

BRUNO BRENNER PENTAGNA

**AVALIAÇÃO IN VITRO DA ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE OSTEÓBLASTOS
SOBRE IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS COM TRATAMENTO DE
SUPERFÍCIE A LASER**

CAMPINAS
2008

BRUNO BRENNER PENTAGNA

**AVALIAÇÃO IN VITRO DA ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE OSTEÓBLASTOS
SOBRE IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS COM TRATAMENTO DE
SUPERFÍCIE A LASER**

Dissertação apresentada ao Centro de Pós-Graduação / CPO São Leopoldo Mandic, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Thomaz Wassall.

CAMPINAS
2008

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca "São Leopoldo Mandic"

P414a Pentagna, Bruno Brenner.
Avaliação in vitro da adesão e proliferação de osteoblastos sobre implantes osseointegráveis com tratamento de superfície a laser / Bruno Brenner Pentagna. – Campinas: [s.n.], 2008.
88f.: il.

Orientador: Thomaz Wassall.
Dissertação (Mestrado em Implantodontia) – C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-Graduação.

1. Titânio. 2. Osseointegração. 3. Terapia a laser.
4. Implante dentário. I. Wassall, Thomaz. II. C.P.O. São Leopoldo Mandic – Centro de Pós-Graduação. III. Título.

**C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS
SÃO LEOPOLDO MANDIC**

Folha de Aprovação

A dissertação intitulada: “**AVALIAÇÃO IN VITRO DA ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE OSTEOLASTOS SOBRE IMPLANTES OSSEINTEGRÁVEIS COM TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE A LASER**” apresentada ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração: _____ em __/__/__, à comissão examinadora abaixo denominada, foi aprovada após liberação pelo orientador.

Prof. (a) Dr (a)
Orientador

Prof. (a) Dr (a)
1º Membro

Prof. (a) Dr (a)
2º Membro

DEDICATÓRIA

A Deus, autor de todos os projetos da minha vida, por me fornecer condições e subsídios para conclusão deste trabalho.

Aos meus pais, pessoas maravilhosas e fundamentais para o meu desenvolvimento pelo amor, carinho e incentivo durante toda a minha vida.

A minha esposa Morgana, uma grande companheira e amiga de todos os momentos, pelo apoio, paciência e amor.

A minha doce e mais nova integrante da família: Lara, razão maior do meu viver.

A meus irmãos Mariana e Bernardo, incentivadores e torcedores no meu crescimento profissional e pessoal.

A minha vó Nancy, matriarca desta família, responsável pelo engrandecimento de todos nós.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Paulo Sérgio Zaidan Maluf, por ter me acolhido nesta área, com toda sua competência, sabedoria e incansável vontade de ensinar.

Ao Prof. Dr. Thomaz Wassall, conduzindo-me à produção deste trabalho e por ter sido compreensivo pelas dificuldades que passei durante esse tempo.

Profa. Dra. Andréa Mantesso do departamento de Patologia da faculdade de Odontologia da USP, por toda a assistência na parte laboratorial, inclusive as imagens obtidas.

Ao Prof. Dr. Alexander D'Álvia Salvoni, pelas correções e dicas prestadas neste trabalho.

A Serson Implant pelo apoio à pesquisa e suporte financeiro.

“O começo da sabedoria é encontrado na dúvida; duvidando começamos a questionar e procurando podemos achar a verdade”.

Pierre Abelard

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar a adesão e proliferação das células osteoblásticas do osso parietal de ratos em fixações osseointegráveis de titânio com a superfície tratada à laser por meio de técnicas de cultura celular e posterior exame ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Para tanto, foram selecionados nove implantes com tratamento de superfície à laser. A análise foi realizada por meio de microscópio eletrônico de varredura e a avaliação foi feita em 24, 72 e 120 horas. Os resultados mostraram que ocorreu adesão celular em todos os períodos analisados, portanto houve afinidade celular com o tratamento de superfície do implante estudado. Concluiu-se que a liga de titânio com superfície tratada a laser possui características biocompatíveis com células ósseas promovendo a adesão no implante do estudo. O grau de rugosidade da superfície do implante permitiu sucesso na adesão óssea de células osteoblásticas. O implante do estudo apresentou, devido às suas características de tratamento de superfície a laser, um desempenho favorável *in vitro* no tocante à adesão de células osteoblásticas, coerente com as superfícies estudadas na literatura.

Palavras-chave: Titânio. Implante dentário. Osseointegração. Laser. Terapia a laser de baixa Intensidade. Propriedades de superfície.

ABSTRACT

The aim of this research is to analyze the adhesion and proliferation of osteoblast-like cells from rats in osteointegration titanium implant with laser surface treatment using cell culture and then electronic microscopy to observe cell culture. For this, nine titanium implants with surface laser irradiated were selected. The analyze was made in 24, 72 e 120 hours through electronic mycroscopy. The results showed that celular adhesion could be observated in 24, 72 and 120 hours, thus they observed celular afinity with surface treatment studied. It was concluded that the titanium alloy have biocompatible characteristics with osseous cells leaving adhesion in studied implant. The degree of rugosities in this surface implant allow sucess in osseous adhesion of osteoblast-like cells. The implant of this study presents similar surface to that the literatura showed us, because their chacacteristics have favorable perfomance in vitro in relation the adhesion of osteoblastics cells.

Keywords: Titanium. Dental implantation. Lasers. Osseointegration. Laser therapy. Low-Level. Surface properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Adicionando o meio de cultura.	56
Figura 2 - Amostra do implante Serson Implus com montador.....	56
Figura 3 - Amostras de implantes (Serson Implus) fixadas com fio ortodôntico 0.9.....	57
Figura 4 - Implantes levados em Banho-Maria.	58
FIGURA 5 - Lavagem de células com uso de <i>Sigma</i> (Trypsina a 0,25% com EDTA 1 Nm) para obtenção do sobrenadante.	59
Figura 6 - Amostras de implantes em suspensão plaqueada.	60
Figura 7 - Estufa de cultura celular.....	61
Figura 8 - Microscópio eletrônico de varredura (MEV).	62
Figura 9 - Linha de separação entre a parte polida do implante e a superfície tratada a laser com 80x.....	63
Figura 10 - Tratamento de superfície e montador de implante com um aumento de 30x após 24 horas.....	64
Figura 11 - Visão da superfície do implante com um aumento de 100x no intervalo de 24 horas.	64
Figura 12 - Detalhes da superfície em um aumento de 250x em um intervalo de 24 horas.....	65
Figura 13 - Presença de células no aumento de 850x no intervalo de tempo de 24 horas.....	65
Figura 14 - Tratamento de superfície e montador de implante com um aumento de 30x após 72 horas.....	66
Figura 15 - Células em detalhe com um aumento de 2500 com 72 horas.	66
Figura 16 - Afinidade maior pela superfície tratada a laser do que uma região sem tratamento em um aumento de 850x em um intervalo de tempo de 72 horas.	67

Figura 17 - Crescimento celular mais acentado na superfície tratada a laser do que uma região sem tratamento em um aumento de 600x em um intervalo de tempo de 72 horas.....	67
Figura 18 - Presença de células nas espiras do implante com um aumento de 25x no intervalo de 120 horas.....	68
Figura 20 - Monocamada de células com um aumento de 450x no intervalo de 120 horas.....	68
Figura 21 - Presença de células em um aumento de 600x em 120 horas.....	69
Figura 22 - Monocamada de células no implante com um aumento de 2200x após 120 horas.....	69
Figura 23 - Tratamento de superfície e montador de implante com um aumento de 30x após 120 horas.....	70
Figura 24 - Avaliação do crescimento celular em 120 horas - aumento de 2200X.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

®	- marca registrada
μm	- micrômetro
APS	- “air plasma sprayed”
CA	- jateados com partículas grandes, atacados por HCL e H_2SO_4 e lavados.
CaP	- fosfato de cálcio
CT	- polietileno
EP	- eletropolidos
FA	- jateados com partículas grandes, atacados por HCL e H_2SO_4 e lavados.
FBS	- soro fetal bovino
FHA	- fluorhidroxiapatita
H	- hidrogênio
H_2SO_4	- ácido sulfúrico
HA	- hidroxiapatita
HCL	- ácido clorídrico
HE	- hematoxilina e eosina
HF	- ácido fluorídrico
HMDS	- hexamethyldisilazane
HNO_3	- ácido nítrico
J/cm^2	- joule por cm^2
Laser de CO_2	- Laser diodo com comprimento de onda CO_2
LLt	- tratamento de laser local
MEV	- microscópio eletrônico de varredura

mm ³	- milímetro cúbico
NaCl	- cloreto de sódio
Nd-Yag	- neodymium-doped yttrium aluminium garnet
nm	- nanometro
OH	- hidroxila
PRP	- plasma rico em plaquetas
Psi	- Ψ (letra grega)
PT	- pré-tratados com ácido hidrofluorídrico, ácido nítrico e depois lavados.
SiC	- carbeto de silício
SLA	- ataque ácido
Ti Cp	- titânio comercialmente puro
Ti	- titânio
Ti4Al8Mn2Nb2	- liga de titânio, alumínio, nióbo
Ti-6AL-4V	- liga de titânio, alumínio, vanádio
TiNi	- liga de titânio e níquel
TiO	- óxido de titânio
TiO ₂	- dióxido de titânio
TPS	- jateados com plasma “spray” de titânio.
TPS	- plasma “spray” de titânio
XDR	- difração de raios X
XPS	- espectroscopia de fotoelétron de raios X

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
3 PROPOSIÇÃO	54
4 MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1 Cultura celular	55
4.2 Amostra experimental.....	56
4.2.1 Descrição do produto	57
4.2.2 Tratamento de superfície.....	57
4.3 Experimento.....	58
4.3.1 Linhagem celular.....	58
4.4 Análise da morfologia e proliferação celulares	61
5 RESULTADOS.....	63
6 DISCUSSÃO	71
7 CONCLUSÃO	79
REFERENCIAS.....	80
ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	88

1 INTRODUÇÃO

A Implantodontia surgiu como uma alternativa ao tratamento do edentulismo e seu sucesso ocorre através da osseointegração. Branemark, no início dos anos 60 definiu pela primeira vez a osseointegração como uma interface na qual há contato direto da superfície do implante com o tecido ósseo. Nesse processo, não se observa interposição de tecido mole, à luz da microscopia ótica, o que permite uma relação implante-osso (Albrektsson et al., 1981; Branemark, 1983).

Dentre as várias características dos implantes, a topografia da superfície é reconhecida como fator capaz de alterar a resposta das células dos tecidos adjacentes modificando a migração, inserção, proliferação e síntese de colágeno no local, determinando assim o tipo de tecido que será obtido na interface osso-implante e sua integração. Graças aos diferentes tipos de tratamentos, tornou-se possível obter várias formas de caracterização da superfície facilitando a compreensão dos padrões de formação óssea, comportamento das células e até mesmo prever o tipo cicatricial que será obtido a partir da conformação dos tecidos adjacentes às superfícies dos implantes (Nagem Filho, 2007).

Até meados de 70, os implantes dentários utilizados tinham superfície usinada. Hoje esses implantes estão sendo cada vez mais estudados com a finalidade de se encontrar uma topografia ideal (Karagianes et al., 1976) e tratamentos de superfície que possuem grande afinidade com o tecido ósseo, fazendo com que ocorra uma menor resposta inflamatória pós-cirúrgica. O implante com superfície tratada possui uma maior aposição óssea, quando comparados com implantes com superfície eletropólida ou jateados com partícula média (Buser et al., 1991). São inúmeros os tipos de tratamento de superfície, pois o desenho superficial

do implante, bem como uma boa usinagem do parafuso com ausência de resíduos e fragmentos influi diretamente no sucesso cirúrgico (Branemark, 1983).

Dentre as várias opções existentes, temos a ação e o efeito do laser de baixa potência no tecido que são bem explicados por Veçoso (1993), segundo o qual a radiação absorvida pelo tecido provoca efeitos primários ou diretos, os quais incluem efeitos bioquímicos, bioelétricos e bioenergéticos. Posteriormente, ocorre o desencadeamento de efeitos indiretos, como o estímulo a microcirculação e ao tropismo celular e de efeitos terapêuticos, os quais incluem efeito analgésico, antiinflamatório e estimulante do tropismo do tecido ósseo.

