application of resonance frequency measurements to study the stability of titanium implants during healing in the rabbit tibia. **Clinical oral implants research**, v. 8, n. 3, p. 234–243, 1997.

MORTON, D. et al. Early Loading after 21 Days of Healing of Nonsubmerged Titanium Implants with a Chemically Modified Sandblasted and Acid-Etched Surface: Two-Year Results of a Prospective Two-Center Study. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 12, n. 1, p. 9–17, mar. 2010.

OLTRAMARI-NAVARRO, P.; NAVARRO, R. L. Immediately Loaded Titanium Implants for Orthodontic Anchorage: Study in Minipigs. 2010.

PARK, K. H. K. et al. Osseointegration of anodized titanium implants under different current voltages: a rabbit study. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 34, n. 7, p. 517–527, 1 jul. 2007.

PHILIPP, A. et al. Comparison of SLA ®or SLActive ®implants placed in the maxillary sinus with or without synthetic bone graft materials - an animal study in sheep. **Clinical oral implants research**, p. n/a–n/a, 22 set. 2013.

PULEO, D. A. D.; NANCI, A. A. Understanding and controlling the bone-implant interface. **Biomaterials**, v. 20, n. 23-24, p. 2311–2321, 1 dez. 1999.

QUINLAN, P. et al. Immediate and early loading of SLA ITI single-tooth implants: an in vivo study. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 20, n. 3, p. 360–370, 1 maio 2005.

RANG, H. P.; DALE, M. M. Rang and Dale's pharmacology. 2007.

REILLY, T. M. et al. Similarities in the phenotypic expression of pericytes and bone cells. **Clinical orthopaedics and related research**, n. 346, p. 95–103, jan. 1998.

ROBERTS, W. E. W. et al. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. **American Journal of Orthodontics**, v. 86, n. 2, p. 95–111, 1 ago. 1984.

SAMMONS, R. L. et al. Comparison of osteoblast spreading on microstructured dental implant surfaces and cell behaviour in an explant model of osseointegration. A scanning electron microscopic study. **Clinical oral implants research**, v. 16, n. 6, p. 657–666, 1 dez. 2005.

SCHLIEPHAKE, H.; SEWING, A.; AREF, A. Resonance frequency measurements of implant stability in the dog mandible: experimental comparison with histomorphometric data. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 35, n. 10, p. 941–946, out. 2006.

SCHROEDER, A.; POHLER, O.; SUTTER, F. [Tissue reaction to an implant of a titanium hollow cylinder with a titanium surface spray layer]. **Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkunde = Revue mensuelle suisse d'odontostomatologie / SSO**, v. 86, n. 7, p. 713–727, jul. 1976.

SCHWARZ, F. et al. Bone regeneration in dehiscence-type defects at chemically modified (SLActive ) and conventional SLA titanium implants: a pilot study in dogs. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 34, n. 1, p. 78–86, jan. 2007a.

SCHWARZ, F. et al. Histological and immunohistochemical analysis of initial and early osseous integration at chemically modified and conventional SLA  titanium implants: preliminary results of a pilot study in dogs. **Clinical oral implants research**, v. 18, n. 4, p. 481–488, ago. 2007b.

SCHWARZ, F. et al. Potential of chemically modified hydrophilic surface characteristics to support tissue integration of titanium dental implants. **Journal of biomedical materials research**, v. 88B, n. 2, p. 544–557, fev. 2009.

SHIN, D. et al. Peripheral quantitative computer tomographic, histomorphometric, and removal torque analyses of two different non-coated implants in a rabbit model. **Clinical oral implants research**, v. 22, n. 3, p. 242–250, 10 set. 2010.

SUL, Y.-T. et al. Resonance frequency measurements in vivo and related surface properties of magnesium-incorporated, micropatterned and magnesium-incorporated TiUnite, Osseotite, SLA and TiOblast implants. **Clinical oral implants research**, v. 20, n. 10, p. 1146–1155, 1 out. 2009.

SZMUKLER-MONCLER, S. et al. Biological properties of acid etched titanium implants: effect of sandblasting on bone anchorage. **Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials**, v. 68, n. 2, p. 149–159, 15 fev. 2004.

TAMIMI, F. M. et al. Bone augmentation in rabbit calvariae: comparative study between Bio-Oss and a novel β -TCP/DCPD granulate. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 33, n. 12, p. 922–928, dez. 2006.

TRESGUERRES, I. F. et al. Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. **Clinical oral implants research**, v. 13, n. 6, p. 631–636, dez. 2002.

VANDAMME, K. et al. The effect of micro-motion on the tissue response around immediately loaded roughened titanium implants in the rabbit. **European Journal of Oral Sciences**, v. 115, n. 1, p. 21–29, fev. 2007a.

VANDAMME, K. et al. Effect of implant surface roughness and loading on peri-implant bone formation. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 1, p. 150–157, 1 jan. 2008.

VANDAMME, K. K. et al. Influence of controlled immediate loading and implant design on peri-implant bone formation. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 34, n. 2, p. 172–181, 1 fev. 2007b.

VASAK, C. et al. Early bone apposition to hydrophilic and hydrophobic titanium implant surfaces: a histologic and histomorphometric study in minipigs. **Clinical oral implants research**, p. n/a–n/a, 10 out. 2013.

WENNERBERG, A. A.; ALBREKTSSON, T. T.; LAUSMAA, J. J. Torque and histomorphometric evaluation of c.p. titanium screws blasted with 25- and 75-microns-sized particles of Al₂O₃. **Journal of biomedical materials research**, v. 30, n. 2, p. 251–260, 1 fev. 1996.

WENNERBERG, A. et al. A 1-year follow-up of implants of differing surface roughness placed in rabbit bone. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 12, n. 4, p. 486–494, jul. 1997.

WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. **Clinical oral implants research**, v. 20, p. 172–184, set. 2009.

XAVIER, S. P.; IKUNO, K. E.; TAVARES, M. G. Enhanced bone apposition to Brazilian microrough titanium surfaces. **Brazilian dental journal**, v. 21, n. 1, p. 18–23, jan. 2010.