Atualmente, os modelos de culturas celulares e a análise das mesmas por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), oferecem as condições necessárias para se investigar aspectos como a adesão de células ósseas na superfície de titânio e também a diferenciação, produção de matriz e mineralização.

No intuito de atingir a meta ideal de osseointegração com o objetivo de aplicar carga imediata aos implantes é necessário verificar se o implante com tratamento de superfície a laser induz a qualidade e quantidade de adesão de células ósseas, no processo de aposição óssea na superfície desses implantes. Para análise desse processo foi utilizado a MEV e foi feita observação da adesão das células do osso parietal de ratos denominadas de OSTEO 1 (Deboni et al., 1996), por meio de técnicas de cultura celular em fixações osseointegráveis de titânio com superfície tratada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Karagianes et al. (1976) realizaram um estudo para testar implantes dentários em porcos. Foram utilizados dois tipos de materiais na pesquisa, a liga de titânio (Ti-6Al-4V), com poros esféricos com diâmetros de 275 e 46 nm, feitos na superfície dos implantes e cerâmicas aluminizadas (95% de óxido de alumínio e 5% de “nepheline syenite”) com superfície porosa, com o diâmetro dos poros variando entre 200 e 400 nm. No estudo foram fabricados implantes cilíndricos com 5 mm de diâmetro e 18 mm de comprimento nos dois tipos de materiais e com os mesmos tratamentos de superfícies já mencionadas. As fixações, posteriormente foram implantadas em alvéolos da mandíbula de porco, em áreas correspondentes a pré-molares recém extraídos. Foram instalados 68 implantes e desses, quatro (um metálico e três cerâmicos) foram removidos antes dos porcos serem sacrificados, pois apresentavam mais de 1 mm de mobilidade. Dos 64 restantes, 19 foram removidos em bloco com todo o tecido ósseo adjacente e analisados aos quatro meses, 17 aos cinco meses, 16 aos oito meses e 12 quando completou um mês transcorrido após a implantação cirúrgica. Nesses implantes, foi verificado histologicamente crescimento ósseo para dentro dos poros de 39 dos 41 implantes metálicos. Foi verificado um contato íntimo entre osso e implante, sem a presença de respostas celulares inflamatórias. Já os implantes cerâmicos mostraram um grande número (16 dos 27 implantes utilizados), com mínimo contato entre osso e implante. Nos testes de remoção, os implantes metálicos de Ti-6Al-4V também apresentaram melhores resultados, com médias entre 500 e 2.500 Psi, comparado com os cerâmicos que apresentaram em sua maioria um torque de remoção de 500 Psi.

Schroeder et al. (1981) realizaram pesquisas sobre as respostas do tecido ósseo, tecido conjuntivo e tecido epitelial, quando os implantes de titânio com superfície de plasma spray de titânio (TPS) são colocados em contato com os tecidos citados. O estudo foi realizado em macacos e os experimentos duraram sete anos com o objetivo de verificar o desenho dos cilindros de titânio com superfície de TPS. A pesquisa demonstrou o tipo de união que se forma entre o implante o osso e o cilindro oco de titânio com a superfície tratada com plasma spray de titânio. Foi verificado que não ocorreu alteração nessa união entre osso e implante submetido a cargas funcionais em um período experimental de dois anos. Os autores observaram por meio de cortes longitudinais vistos em microscópio, uma conexão em “anquilose” e uma adaptação à superfície rugosa do implante. Foi verificada a adaptação do osso a todas as rugosidades e fendas da superfície de TPS com osteócitos vivos em contato direto com o metal.

Branemark (1983) verificou numa pesquisa realizada na medula óssea da fíbula do coelho que o êxito na osseointegração depende da confecção do implante e posterior função correta desta prótese. Portanto, o desenho superficial do implante, sem a presença de resíduos e fragmentos, influi diretamente no sucesso cirúrgico. Os autores concluíram ainda que haja possibilidade de existir uma verdadeira osseointegração com o tecido ósseo, visto que com a cicatrização do tecido ósseo, a câmara óptica utilizada não podia ser removida.

Maniatopoulos & Tsatsas (1986) realizaram um estudo comparativo entre desenhos de implantes endodônticos com superfícies porosas e parafusos rosqueáveis com superfícies lisas, com o propósito de avaliar a sua estabilização no osso. Foram instalados 83 implantes endodônticos em mandíbulas de seis cães adultos e colocados em função imediata. Os animais foram sacrificados após a

colocação dos implantes com intervalos de três, seis e doze meses. Os implantes foram avaliados inicialmente por exames clínicos e radiográficos e após o sacrifício dos animais, por teste de arrancamento, microscopia eletrônica e análises histológicas. Os testes de arrancamento mostraram aumento da força de cisalhamento com o aumento do tempo de implantação para as superfícies porosas, ao contrário para os implantes lisos que tiveram baixa contínua para força de cisalhamento. Foi detectado tecido fibroso encapsulando os implantes lisos. Os implantes lisos, apesar de apresentarem um bom travamento inicial, desenvolveram uma cápsula de tecido fibroso que aumentou gradualmente com o passar do tempo. Para os autores, isso ocorreu devido ao movimento dos implantes. Na superfície porosa, o crescimento ósseo se mostrou mais extenso e estável. Os autores concluíram que implantes com superfície porosa colocados em função imediata podem se tornar fortemente fixadas por crescimento ósseo, diferentemente dos implantes de superfície lisa.

Block et al. (1987) realizaram um estudo comparativo em cães, em relação à resposta histológica entre implantes orais cobertos com hidroxiapatita (HA) frente a implantes cilíndricos com tamanho, diâmetro e formato padrões. Estes implantes cilíndricos possuíam três tipos diferentes de superfície; TI CP usinado e polido, TI CP com cobertura jateada com partículas com irregularidades em sua superfície de 25-50 μm e TI CP com cobertura de HA com 50-75 μm de espessura. Dez cães foram submetidos a extrações de seus incisivos superiores e inferiores, quarenta pré-molares e primeiros molares e após um período de cicatrização de doze semanas, 96 implantes foram instalados. Os cães foram sacrificados em intervalos de um, quatro e dez meses após a instalação dos implantes a fim de se realizar cortes histológicos. Os resultados obtidos foram os seguintes: com um mês,

verificou-se que 100% dos implantes lisos (seis) foram facilmente removidos do osso após seccionamento axial. Aproximadamente 50% (quatro) dos implantes jateados estavam aderidos ao osso e 100% (13) dos implantes cobertos com HA estavam aderidos ao osso. Os autores relataram que os implantes com cobertura de HA apresentaram uma camada mais completa de osso lamelar e melhor manutenção do osso da crista óssea alveolar. Os autores relataram que tanto em experimentos *in vitro* quanto em experimentos *in vivo*, a solubilidade da cobertura de HA é inalterada, mesmo com o passar do tempo.

Brunette (1988) pesquisou o efeito da topografia da superfície dos implantes sobre o comportamento celular. O autor afirmou que existem quatro princípios de comportamento celular, que foram observados pela primeira vez em culturas celulares explicando assim as afinidades das células com os implantes. São eles: guia de contato, que alinha as células e as fibras colágenas com os sulcos finos na superfície dos implantes lisos; rugofilia, que mostra a preferência dos macrófagos com as superfícies rugosas; teoria dos dois centros, que pode explicar a orientação das células do tecido conjuntivo e as fibras aderidas às superfícies porosas; e *haptotaxis*, fenômeno que ocorre quando as células se deparam com um material com diferente propriedade adesiva, podendo assim estar diretamente relacionado com a formação de cápsulas ao redor dos implantes. O autor afirmou que a superfície topográfica dos implantes interfere no comportamento celular em contato com os implantes.

van Rossen et al. (1989) estudaram a textura de superfície de implantes lisos cobertos com HA, por meio de microscopia eletrônica. Os implantes com cobertura de HA desta pesquisa foram submetidos a testes de desgaste, através de uma máquina que simulava a escovação para verificar sua resistência à escovação

dental. Nove implantes dentais feitos de liga de Ti-Al-4V, cobertos com HA com a técnica de plasma *spray*, com variações de 50 a 90 µm nas espessuras das coberturas. Dos nove implantes, dois foram utilizados no teste de desgaste por meio de escovação. Após 10.000 ciclos de escovação, os grânulos presentes na cobertura desapareceram e apresentavam superfície irregular e após 20.000 ciclos de escovação, cerca de 5% da cobertura tinha desaparecido. Os autores chegaram a conclusão que, em geral a presença de fendas pré-existentes pode ser vantajosa para integridade mecânica de coberturas instáveis, ocorrendo também a compensação destas fendas pela diferença de elasticidade entre a cobertura e o substrato. Os pesquisadores concluíram que é preferível utilizar no interior da boca superfícies polidas, pois as superfícies com cobertura não resistem a períodos prolongados de escovação, além de as superfícies polidas possuírem menor acúmulo de placa bacteriana.

Albrektsson & Sennerby (1990) relataram que os protocolos para que se atinja a osseointegração vão desde a escolha do material empregado na confecção do implante até a instalação e manutenção da prótese. Portanto é importante segundo os autores, levar em consideração a usinagem do implante, o tipo de osso receptor, metal usado na fabricação, desenho do implante, acabamento superficial assim como o planejamento protético sobre os implantes.

Cobb et al. (1990) referiram que HA é um sal de fosfato e cálcio com uma organização cristalina bastante complexa, apresentado textura microgranular e lenta velocidade de reabsorção pelo organismo, demorando de quatro a seis semanas para sua total reabsorção. Os autores analisaram respostas cicatriciais nos defeitos ósseos criados na mandíbula de macacos, com uma mistura de osso autógeno e HA. Os resultados indicaram que as proporções 1:1 e 3:1 osso-HA podem ser

usadas com sucesso para induzir o desenvolvimento ósseo em cirurgias reconstrutivas.

Listgarten et al. (1991) definiram osseointegração como sendo a união estrutural e funcional entre o osso vivo e organizado e a superfície de um implante submetido ao carregamento protético.

Jaffin et al. (1991), em um estudo retrospectivo, observaram que 90% dos implantes de superfície lisa foram instalados em maxilares com osso tipo I, II e III, dos quais perderam-se apenas 3% dos implantes. Em contraste, dos 10% dos implantes colocados em processos alveolares com corticais finas e baixa densidade trabecular (osso tipo IV), houve uma significativa perda de 35% dos elementos. Implantes colocados em processos alveolares com corticais finas e baixa densidade trabecular (osso tipo IV), apresentavam significativa perda de 35% dos elementos.

Galante et al. (1991) relataram em seus estudos sobre efeitos biológicos dos materiais para implantes que o tratamento de superfície aumenta a superfície de contato desses, além de propiciar maior retenção mecânica, maior molhabilidade, retendo assim melhor o coágulo, estímulo no processo de reparo e alterações das propriedades físicoquímicas da superfície.

Pilliar et al. (1991), implantes com revestimento de HA bioativa no terço coronário podem melhorar a adesão entre implante e osso e permitir maior transferência de força para o osso adjacente, promovendo assim a manutenção de osso nesta região. Portanto, visando inibir a reabsorção óssea devido à tensão e atrofia por desuso, implantes com revestimento de hidroxiapatita na porção coronária foram comparados com implantes de superfície porosa, em um estudo com cães. Os implantes foram colocados em mandíbulas e após 72 semanas de reparação, os animais foram sacrificados. O exame histológico demonstrou que os

dois grupos estavam fixados ao osso por meio do crescimento ósseo para dentro dos poros. Entretanto, o grupo da HA obteve ganho maior na formação e manutenção de osso próximo à região coronária do implante.

Buser et al. (1991) avaliaram diferentes tipos de superfícies, suas características e sua influência na osseointegração. Foram preparados cilindros ocos com seis diferentes tipos de superfícies: a) Tipo E = Eletropólido; b) Tipo SMP = jateados com partículas médias (de 0,12 a 0,25 μm) e imersos em ácido HF/HNO₃; c) Tipo SL = jateados com partículas grandes (de 0,25 a 0,50 μm); d) Tipo SLA = jateados com partículas grandes (de 0,25 a 0,50 μm) que sofreram ataque ácido HCl/H₂SO₄; e) Tipo TPS = jateados com plasma rico em *spray* de titânio; f) Tipo HA = jateados com plasma *spray* de HA. Foram instalados 72 implantes, sendo 12 de cada tipo, em tíbias e fêmures de porcos. Todos os implantes apresentaram estabilidade primária e depois de três e seis semanas os implantes foram removidos e analisados em cortes transversais descalcificadas. Os exames histológicos apresentaram contato direto entre osso-implante em todos os implantes, no entanto no exame histomorfométrico foram encontradas diferenças na porcentagem de contato osso-implante, quando a medição ocorreu em osso esponjoso. Implantes jateados com partículas grandes (tipo SL) e com plasma *spray* de titânio (tipo TPS) apresentaram 30 a 40% de contato ósseo. Os implantes de superfícies (tipo E) como os de superfícies jateadas e atacadas por ácido (tipo SMP) apresentaram os mais baixos índices de contato osso-implante, com valores entre 20 a 25%. Os maiores índices de contato osso-implante foram observados nas superfícies jateadas e atacadas por ácido (tipo SLA), com valores de 50 a 60%. Os implantes com superfícies tratadas apresentaram maior aposição óssea quando comparadas com implantes com a superfície eletropolida e com os jateados com partículas médias. As

superfícies tratadas com HA (tipo HA) mostraram os mais altos índices de aposição óssea na interface osso-implante, porém foi verificado a ocorrência de reabsorção da HA. O tratamento ácido com HCl/H₂SO₄ (tipo SLA) foi considerada um fator de aposição óssea adicional. Os autores concluíram que a interface osso e implante está relacionada com o aumento da rugosidade da superfície do implante, mas será necessário novas pesquisas para se chegar a uma superfície de implante excelente para osso medular.

Bowers et al. (1992) estudaram a resposta de células semelhantes a osteoblastos *in vitro* em superfícies de titânio com diferentes morfologias. Discos de titânio puro medindo 1,25 mm de diâmetro e 4 mm de comprimento foram separados em grupos com superfície rugosa de morfologia regular e irregular, obtidas através do jateamento com partículas de óxido de alumínio, tratadas com ácido por um, cinco e dez minutos. As superfícies com morfologia regular foram polidas com carbetto de silício (SiC) com granulação de 60 a 120 µm. Todas as amostras foram incubadas com células semelhantes a osteoblastos removidas da calvária de ratos por três dias. A análise da aderência destas células aos discos foi avaliada por MEV. Os resultados mostraram que ocorreu maior adesão celular nas superfícies rugosas com morfologias irregulares. Portanto, os autores concluíram que o tipo de rugosidade da superfície afeta a resposta inicial das células e sugerem que os implantes devem ser confeccionados com rugosidade na área de contato com o tecido ósseo.

Golec & Krauser (1992) realizaram um estudo longitudinal para avaliar 3093 implantes endósteos e subperiósteos, cobertos com hidroxiapatita (HA - integral), instalados no período de 1985 a 1989. Os estudos clínicos, segundo os autores, tem demonstrado as vantagens dos implantes cobertos com HA sobre os

não cobertos. As radiografias e as análises espectrográficas tem confirmado a pureza da cobertura de HA. Testes de laboratório sobre a resistência ao cisalhamento e solubilidade da superfície de HA, mostram a estabilidade desta superfície. Não foram observadas nesse estudo perda de implantes por falhas na interface metal - HA. Esta cobertura quando colocada em osso muito esponjoso (classe III ou IV), a superfície de HA apresentou formação de osso lamelar sobre ela. Segundo os autores as indicações são elas: pacientes totalmente e parcialmente edentados, exodontias imediatas, rebordos que sofreram enxerto prévio e levantamento de seio maxilar. O estudo demonstrou sucesso tanto na maxila quanto na mandíbula bem como em extrações recentes. O índice de sobrevida nestes cinco anos de pesquisa foi de 97% para os implantes instalados e de 98,54% para os restaurados.

Meffert (1993) verificou melhores resultados na maxila com implantes com a superfície tratada com HA, em relação à força de resistência e fixação. Quando necessitamos de implantes mais curtos ou realizamos a cirurgia em osso de baixa densidade (TIPO D4) esse tratamento de superfície pode representar um sucesso a longo prazo.

Lautenschlager & Monaghan (1993) referiram que devido a sua excelente biocompatibilidade, baixa condutividade térmica e alta resistência, o titânio passou a ser empregado na Odontologia na forma de implantes, possuindo a capacidade de osseointegração viabilizando assim, a substituição de elementos dentários perdidos.

Ericsson et al. (1994) realizaram um estudo com o propósito de avaliar histomorfometricamente a quantidade de osso em contato com a superfície de implantes lisos jateados com TIO_2 (implantes *Astra tech*). Nesta pesquisa, foram utilizados cães, que tiveram seus pré-molares superiores extraídos. Após quatro

meses de cicatrização, cinco implantes lisos e jateados foram instalados. Após dois meses ocorreu a implantação de mais cinco lisos e cinco rugosos. Depois de quatro meses da instalação dos primeiros implantes, os cães foram sacrificados e sessões em bloco foram preparadas. Dos vinte implantes instalados, um foi perdido e a média de contato osso-implante foi de 40% para o liso tanto no período de observação de dois quanto no de quatro meses e de 65% para o com superfície tratada.

Schneider & Burrige (1994) salientaram que os mecanismos pelos quais as células osteoblásticas possam distinguir uma superfície ou outra inclui fenômenos de adesão celular, indicando que receptores de integração são usados para adesão de célula para proteínas de superfícies absorvidas de titânio. Outros estudos proveram evidências para mudanças de superfície específica em mecanismos de adesão de célula que contribuíram para alterações de superfície dependente em comportamento celular. É concebível que uma superfície pode ser criada para extrair receptor específico de ligação mediada e sinal de transdução de células aderentes.

Martin et al. (1995) realizaram uma pesquisa para avaliar o efeito da rugosidade das superfícies de titânio sobre a proliferação, diferenciação e síntese de proteínas nos osteoblastos humanos removidos de um osteossarcoma. Foram preparados discos de titânio para serem obtidos cinco tipos de superfície: EP = eletropolidos; PT = pré-tratados com ácido hidrófluorídrico, ácido nítrico e depois lavados; FA = jateados com partículas grandes, atacados por HCL e H₂SO₄ e lavados; CA = jateados com partículas grandes, atacados por HCL e H₂SO₄ e lavados; TPS = jateados com plasma spray de titânio. Depois de preparados, os discos receberam culturas de células preparadas sobre sua superfície e observações foram feitas depois de 24 e 48 horas. Foi relatado pelos autores que a

rugosidade de superfície altera a proliferação dos osteoblastos, a diferenciação e produção da matriz.

Wenneberg et al. (1995) realizaram um estudo avaliando a resposta dos implantes de titânio com formato de parafuso, com dois tipos de tratamento de superfície. Trinta implantes foram jateados com partículas de Al_2O_3 com 75 μm e os outros trinta foram jateados com partículas de Al_2O_3 de 25 μm , totalizando um total de sessenta amostras. Depois do jateamento, as amostras foram avaliadas em relação à topografia e composição, com observações não muito significativas quanto à composição da textura de superfície produzida pelos dois tamanhos de partículas. Após estas avaliações os implantes foram instalados em fêmures e tíbias de dez coelhos machos “brancos da Nova Zelândia”. Depois de doze semanas de instalação, os animais foram sacrificados e os implantes foram submetidos a testes de remoção por torque e histomorfométricos que revelaram maior contato osso e implante com maiores valores para remoção nos implantes jateados com partículas de Al_2O_3 de 75 μm .

Yakobi et al. (1996) estudaram o efeito do laser hélio-neônio de baixa intensidade no reparo da região cortical da tíbia, em ratos. Os resultados mostraram que a radiação do laser aumentou em duas vezes o reparo ósseo. Portanto, a regeneração aconteceu mais rapidamente nos ratos irradiados do que em ratos não irradiados.

Boyan et al. (1996) revisaram diversos estudos que pesquisavam células epiteliais, fibroblásticas e células relacionadas com reparação e formação óssea. Os autores concluíram que a morfologia macroscópica, bem como a microtopografia e a composição química da superfície das amostras, influenciam quais são os íons e como íons, minerais, água, proteínas e outras moléculas aderem ao material,

resultando na forma da célula e finalmente no comportamento celular. Além disso, osteoblastos e condrócitos são sensíveis a sutis diferenças na rugosidade e na química da superfície. Assim, por meio de manipulação da superfície do material, pode-se melhorar tanto seu uso *in vivo* quanto *in vitro* para as aplicações na bioengenharia.

Ong et al. (1996) realizaram um estudo com tratamento de ácido na superfície de implantes com uma mistura de HCl, H₂SO₄ ou ácido hidrofúrico com ácido nítrico (HF/HNO₃), obtendo-se como resultados uma cauterização química da superfície de implante de titânio que significativamente aumenta a força de osseointegração. Também foram encontrados dados em estudos indicando que a utilização de ácido promove um aumento na adesão e proliferação celular na superfície do implante.

Edmonds et al. (1996) pesquisaram a HA como material importante que quando colocado sobre o implante apresenta várias vantagens. Dentre essas vantagens, tem-se a osseointegração precoce, retenção biológica, maturação óssea e rápida formação óssea na interface osso e implante, melhorando assim a resistência à torção comparada aos implantes sem recobrimento. Os implantes com recobrimento de HA possuem uma porcentagem de contato osso-implante de 47% a 85% enquanto os de titânio de 50%. Os implantes com recobrimento de HA necessitam de mais do dobro do valor de torque para removê-los, comparados com os implantes sem recobrimento.

Suzuki et al. (1997) indicaram que a interface de implante-osso também pode refletir a extensão de reabsorção óssea induzida que acontece. Em seu estudo usaram o modelo de coelho para sugerir que quantias crescentes de osso presente superfícies de TPS foi devido ao fenômeno reabsorvitivo reduzido e não

formação aumentada. Se os fenômenos reabsorvitivos são relacionados a características de superfície ou químicas do implante, para a relação biomecânica do implante com osso ou a combinações de tais fatores são possibilidades que requeira avaliação sistemática.

Simpson (1998) esclareceu que a nova superfície SLA é obtida graças a um forte jateamento de areia de granulação grossa (250-500 μm) que produz acrorrugosidades, seguida de um ataque ácido ($\text{HCl}/\text{H}_2\text{SO}_4$) responsável pela microrrugosidade perceptível ao microscópio eletrônico modificando-se não só entre as diferentes localizações anatômicas, como também dentro de um mesmo osso. A interação de fatores intrínsecos e extrínsecos no sítio ósseo lesado determina o caminho da diferenciação de fonte de células mesenquimais, controlando os monócitos, células gigantes do tipo corpo estranho e células inflamatórias, do tecido conjuntivo estimulados por produtos de degradação da matriz, inviáveis para crescer e repovoar a área do implante do osso descalcificado. Macrófagos são mais numerosos do que qualquer outra forma celular e podem transferir atividade colagenolítica para o substrato, causando dissolução da matriz.

Buser et al. (1998) realizaram a comparação de dois diferentes tipos de implantes de titânio em maxila de porco. Os implantes-teste tinham a superfície usinada e tratada com ácidos (OsseotiteTM) enquanto os implantes controle foram jateados com sílica e tratados com ácido SLA. Depois de quatro, oito e doze semanas de cicatrização foi realizado o teste de torque de remoção para avaliar a força da interface implante e osso para ambos os tipos de implantes. Foram observadas diferenças significativas entre os dois tipos ($p > 0.01$). Os implante (OsseotiteTM) apresentaram um valor médio de torque de remoção de 62,5 N.cm em quatro semanas; 87,6 N.cm em oito semanas e 95,7 N.cm em doze semanas de

cicatrização. Os implantes SLA demonstraram em média 109,6 N.cm; 196,7 N.cm e 186,8 N.cm nos correspondentes períodos de cicatrização.

Davies (1998) demonstrou o mecanismo de integração óssea em implantes usinados e tratados com ácido e a diferença entre o crescimento ósseo durante a cicatrização nos dois tipos de implantes, que apresentaram três fases: 1º osteocondução, migração de células inflamatórias (macrófagos, neutrófilos, fibroblastos) e diferenciação das células osteogênicas na superfície, formando um arco de tecido conjuntivo temporário, que depende do desenho da superfície do implante; 2º atividade osteoblástica, formação de osso “novo” resultado da mineralização da matriz interfacial; 3º resposta do tecido é a remodelação e criação de osteócitos “de novo” na interface implante/osso. O autor concluiu que o tratamento de superfície promove um desenho diferente e otimiza as três fases do reparo.

Steinemann (1998) definiu o titânio e suas ligas como os biomateriais metálicos mais utilizados na implantodontia, devido à excelente combinação de suas propriedades mecânica, de resistência à corrosão e de biocompatibilidade, sendo considerados os melhores biomateriais para a confecção de implantes cirúrgicos, sejam ortopédicos ou dentais. Segundo o autor, a osseointegração permite a transferência eficiente das tensões do implante ao osso. Isto implica que nenhum movimento ocorre na interface ou o movimento é restrito a distâncias atômicas.

Ozawa et al. (1998) analisaram o efeito da irradiação de laser de baixa intensidade (830 nm) em cultura de células ósseas de ratos. Eles observaram que o laser, provavelmente, estimulou a formação de osso através de duas funções: a) estimulação da proliferação celular, principalmente na formação de células da linhagem osteoblástica; b) estimulação da diferenciação celular, resultando no

aumento de células osteoblásticas diferenciadas, com conseqüente aumento na formação óssea. No entanto, esses efeitos são observados apenas em células imaturas.

Schenk & Buser (1998) estudaram o processo de osseointegração e verificaram a necessidade de alguns pré-requisitos para o seu estabelecimento. Os autores ressaltaram na pesquisa a importância de analisar as propriedades do material, além das configurações da superfície do implante, uma vez que o processo de osseointegração requer um material bioinerte ou bioativo. Outros pré-requisitos avaliados foram a obtenção de estabilização primária e a quantidade de força adequada a ser colocada nos implantes, durante o período de neoformação óssea. Os autores concluíram que do ponto de vista clínico, a superfície rugosa de titânio oferece uma ancoragem significativamente melhor ao osso, inclusive com períodos de reparação mais curtos. No entanto, mais estudos devem ser realizados para se comparar novos métodos de confecção de rugosidades nos implantes com outros bem documentados como a técnica TPS.

Ellingsen (1998) realizou uma revisão de literatura sobre configurações da superfície dos implantes dentais. O autor observou que há uma grande discussão sobre a dimensão da rugosidade ideal que melhora ou aumenta a reposta óssea e que a rugosidade pode ser considerada em diferentes níveis: macroscópico, microtopografial e ultraestrutural. Nestes diferentes níveis, a rugosidade provavelmente tem efeitos diversos nos tecidos, sendo que para o preenchimento ósseo completo, a irregularidade do material deveria ter diâmetro mínimo de 100 μm . As composições químicas do biomaterial também têm um importante papel na resposta tecidual. O material pode exibir uma superfície que conduza a uma ligação fraca entre implante e osso ou conduzir a uma forte adesão. O autor concluiu,

portanto, que a qualidade da superfície é de extrema importância para a estabilização da reação entre o implante e os tecidos, tanto com relação à morfologia, quanto às propriedades químicas e biológicas.

Li et al. (1999) demonstraram que implantes de titânio com superfícies usinadas e depois jateadas apresentaram resistência às forças de cisalhamento cinco vezes maiores que às observadas nos implantes com superfícies unicamente usinadas, resultando em maior resistência à remoção ao torque. Superfícies rugosas resultam em um aumento da resistência de osseointegração na interface implante-osso devido ao aumento da área da superfície do implante.

Vidigal Junior et al. (1999) compararam implantes com superfície recoberta com HA e implantes sem revestimento. Vinte implantes foram utilizados neste estudo, sendo que cada coelho recebeu cinco implantes e três meses após a cirurgia os animais foram sacrificados. Os autores observaram, por meio da análise histológica, que os implantes recobertos com HA apresentaram melhor interface ossoimplante, talvez como resultado da superfície bioativa da camada de HA. No entanto, alguns implantes recobertos com HA perderam esta cobertura e a superfície metálica do implante ficou em contato com osso e tecido mole. Esta nova interface produzida e as implicações da perda da HA ainda precisam ser mais estudadas.

Moroni et al. (1999) avaliaram implantes rosqueados lisos, rugosos e recobertos com fluoridroxiapatita (FHA) após um mês e três meses de colocação em coelhos. A análise histológica demonstrou maior ganho de tecido ósseo na interface dos implantes recobertos com FHA, porém a força de torque para a extração do implante não foi estatisticamente diferente entre os grupos.

EI-Monsater et al. (1999) realizaram um estudo para determinar se o laser era capaz de proporcionar um bom leito para osseointegração. Em três meses, os

implantes estavam osseointegrados, concluindo os autores que o laser *YAG-erbium* de alta potência pode ser usado para preparo do leito onde receberão os implantes e posterior osseointegração.

Karabuda et al. (1999) compararam contato ósseo em implantes imediatos com superfícies de plasma-spray de titânio e superfície recoberta por HA. Observaram um contato maior (75,7%) com HA e 70,6% com plasma-spray de titânio. Embora utilizassem superfícies diferentes, a metodologia foi semelhante a este trabalho, diferindo no fato de que toda superfície do implante foi considerada para análise do contato ósseo.

Trisi et al. (1999) analisaram histomorfometricamente a interface osso e implante de titânio comparando superfícies lisas e rugosas em maxilas de humanos com baixa densidade óssea, com períodos de cicatrização de três, seis e doze meses respectivamente. Foram selecionados seis adultos voluntários, que se submeteram a implantação de dois parafusos de titânio cada um, sendo um liso e um rugoso. Aos três meses o valor de contato osso e implante foi de 6,2% para os lisos e de 58,9% para os rugosos. Depois de seis meses o contato osso e implante para o liso foi de 3,55% e de 72,9% para os rugosos. Aos doze meses o contato osso e implante foi de 6,7% para o liso e de 76,75% para os rugosos. Os autores concluíram com o seu estudo que a superfície rugosa promove um aumento no contato osso e implante em osso de baixa densidade, mas devido ao pouco número de amostras da pesquisa, não puderam relatar conclusões definitivas entre os dois grupos.

Hall & Lausmaa (2000), em experimentos com osso de 19 coelhos, por um período de três meses, analisaram quantitativamente e qualitativamente implantes de Ti cp e liga de Ti6Al4V em dois grupos, um com jateamento de

partículas de 25 µm de óxido de titânio e outro com partículas de 75 µm. Removidos após três meses os implantes cp foram consideravelmente melhores em estabilidade no leito ósseo comparados com a liga de titânio, assim como na interface metal/osso apresentaram maior contato, porém no volume ósseo as ligas mostraram maior quantidade. Contudo, não houve diferenças estatísticas significantes nos resultados.

Romanos et al. (2000) realizaram um estudo para mostrar as possíveis alterações em disco de titânio utilizando do laser diodo e o YAG. Para tanto, foram utilizados três tipos discos de titânio (um jateado com areia, outro tratado com plasma spray e um recoberto com HA que foram irradiados por laser e para análise foi utilizada a microscopia eletrônica). Concluíram que o laser diodo (980 nm) não danifica a superfície dos implantes de titânio e tem valor no tratamento da peri-implantite.

Larsson (2000) estudaram a interface entre osso e implantes com superfícies diferentes por dez anos e demonstrou que superfícies modificadas por eletrotécnica com oxidação anódica policristalina, proporcionam um espesso óxido com micro-poros na estrutura rugosa, manifestou uma superfície muito interessante com propriedades que podem otimizar a resposta biológica.

Orsini et al. (2000) analisaram implantes com superfície jateada, usinada e com ataque ácido e comprovaram irregularidade morfológica nas superfícies jateadas e com ataque ácido o que possibilitou uma melhor adesão celular inicial demonstrando uma melhor osseointegração. Foi avaliado também teste de citotoxicidade que não apresentou efeito celular tóxico demonstrando biocompatibilidade.

Sykaras et al. (2000) demonstraram que não apenas a superfície como diâmetro, comprimento, desenho, material, topografia da superfície, tempo e local de

implantação, entre outros afetaram processo de osseointegração.

Yang et al. (2000) relataram que porosidade em implantes de titânio pode ser criada pela técnica de *plasma spraying* na atmosfera de argônio. Os autores avaliaram estes implantes por meio de difração de raios X, MEV, medida da rugosidade da superfície e teste mecânico. Os resultados mostraram que a camada mais externa apresentava macroporos com diâmetro medindo cerca de 100 a 150 µm, enquanto que a camada média exibia micro e macroporos e a mais interna era densa. Os autores concluíram que esse método de confecção de revestimento produziu eficiente adesão física e mecânica entre o revestimento de titânio e o seu substrato. Além disso, as tensões térmicas residuais foram menores, quando comparada a outros métodos de processamento.

Davies (2000) ressaltou que superfícies irregulares oferecem maior embricamento da rede de fibrina do coágulo adjacente, resistindo às forças de tração e favorecendo a aproximação celular à superfície do implante. Além disso, há o fenômeno da contração da ferida provocado pelas forças de migração das células envolvidas no reparo e pela organização das fibras colágenas do tecido em reparo. A contração da ferida é também um fenômeno afastador do tecido de granulação da superfície do implante. Se a força contrátil é maior que a força adesiva, o desligamento pode ocorrer, ou seja, a topografia de superfície tem profundo efeito na osseointegração.

Cooper (2000) indicou que o estado atual de informação relativo a topografia de superfície de implante proporcionou para os clínicos opções que confundem. Implantes usinados não são "lisos" e todas as superfícies de implante "ásperas" são equivalentes. Superfícies são identificadas freqüentemente pelo método de produção e não a superfície de resultante. Métodos industriais distintos

podem convergir em uma topografia de superfície semelhante que dá atributos biológicos e mecânicos comuns para o implante. Conhecimentos básicos adicionais relativo à relação de topografia de superfície com a célula e comportamento de tecido é necessário para definir melhor os parâmetros topográficos de superfície que podem prever o comportamento de osso em implantes.

Carvalho (2001) citou que a superfície usinada é a mais estudada, ou seja, aquela que não recebe tratamento especial. Há vários estudos com jateamento por óxido de titânio ou de alumínio, esses deformam e aumentam as irregularidades e conseqüentemente a área de contato. Superfície quimicamente tratada é aquela submetida a ataque ácido (HCl/H₂SO₄) apresenta vales e picos mais homogêneos e menos profundos que a anterior. A pré-oxidada exibe aumento da área superficial. As de agregação por plasma *spray* titânio e de HA foram mais utilizadas na fase inicial da implantodontia e em implantes cilíndricos (sem roscas), atualmente plasma *spray* é utilizado por alguns sistemas, enquanto a HA, devido a problemas de perda de implante, está sendo gradativamente substituída por outras alternativas.

Nishiguchi et al. (2001) investigaram os efeitos dos tratamentos com calor e alcalino em implantes de superfície porosa. O estudo foi realizado em fêmures de cães e os implantes após um período de reparação de quatro e doze semanas foram submetidos ao teste mecânico de cisalhamento e análise histológica. No período de quatro semanas os autores observaram maior quantidade de crescimento ósseo nos grupos que receberam tratamento. No entanto, no período de doze semanas, estas diferenças não foram significantes.

Amarante (2001) analisaram os resultados da literatura publicada sobre superfícies de implantes tratadas com plasma de titânio (TPS) e jateadas com areia e condicionadas com ácido (SLA). Os resultados demonstraram que tanto a

rugosidade como o tratamento químico da superfície pode influenciar bastante a força superficial de cisalhamento (resistência oferecida à remoção).

Blay (2001) realizou um estudo para determinar se o processo de osseointegração de implantes colocados na tíbia de coelhos sofre algum tipo de alteração quando a região for irradiada com laser, em relação ao tempo necessário para que o fenômeno da osseointegração ocorra sem irradiação. Trinta coelhos brancos *New Zealand* adultos, do sexo masculino foram submetidos à cirurgia de colocação de implantes, para posterior avaliação do torque de remoção e da frequência de ressonância. Cada animal recebeu dois implantes de titânio puro (Frialit-2 - Friadent, Munchein - Germany), um em cada metáfise proximal tibial, sendo inseridos com um torque de 40 Ncm e tendo sua estabilidade inicial também monitorada através do analisador de frequência de ressonância. Os coelhos, então, foram divididos em três grupos: um grupo controle e dois grupos laser. Os grupos foram avaliados quanto ao torque de remoção e à frequência de ressonância dos implantes, após os períodos de três e seis semanas. Um dos grupos laser foi irradiado com um laser de comprimento de onda na faixa do infravermelho (830 nm) e o outro grupo irradiado com um laser emitido na faixa do visível (680 nm). Foram realizadas dez sessões de irradiação, com intervalos de 48 horas entre elas, sendo a primeira no pós-operatório imediato. A densidade de energia de irradiação foi de 4 J/cm² por ponto, sendo dois pontos de cada lado da tíbia. Os resultados da análise estatística da frequência de ressonância indicaram que para os dois grupos laser houve diferença significativa entre os valores de frequência no momento da instalação dos implantes e os valores obtidos para três e seis semanas. Por sua vez, os resultados obtidos para o torque de remoção entre os três grupos, mostraram diferença estatisticamente significativa após o período de seis semanas, sendo que

os grupos laser apresentaram valores de torque de remoção bem maiores em média que o grupo controle. A partir desses resultados, o autor concluiu que o processo de osseointegração de implantes instalados em tíbias de coelhos e que sofreram irradiação com lasers de comprimento de onda de 680 nm e 830 nm, tiveram melhor grau de osseointegração do que o grupo controle.

Proussaef et al. (2001) analisaram a evolução histológica de implantes com HA após um período de função entre 3.5 e 11 anos, em três casos clínicos com implantes osteointegrados, concluindo que a HA não apresentou reabsorção ou dissolução após um longo período de função e que provavelmente isso ocorra apenas quando haja um contato direto com tecido mole.

Deligianni et al. (2001), em seus estudos indicaram que uma maior adesão celular na superfície do implante reflete na promoção de uma maior eficiência no processo de osseointegração.

Hallgren et al. (2001) compararam implantes com superfície de diferentes texturas: rugosa e lisa. Os implantes foram colocados em tíbia de coelhos e após três meses, os animais foram sacrificados. O material foi avaliado por meio de análise de frequência de ressonância, teste mecânico de cisalhamento e histomorfometria. Baseados nestes resultados, os autores concluíram que não há influência da textura da superfície do implante para o processo de osseointegração.

Li et al. (2001) descreveram sobre interface óssea de implantes citologicamente influenciada por jato de areia com óxido de alumínio, em um estudo preliminar *in vitro* com discos de titânio através de microscópio de fase-contraste, analisaram após um mês a interface osteoblasto/implante suas características histológicas e ultra-estruturais. Concluíram que a superfície rugosa pode interferir induzindo uma conexão osso/fibra perpendicular à superfície, durante a

osteointegração e pode interferir melhorando a biomecânica interfacial dos implantes e aumentando as funções dos osteoblastos.

Kanagaraja et al. (2001) pesquisaram amostras de titânio com diferentes superfícies, expostas ao meio intraperitoneal de camundongos ou ratos ou inseridos em tíbia e fêmur de coelhos, a fim de identificar os aspectos que conduzem a melhor e mais rápida resposta tecidual. Os três tipos de superfície utilizados no estudo foram: polida, rugosa e rugosa associada ao tratamento térmico. Os resultados indicaram que nenhuma diferença estatística foi encontrada entre as superfícies com relação ao recrutamento celular, teste de torque e análise histomorfométrica.

Yang (2001) verificou se a cobertura dos implantes de titânio com fosfato de cálcio (CaP) teria impacto significativo na osteocondução. Os resultados mostraram que a adição de uma camada fina de CaP no implante promove aceleração da cicatrização óssea em torno da superfície do implante até mesmo após duas semanas de cicatrização inicial.

Sanz et al. (2001) realizaram um estudo experimental a respeito da resposta óssea a um novo tipo de tratamento de superfície com fosfato de cálcio em implantes de Ti que foram colocados em tíbias de coelho por 16 semanas e depois analisados sob MEV. O estudo mostrou biocompatibilidade do material, aposição óssea sobre a superfície áspera, ausência de tecido fibroso na interface osso/implante e reabsorção do material usado, o fosfato de cálcio grosso que em superfície usinada age como material inerte.

Srivastava et al. (2001) estudaram a relação entre a microestrutura e os parâmetros do laser de CO₂ para a deposição de partículas de Ti₄Al₈Mn₂Nb₂ em Ti₆Al₄V utilizando microscopia ótica, eletrônica de varredura e de transmissão. Eles concluíram que a microestrutura da camada depositada depende da potência

aplicada ao feixe de laser e que é extremamente mais fina e heterogênea quando comparada com camadas aplicadas por processos convencionais. Um posterior tratamento térmico melhora a homogeneidade da camada aplicada.

Freitas et al. (2001) relataram que a diferença fundamental entre os dois tipos de utilização do laser, o de alta e o de baixa potência é a diferenciação entre a excitação foto-térmica ou foto-biológica dos tecidos e células. O laser de alta potência permite que o raio seja concentrado com intensidade suficiente para cortar, soldar, evaporar ou fundir os tecidos, de modo imediato, por efeitos puramente térmicos. Os lasers de baixa potência não têm esta possibilidade e seu mecanismo de ação só é possível através de processos foto-biológicos, envolvendo efeitos correlatos à biologia celular e molecular.

Perez Del Pino et al. (2002) irradiando titânio com laser Nd:YAG ao ar pulsado, obtiveram diferentes camadas de óxidos com cores uniformes, através da mudança no tempo de exposição da superfície ao feixe. Por microscopia ótica puderam verificar que micro-zonas apresentaram diferentes cores. A análise por XRD mostrou que as camadas eram compostas predominantemente por Ti_2O e TiO , e a espectroscopia micro-Raman das micro-zonas coloridas identificou a presença de Ti_2O_3 e TiO_2 onde as diferentes proporções destes óxidos resultavam em diferentes cores.

Yang (2002) verificou se a cobertura com fosfato de cálcio tinha um impacto significativo no crescimento ósseo em torno do implante de titânio. Os resultados mostraram que uma fina camada de fosfato de cálcio nos implantes parecem promover uma extensa interface implante-osso.

Aparicio et al. (2002) avaliaram *in vitro* a resposta de osteoblastos humanos em amostras de t.c.p., após um, três, sete e quatorze dias de incubação.

Foram estudados sete diferentes grupos de discos: a) ct - polietileno (controle negativo); b) ti - titânio usinado; c) Si - jateamento com carbeto de silício (SiC); d) Al - jateamento com óxido de alumínio (Al_2O_3); e) Ti-2S - usinado + tratamento termo-químico; f) Si-2S - jateado com SiC + tratamento termo-químico; g) Al-2S - jateamento com Al_2O_3 + tratamento termo-químico. Os discos foram analisados em MEV, difração de raios X, energia de dispersão de raios X (EDS) e rugosidade de superfície. Os resultados dos valores médios da rugosidade de superfície mostraram que os grupos jateados apresentaram rugosidade significativamente maior do que os grupos não jateados, 3,78 e 0,07 respectivamente. As análises por meio do EDS e MEV evidenciaram a presença de SiC e Al_2O_3 nos discos e a existência de um gel de titanato de sódio na superfície, aspecto que proporciona o comportamento bioativo da amostra. Os autores concluíram que a rugosidade e a capacidade bioativa da amostra promovem um aumento na adesão e diferenciação das células osteoblásticas, diminuindo o tempo de osseointegração.

Trisi & Rebaudi (2002), em um estudo comparativo, em humanos, entre superfície usinada e com ataque ácido, demonstraram um contato maior em implantes que sofreram modificação da superfície por ataque ácido. O estudo foi realizado com MEV e com um tempo de espera de seis meses em 11 pacientes.

Lavos-Valereto et al. (2002) utilizaram cultura de células osteoblásticas osteo-1 de ratos para analisar a biocompatibilidade da liga de titânio ($\text{Ti}_6\text{Al}_7\text{Nb}$) com ou sem cobertura de HA. As células cresceram em placas Petri e os mostraram que a presença de HA na superfície do titânio danificou o crescimento celular, entretanto, a cobertura melhorou a formação de matriz extracelular. Logo, o titânio com ou sem cobertura de HA tem propriedade físicas e biológicas relevantes como material para implante.

Hayakawa et al. (2002) em um estudo, *in vivo*, da evolução histológica e histomorfométrica de dois tipos de implantes retirados ainda em função, analisaram na interface osso/implante a resposta óssea, um implante de plasma *spray* de titânio (TPS) foi removido cinco anos após implantação devido uma fratura da coroa e o outro de jateamento e ataque ácido (SLA) foi utilizado para ancoragem ortodôntica. Histologicamente ambos mostraram contato ósseo, e osso altamente calcificado, porém o SLA apresentou uma interface de contato óssea muito superior.

Feng et al. (2002) fabricaram diversas superfícies de Ti por meio de tratamento térmico em diferentes atmosferas de oxidação. A bioatividade destas superfícies foi avaliada pela sua imersão em solução de fosfato de cálcio. A morfologia, composição química, estrutura, rugosidade, energia e densidade de superfície do grupo hidroxila foram avaliados por MEV, espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS), difração de raios X (XRD), rugosímetro, goniometria de ângulo de contato e método químico respectivamente. As amostras de t.c.p. foram divididas em quatro grupos de acordo com o tratamento térmico utilizado: a) S - não tratada; b) H - calor a 600°C por 30 min no ar; c) X - calor a 600°C por 30 min no oxigênio (90%) com 0,5L/min; d) W - calor a 600°C por 30 min no vapor de água com 1,13-1,15x10⁵Pa. Em seguida as amostras foram submersas em solução de fosfato de cálcio. Os resultados apresentados mostraram que a rugosidade das superfícies foi uniformemente realizada em todas as amostras, aumentando sua energia de superfície. As análises por XPS e XRD mostraram a formação de TiO₂ rutilo, sem a presença de nenhum subóxido. Os grupos tratados com calor apresentaram altos níveis dos grupos de hidroxila (OH) ab que foram relacionados com a bioatividade do metal. A partir do teste de imersão foi verificado que a apatita formou-se espontaneamente nos revestimentos, confirmando o fato que o tratamento da

superfície do titânio conduz à biatividade do mesmo. Os autores concluíram que as amostras tratadas com calor no vapor de água apresentaram maior energia de superfície e níveis mais altos de grupos hidroxila, resultando em melhor bioatividade.

Geurs et al. (2002) analisaram a influência da geometria e características da superfície dos implantes no processo de osseointegração, em estudo *in vivo* com 120 pacientes e 643 implantes, por três anos. Todos pacientes receberam implantes com três diferentes coberturas de superfície: plasma *spray* de titânio, cobertura de HA e cilindro com cobertura de HA. Concluíram que HA acelera a taxa inicial de osseointegração e apresenta uma diminuição mais rápida na micro-movimentação comparado com plasma *spray* de titânio.

Frosch (2002) estudaram o crescimento, mineralização e formação de osso a partir de cultura de células osteoblásticas de humanos sobre corpos de prova de titânio poroso. As amostras de titânio puro apresentavam poros com diâmetro de 300, 400, 500, 600 e 1000 μm e foram incubadas por períodos de sete dias a oito semanas. Os resultados foram avaliados por meio de MEV, microscópio de transmissão, análise histológica e de imunofluorescência, radiografias de alta resolução, teste enzimático para fosfatase alcalina e microscópio de força atômica. Os autores concluíram que o processo de osseointegração se inicia por células precursoras de osteoblastos que migram e se aderem ao implante. Essas células são influenciadas pelo diâmetro dos poros, sendo que neste estudo os poros com 600 μm exibiram maior proliferação celular. A estrutura de um ósteon foi verificada a partir do período de quatro semanas.

Peto et al. (2002) irradiaram a superfície de implantes de titânio usinados e jateados com Al_2O_3 sob efeito do laser pulsado de Nd: glass, o que proporcionou uma temperatura muito acima do ponto de fusão modificando a morfologia original

da superfície dos implantes. Inseriram em tíbias de coelhos e analisaram comparativamente o resultado de implantes com superfície somente usinada, através de MEV e XPS. Concluíram que o tratamento com laser remove as impurezas da superfície, cria uma topografia isomórfica e o osso formado ao seu redor oferece uma resistência ao torque cerca de 20% maior que daquela obtida em implantes com superfície usinada.

Lee et al. (2002) avaliaram a influência de diferentes rugosidades em amostras de liga Ti-6Al-4V recobertas ou não com HA e do conteúdo sérico no meio de cultura celular sobre a adesão e morfologia de osteoblastos da calvária de ratos neonatais. Foram utilizados quatro tipos de amostras: a) Ti-6Al-4V jateada com areia; b) Ti-6Al-4V polida; c) Ti-6Al-4V recoberta com HA polida; d) Ti-6Al-4V com revestimento de HA. A caracterização das amostras foi realizada por MEV e os grupos exibiram diferenças topográficas significativas, sendo que o maior nível de rugosidade foi mostrado no grupo Ti-6Al-4V com revestimento de HA. As células foram contadas três, seis e 24 horas após o início da incubação. Os autores observaram que o nível de adesão dos osteoblastos com 4% de soro fetal bovino (FBS) foi maior nas amostras polidas do que nas rugosas, porém quando o conteúdo sérico foi aumentado para 10% não houve diferença entre os grupos de Ti-6Al-4V. Previamente a 48 horas, as superfícies de Ti-6Al-4V foram mais susceptíveis a adesão de osteoblastos do que os revestimentos de HA, este fato provavelmente se deve a perda da estrutura de HA após imersão no meio de cultura.

Cho & Jung (2003) observavam que a superfície tratada por laser, em implantes rosqueáveis, ofereceu um valor de torque para a remoção do tecido osseointegrados de 62,57 Ncm contra 23,58 Ncm para os não tratados, após oito semanas da implantação em tíbias de coelhos.

Castilho Filho (2003) teve como objetivo em seus estudos avaliar biomecanicamente a influência da irradiação laser em baixa intensidade, no processo de reparação óssea após cirurgia de colocação de implantes de titânio em tíbias de coelhos. Foram utilizados 33 coelhos da raça *Norfolk*, divididos em três grupos de acordo com o período de remoção do implante (14, 21 e 42 dias). Cada animal recebeu dois implantes de titânio: um na tíbia direita e outro na tíbia esquerda. Após sorteio, uma das tíbias foi irradiada durante 10 segundos com o laser de GaAlAs (= 780 nm) emitindo na densidade de energia de $7,5\text{J}/\text{cm}^2$. As irradiações foram realizadas em quatro pontos: acima, abaixo, à direita e à esquerda do implante, a cada 48 horas por um período de 14 dias. Ao final do período de observação, os animais foram sacrificados de acordo com os grupos, as tíbias foram retiradas e os valores do torque de remoção dos implantes foram registrados. Os resultados mostraram que os grupos irradiados de 21 e 42 dias após a irradiação apresentaram médias de valores de torque de remoção dos implantes superiores aos seus respectivos controles, sendo esta diferença estatisticamente significativa. Houve um aumento na resistência óssea para os implantes que foram irradiados, alcançando nestes períodos de observação uma osseointegração de melhor qualidade.

Ueda (2003) aplicou laser diodo em células osteoblásticas isoladas de rato para verificar a reação e encontrou que houve aumento da atividade da fosfatase alcalina e expressão gênica desse, aumento da proliferação celular e formação de nódulo ósseo.

Fini et al. (2003) estudaram a fluorhidroxiapatita (FHA) como revestimento para implantes rosqueados. Os implantes foram colocados em oito cabritos que foram sacrificados 12 semanas após a cirurgia e foram realizadas análise histológica

e teste mecânico de cisalhamento. Os autores verificaram que o revestimento com FHA não interfere na aderência do osso ao implante.

Pinheiro et al. (2003) realizaram um estudo avaliando histologicamente a influência da radiação laser não-cirúrgica (λ 830 nm) sobre o reparo ósseo de defeitos padronizados em fêmur de ratos *Wistar albinus* e submetidos a implante de osso bovino inorgânico Gen-ox®. Foram estabelecidos três grupos de animais: grupo I (controle, n=06); grupo II (Gen-ox®, n=09) e grupo III (Gen-ox® + LLLT, n=09). Os animais foram irradiados a cada 48 horas, sendo a primeira irradiação realizada imediatamente após a cirurgia. Os animais foram irradiados transcutaneamente em quatro pontos em torno da ferida cirúrgica. O reparo nos espécimes irradiados foi caracterizado por uma maior neoformação óssea, bem como por uma maior proliferação de fibras colágenas no interior do defeito já a partir de 15 dias após a cirurgia, também considerando a capacidade osteocondutiva do Gen-ox®. Conclui-se que a LLLT resultou num efeito de biomodulação positiva sobre o reparo do defeito ósseo submetido a implante de osso bovino inorgânico.

Xavier et al. (2003) avaliaram a biocompatibilidade do titânio com diferentes tratamentos de superfície utilizando cultura de osteoblastos. As superfícies dos discos de titânio comercialmente puro foram preparadas por meio de usinagem, banho ácido (HNO₃), jateamento com óxido de alumínio e jateamento com óxido de alumínio seguido de banho ácido. As superfícies foram avaliadas quanto à rugosidade e a topografia. Não houve diferença nas superfícies quanto à rugosidade. A adesão celular não foi afetada pelos tratamentos de superfície. A formação de matriz mineralizada após 21 dias de cultura foi menor nas superfícies jateada e na superfície tratada por associação de jateamento e ataque ácido; nas quais foi detectada a presença de alumínio. Os autores sugeriram que estes

tratamentos de superfície com jateamento ou a combinação de jateamento e ataque ácido interferem negativamente com a biocompatibilidade do Ti.

Zechner et al. (2003), através de histomorfometria, analisaram a interface de três tipos de implantes em mandíbulas de mini-porcos. Foram usados implantes usinados, características anódicas modificadas e com cobertura de HA. Apresentaram um contato osso/implante muito semelhante entre características anódicas e HA, enquanto os implantes usinados apresentaram uma taxa de contato osso/implante muito baixa analisados após doze semanas.

Luklinska & Schluckwerder (2003) estudaram a morfologia e a estrutura da interface osso/implante após implantação *in vivo*, em tíbias de coelho com implantes compostos de copolímero de polihidroxibutil biodegradável e reforçados com partículas de hidroxiapatita sintética. O estudo mostrou um caráter bioquímico do compósito formando osso lamelar na interface e a osseointegração do material.

Morra et al. (2003), em uma revisão da literatura, explicaram que a modificação da topografia de superfície de implantes dentários de titânio para aumentar aspereza é bem conhecida, comercialmente explorada e amplamente investigada em níveis básicos e aplicados, sendo que o jato de areia, plasma borrifado e cauterizado por ácido são as três abordagens mais comuns usadas por produtores a fim de alterar a topografia e aumentar a área de superfície de implantes.

Groessner-Schreiber et al. (2003) constataram que há uma relação direta entre a camada de óxido de titânio sobre a superfície dos implantes e o sucesso da osseointegração. Além disso, segundo os autores, a rugosidade superficial dos implantes também constitui fator favorável à melhor osseointegração.

Veis et al. (2004), em estudo histomorfométrico em cães, com 22 implantes (vinte testados e dois controle), metade tratada quimicamente (osteotite®) e outra metade usinado, sobre enxerto de osso autógeno resultou em uma porcentagem de contato osso/implante muito alta na metade rugosa com duplo ataque ácido-térmico, quando comparados com a metade usinada. Os implantes de 10 mm foram ancorados 5 mm em osso basal e no espaço artificial de 2 mm preenchido com osso autógeno particulado e coberto com uma membrana reabsorvível (osteoquest®) que foi fixada com pinos de fixação (Biotac®).

Kusakabe et al. (2004) avaliaram a quantidade de crescimento ósseo e a tensão para deslocamento de implantes porosos recobertos ou não com HA. Os implantes foram inseridos em cães que foram sacrificados três, seis e dez semanas, seis e doze meses após a cirurgia. A neoformação óssea foi analisada na interface osso-implante por MEV e foi verificado que os implantes com revestimento de HA apresentaram maior crescimento de tecido ósseo. O teste mecânico de cisalhamento demonstrou maior adesão entre osso e implante com revestimento de HA. Portanto, os autores concluíram que o revestimento de HA aumenta significativamente o contato entre osso-implante.

Kim et al. (2004) investigaram os efeitos das modificações das superfícies de titânio na adesão e proliferação de células ósseas MG63. Os espécimes de liga de Ti-6Al-4V foram colocados dentro do sistema *air plasma sprayed* (APS) para a confecção de revestimentos de TiO₂. Foram obtidas nove diferentes tipos de superfície APS, variando-se o fluxo de H₂, ar, força utilizada e distância do *spray*. Em seguida os espécimes foram seccionados e avaliados ao MO para caracterizar a camada de revestimento e a interface substrato/revestimento. Os resultados demonstraram que os níveis de R_a variaram de 4,23 a 8,08 µm e a porcentagem de

porosidade esteve entre 1,34 e 5,15%. Posteriormente os espécimes foram cultivados com células osteoblásticas MG63 durante três dias, sendo observado padrão celular similar em todos os tipos de superfície. Contudo, verificou-se que superfícies mais rugosas permitiram a formação de uma rede celular em 3D, promovendo maior proliferação de osteoblastos.

Bachle & Kohal (2004) revisaram a literatura a fim de identificar todos os estudos que descreveram a interação das células osteoblásticas da linhagem MG63 com diferentes superfícies de titânio. Os autores concluíram que as células MG63 são excelentes para a pesquisa dos efeitos dos biomateriais e o entendimento do mecanismo da resposta celular, com posterior formação de tecido ósseo. Baseados nos estudos revisados, os autores concluíram que os valores de rugosidade da superfície que favoreceram a proliferação celular foram de 4-5 μm .

Rochkind et al. (2004) investigaram a eficácia da irradiação a laser de baixa intensidade na cicatrização pós-traumática utilizando *Bio Oss* (osso bovino orgânico) enxertado em ossos mandibulares de ratos. Os autores concluíram que o laser de baixa intensidade sozinho ou com o uso de *Bio Oss* ajuda na cicatrização e ganho ósseo reparador.

Ponzoni (2004) avaliou qualitativa e quantitativamente a interface entre osso e os implantes de titânio, jateados por Al_2O_3 instalados imediatamente após exodontias em cães. Os implantes foram instalados nos alvéolos de pré-molares mandibulares bilateralmente em quatro cães, sendo quatro implantes para cada animal (4 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento, Sistema Colosso Emfils®), dois de cada lado da mandíbula. Os animais foram sacrificados aos 120 dias pós-operatórios. As peças foram desmineralizadas e os implantes removidos. Três implantes foram perdidos, três fibrointegrados e dez osseointegrados. A análise

quantitativa foi realizada considerando-se cinco roscas apicais e o fundo do implante. A análise histológica mostrou tecido ósseo saudável em fase de maturação em íntimo contato com os implantes osseointegrados. Na análise histométrica, observou-se um contato ósseo de 76% nos implantes osseointegrados.

Bagno & Bello (2004) revisaram os tratamentos mais comuns dos implantes de titânio e suas ligas. Além disso, investigaram também a rugosidade produzida pelas diferentes técnicas. Os autores verificaram que há diversos tipos de tratamentos: a) tratamento físico: rosqueado, liso e jateamento; b) tratamento químico: ataque ácido, ataque alcalino, método eletroquímico, métodos de deposição e outros; c) tratamentos bioquímicos. Concluíram que a rugosidade da superfície e a composição química da camada mais externa do implante, que foram determinadas pelo tipo de tratamento realizado, têm um papel fundamental na resposta celular. Além disso, o desenvolvimento de materiais biomiméticos capazes de direcionar a formação dos tecidos circunjacentes ao implante representam uma área de pesquisa promissora na implantodontia.

Feres Júnior et al. (2004) verificaram a viabilidade da utilização de plasma rico em plaquetas na fixação de implantes (PRP) e concluíram que o PRP empregado no protocolo de fixação de implantes conduz a menor perda de implantes ósseo-integrados, aumentando o índice percentual de sucesso de maneira geral. A influência do PRP no índice de sucesso de implantes ósseo-integrados é significativamente mais marcante na maxila que na mandíbula; o PRP representa material promissor nos processos de reconstrução óssea de modo geral, sendo recomendável o seu emprego em situações definidas de colocação de implantes.

Masaki et al. (2005) avaliaram a promoção dos fatores osteogênicos da aderência dos osteoblastos e sua diferenciação nas superfícies dos implantes.

Discos de titânio puro foram jateados (TiOBlast™) e condicionados com ácido fluorídrico, processada sob atmosfera de nitrogênio e armazenados em NaCl isotônico (SLActive). As propriedades da superfície do implante tratadas contribuíram para regular a diferenciação dos osteoblastos influenciando o nível do osso e a dos fatores de transcrição no mesênquima com células pré-osteoblásticas.

Vasconcellos (2005) avaliou e comparou a reparação óssea ao redor de implantes cilíndricos densos e porosos, ambos de titânio puro grau 2, confeccionados via metalurgia do pó, por meio de análise histológica, histomorfométrica e teste mecânico de cisalhamento. Previamente à cirurgia, todos os implantes foram caracterizados por meio de análise metalográfica e os implantes densos foram submetidos também a um rugosímetro. Em seguida, os implantes foram inseridos em tíbias de coelhos. Concluiu-se, portanto, que a técnica de metalurgia do pó é eficiente para produzir implantes densos e porosos e que os porosos apresentam maior contato na área de interface osso-implante e maior adesão ao osso, melhorando a osseointegração deste implante ao tecido ósseo.

Khadra (2005) investigaram *in vitro* o efeito do laser de baixa intensidade na proliferação, diferenciação e produção de fatores de crescimento dos osteoblastos humanos. As células eram provenientes de osso mandibular humano e o laser aplicado foi o laser diodo GaAlAs de 1.5 ou 3J/cm². Nenhuma cultura celular irradiada serviu como controle. Após uma, duas e 24 horas as células foram coradas e contadas no microscópio. Com a finalidade de investigar o efeito desse laser na célula após 48, 72 e 96 horas, células foram cultivadas em titânio por 24 horas e depois expostas a radiação de laser por três dias consecutivos. Os resultados mostraram que a resposta ao laser de baixa intensidade, houve aumento da proliferação, diferenciação e produção de TGF-beta (1), indicando que *in vitro* o laser

pode modular a atividades das células e tecidos em torno do implante.

Rossi (2006) analisou a interface osso-implante em tíbias de nove coelhos, adultos, fêmeas, da raça *New Zealand*, nas quais foram inseridas mini-implantes de titânio em alvéolos artificiais perfurados com a técnica convencional utilizando fresas cirúrgicas ou o laser de Er,Cr:YSGG (*Erbium, Chromium/Yttrium, Scandium, Gallium e Gamet*). Para a inserção dos implantes, os animais foram operados nas instalações do laboratório de Biofotônica do Centro de Lasers e Aplicações do IPEN (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares) e armazenados no biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Em seguida foram divididos em três grupos de três animais cada, de acordo com as datas de sacrifício, dia 0, 15 e 30, para a obtenção das amostras ósseas. A análise em MEV foi obtida, após preparo de três amostras com ouro-paladium e para a análise histológica, seis amostras foram coradas com hematoxilina e eosina (HE). O resultado destas análises demonstrou que a reparação óssea na interface osso-implante foi semelhante em ambos os grupos, com um discreto sinal de necrose no grupo operado com fresa.

Tortamano Neto (2006) relatou que nas décadas de oitenta e noventa havia contrastes de opiniões entre os implantes de superfícies lisas ou usinadas de superfícies tratadas. Atualmente não se discute mais se as superfícies tratadas apresentam a superioridade sobre a lisa, mas sim qual é o melhor tratamento em que as texturas superficiais dos implantes devem ser submetidas.

Romanos et al. (2006) realizaram um estudo para verificar a união de osteoblastos com superfícies de disco titânio irradiados com laser dióxido de carbono ou o laser Er,Cr:YSGG. Teve também um grupo controle o qual não houve irradiação. Os resultados mostraram que os osteoblastos podem crescer em todas

as superfícies. Essas informações mostraram que o laser irradiado na superfície de titânio pode promover a união de osteoblastos além de formação óssea.

Le Guehenec et al. (2007) salientaram que o papel preciso da química de superfície e da topografia no processo de osseointegração dos implantes dentários permanece mal compreendido. Referiram que raramente são executados estudos clínicos comparativos com superfícies de implante diferentes. Dessa forma, alertam que o futuro da Implantodontia deverá apontar para o desenvolvimento controlado de superfícies visando unificar tanto a topografia como a química utilizada. Esta aproximação será o único modo para entender as interações entre as proteínas, células, tecidos e as superfícies de implante.

Sisti et al. (2006) estudaram a superfície de implantes osseointegráveis utilizando discos de titânio irradiados com feixe de laser. A amostra foi irradiada com feixes de laser de alta intensidade (Nd-YAG), posteriormente depositado HA e submetido a tratamento térmico. Foi analisada sob MEV e realizada análise morfológica qualitativa com microfotografias em vários aumentos. A superfície irradiada com laser apresentou deformidade superficial e característica isomórfica; a aplicação de HA pelo método de biomimético aumentou quantitativamente a área da superfície de titânio. A deposição de HA apresentou melhor característica isomórfica e aumento quantitativo da área superficial estudada, a amostra demonstrou características não encontradas nos implantes disposto no mercado.

Kesler et al. (2006) compararam a osseointegração de implantes em ratos com preparo do local utilizando laser Er:YAG comparando com locais em que foram preparados de modo convencional com o uso de broca. Os autores concluíram que o laser YAG pode ser usado clinicamente para preparo do local com resultados de osseointegração e cicatrização óssea com alta porcentagem de contato do implante

comparado com os métodos convencionais.

Morra (2006) reafirmou a opção pelo titânio como material de escolha para os implantes devido a sua capacidade de suportar carga e devido as suas interações à interface osso-implante, considerada esta última, palavra chave para o processo de osseointegração.

Heinrich et al. (2008) utilizaram o laser para verificar se havia modificações dos implantes de titânio a fim de promover adesão da mucosa o qual é indispensável como barreira biológica contra infecção bacteriana. Através do *excimer laser* é possível induzir a uma estrutura na área polida da superfície do implante, o qual foi analisada pelo microscópio eletrônico. Além disso, a união de fibroblastos às estruturas criadas foi investigada e as células formadas nas pontes levaram a um completo vedamento das erosões. Deste modo, foi criada uma barreira biológica eficaz contra bactérias.

Jakse et al. (2007) realizaram um estudo experimental para avaliar se o tratamento com laser de baixa intensidade (75 mW, 680 nm) melhora a regeneração óssea e a osseointegração de implantes dentários. Uma das conclusões dos autores foi que o laser de baixa intensidade em implantes dentário em levantamento de seio tem um efeito positivo na osseointegração.

Sollazzo et al. (2008) demonstraram através de um estudo *in vivo* em tibia de ratos como o zircônio para cobrir superfícies de implantes é capaz de aumentar a sua osseointegração. Segundo os autores, esse material tem boas propriedades mecânicas e químicas. Quando exposto ao oxigênio, o zircônio se torna óxido de zinco que é um material biocompatível, tendo efeitos biológicos específicos. Os autores demonstraram através do exame histológico que o aumento ósseo é mais evidente em torno dos implantes que receberam cobertura com óxido de zircônio

que os implantes do grupo controle. Um osso maduro está presente na peri-implatite de implantes com essa cobertura que em superfícies do grupo controle.

Shibli et al. (2007) avaliaram a influência da superfície oxidada de microimplantes de titânio implante no na osseointegração. Os autores concluíram que a superfície oxidada apresentou um maior contato entre implante e osso comparado com implantes com superfícies não tratadas.

Maluf et al. (2007) demonstraram o aumento da camada de óxido de titânio na superfície dos implantes com tratamento à laser em relação aos apenas usinados. Foram selecionados 50 implantes e irradiados com o laser Nd:YAG apenas na região das roscas dos implantes. A análise da MEV mostrou um aumento quantitativo na ordem de 157% de oxigênio da área tratada em relação à superfície lisa. Os autores concluíram que o tratamento de superfície com laser dos implantes osseointegrados é totalmente viável e somente traz benefícios com o aumento na camada de óxido de titânio, além de proporcionar superfície mais resistente e homogênea.

3 PROPOSIÇÃO

Esta pesquisa teve o propósito de analisar a adesão e proliferação das células Osteo 1 (Deboni et al., 1996) Do osso parietal de ratos em fixações osseointegráveis de titânio com superfície tratada a laser de alta potência que causa microrugosidades na superfície do implante, através de técnicas de cultura celular e posterior exame ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo teve aprovação do Comitê de ética do Centro de Pesquisa Odontológica do Centro de Estudos São Leopoldo Mandic com o protocolo nº 1138, sendo aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da mesma Universidade de acordo com a resolução 196/1.996 o CNS conforme exposto no Anexo A. O experimento foi realizado na disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e no Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic.

4.1 Cultura celular

As células Osteo 1 (Deboni et al., 1996) foram cultivadas em DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementadas com 10% de soro bovino fetal (Cultilab-Campinas-SP) e 1% de solução antibiótica/antimicótica (figura 1) e durante todo o tempo experimental foram mantidas em incubadora à 37°C, em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂.



Figura 1 - Adicionando o meio de cultura.

4.2 Amostra experimental

Foram utilizados para o experimento: nove implantes *IMPLUS* (*Serson Implant*) com um diâmetro de 3,5 mm e comprimento de 13 mm com tratamento de superfície à laser (figura 2), que foram fixados com fio ortodôntico 0.9 mm em placas de Petri (figura 3).



Figura 2 - Amostra do implante Serson Implus com montador.

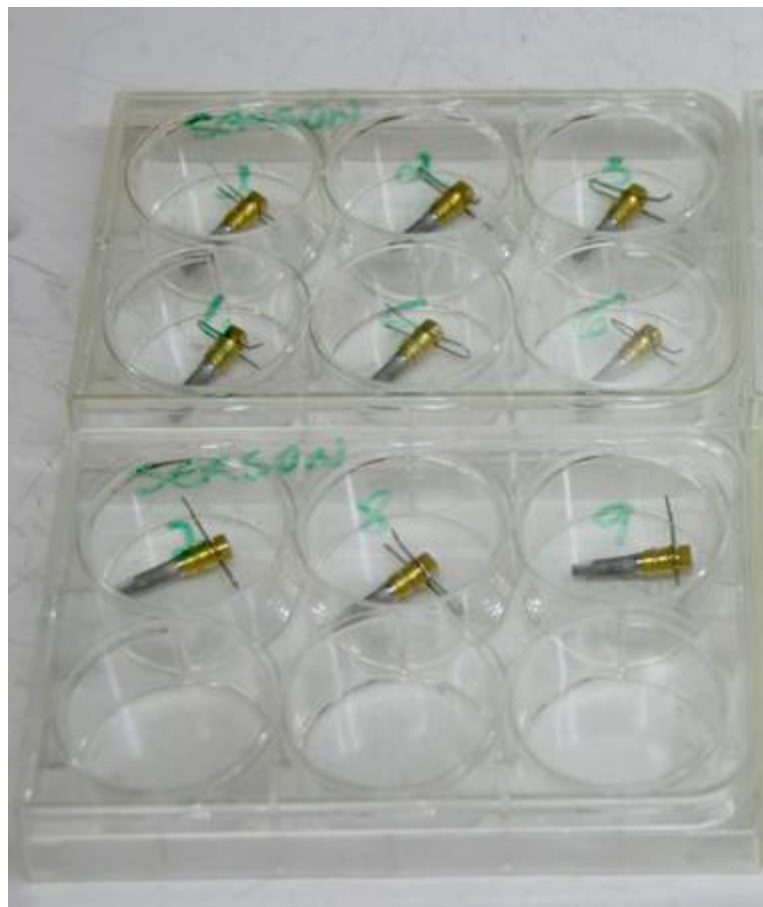


Figura 3 - Amostras de implantes (Serson Implus) fixadas com fio ortodôntico 0.9.

4.2.1 Descrição do produto

Os implantes utilizados nessa pesquisa são de titânio comercialmente puro (TI CP) e apresentam uma superfície tratada a laser Nd:YAG chaveado com potência nominal de 100 *watts* das quais atingiram a peça na ordem de dezena de *watts*, com o objetivo então de ablação controlada da superfície, criando-se um padrão reprodutível, retirando-se material conforme uma programação de vetores.

4.2.2 Tratamento de superfície

A superfície dos implantes descritos era conforme o fabricante, resultante de usinagem em tornos e tratamento de superfície de acordo com o protocolo, ou

seja, apresentava tratamento de superfície a laser de alta intensidade.

4.3 Experimento

4.3.1 Linhagem celular

A linhagem celular que foi utilizada é derivada do tecido ósseo de osso parietal de ratos recém-nascidos (OSTEO 1) (Deboni et al., 1996).

Descongelamento e Subcultura Descongelamento:

As células encontravam-se estocadas em nitrogênio líquido em tubos de congelação, protegidas por di-metil-sulfóxido (DMSO-Sigma Chemical, C.O., St. Louis, MO, USA) e foram descongeladas em banho Maria (figura 4) a 37° por minuto. As células em suspensão foram transferidas para placas de *Petri* de 75 cm² contendo 15 ml de meio de cultivo fresco e foram mantidas em estufa à temperatura de 37°C, em atmosfera úmida contendo 5% de CÜ2. Após as células aderirem, o meio de cultura foi trocado, isto ocorrendo sempre dentro de um período de até 24 horas.



Figura 4 - Implantes levados em Banho-Maria.

Subcultura:

Quando em subconfluência as células foram subcultivadas de acordo com a necessidade de novas placas. O meio de cultura foi removido, as placas lavadas com 1 ml de solução de tripsina (Sigma) a 0,25% com EDTA 1 nM (Sigma) durante alguns minutos (figura 5).

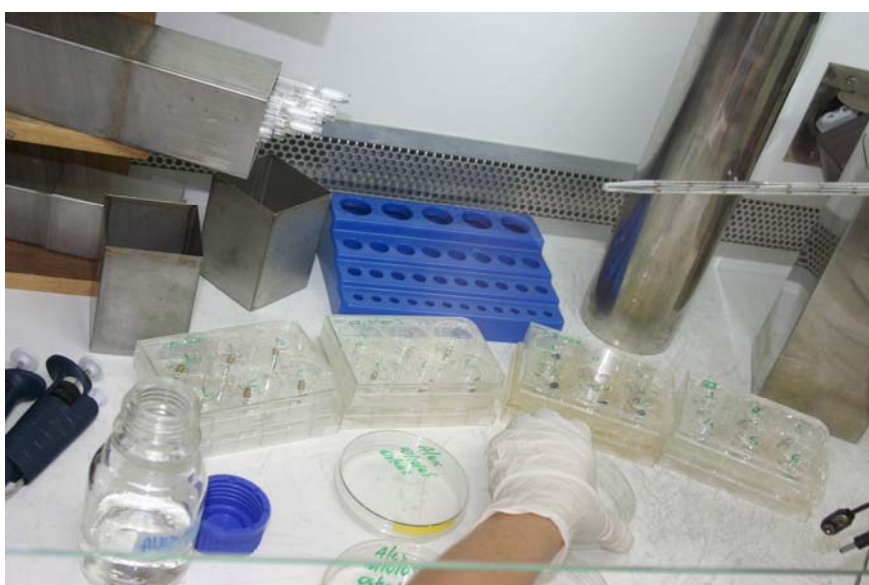


Figura 5 - Lavagem de células com uso de *Sigma* (Tripsina a 0,25% com EDTA 1 Nm) para obtenção do sobrenadante.

Após a aspiração do excesso, o precipitado de células foi dissolvido em meio de cultura fresco e alíquotas foram distribuídas em novas placas.

Cada procedimento de subcultura dará origem a uma nova passagem e durante todo o experimento as amostras representativas foram novamente congeladas em nitrogênio líquido.

Preparo das amostras:

Após o cultivo das células, foi preparada suspensão celular de 1000

células por 100 ml de meio DMEM. Esta suspensão foi plaqueada (figura 6), sobre as superfícies dos discos dos implantes e estes foram mantidos dentro dos recipientes tipo *six well plates*.

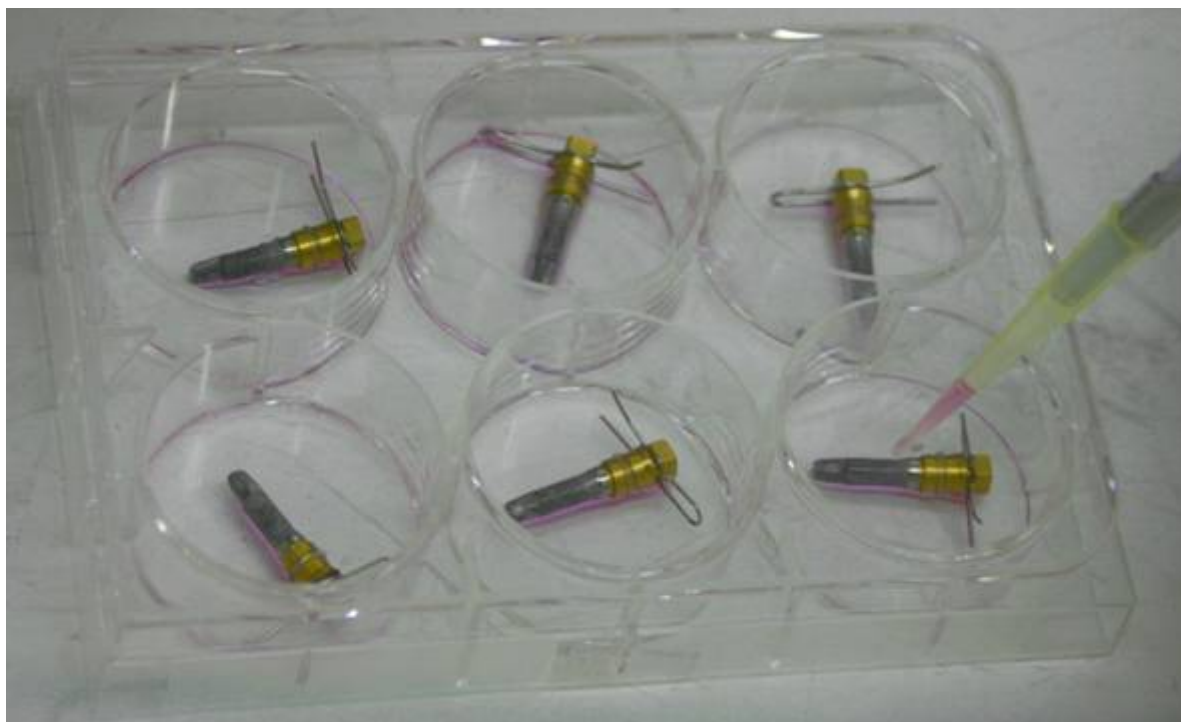


Figura 6 - Amostras de implantes em suspensão plaqueada.

Foram definidos os tempos experimentais de 24, 72 e/ou 120 horas, 100 ml de meio contendo cerca de 1000 células foram plaqueadas nos cilindros de implantes. Estes foram colocados em estufa à 37°C com 5% de CO₂ por 40 minutos para proporcionar maior afinidade celular. Após este período, 3 ml de meio de cultura foi acrescentado em cada cilindro de implante.

As placas foram mantidas em estufa a 37°C com 5% de CO₂ (figura 7). Pelo tempo determinado para cada grupo (24, 72 ou 120 horas).



Figura 7 - Estufa de cultura celular.

4.4 Análise da morfologia e proliferação celulares

Os tempos experimentais previamente explicitados foram de 24, 72 e 120 horas. Após estes períodos pré-determinados, os três cilindros foram finalizados em glutaraldeído a 1% e sacarose a 2% por oito horas, sendo em seguida efetuadas três lavagens. Após esta etapa, as amostras foram desidratadas em etanol 100% e submetidas à secagem química com hexamethyldisilazane (HMDS).

Efetuada a secagem, a amostra foi colocada em câmara de vácuo com pressão de $5 \times 1/1000$ Pa, para o recobrimento com camada de ouro (20 nm). Esta

camada de ouro foi obtida pelo bombardeamento de íons de Argônio no eletrodo de ouro (técnica de *Sputtering*).

A análise dos resultados foi feita por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em microscópio JEOL (figura 8).



Figura 8 - Microscópio eletrônico de varredura (MEV).

5 RESULTADOS

Para análise estatística três imagens diferentes de cada amostra foram efetuadas aleatoriamente com as mesmas diferentes magnificações e com a mesma distância de trabalho (32 e 20 mm).

Na análise dos resultados, pode-se observar que ocorreu adesão celular em 24, 72 e 120 horas, portanto afinidade celular com o tratamento de superfície do implante estudado. A seguir serão demonstrados alguns dos resultados obtidos durante o experimento através das imagens obtidas:

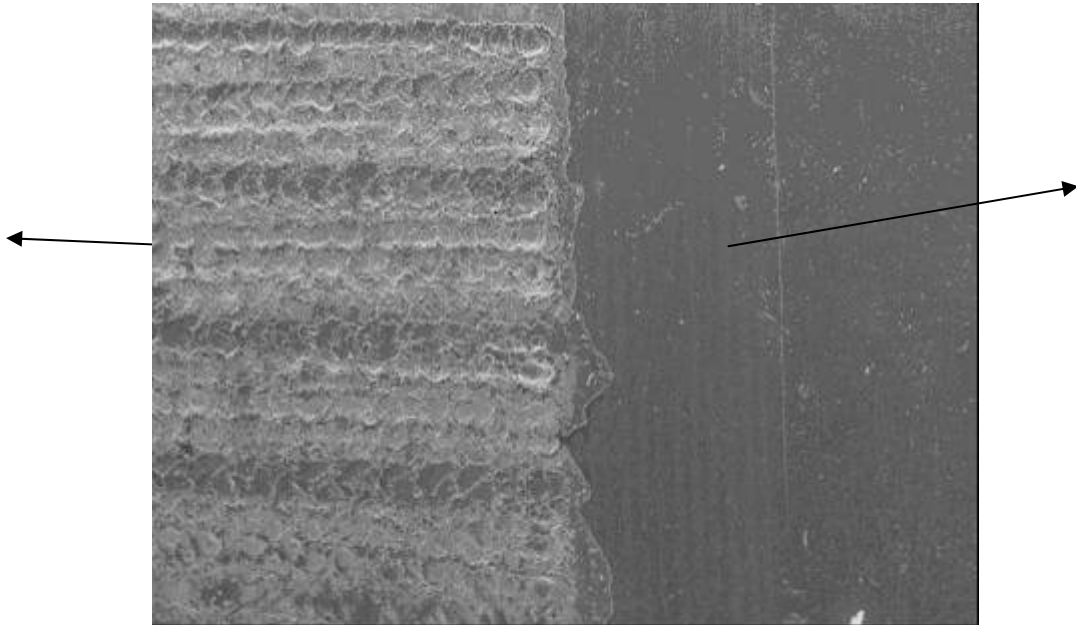


Figura 9 - Linha de separação entre a parte polida do implante e a superfície tratada a laser com 80x.

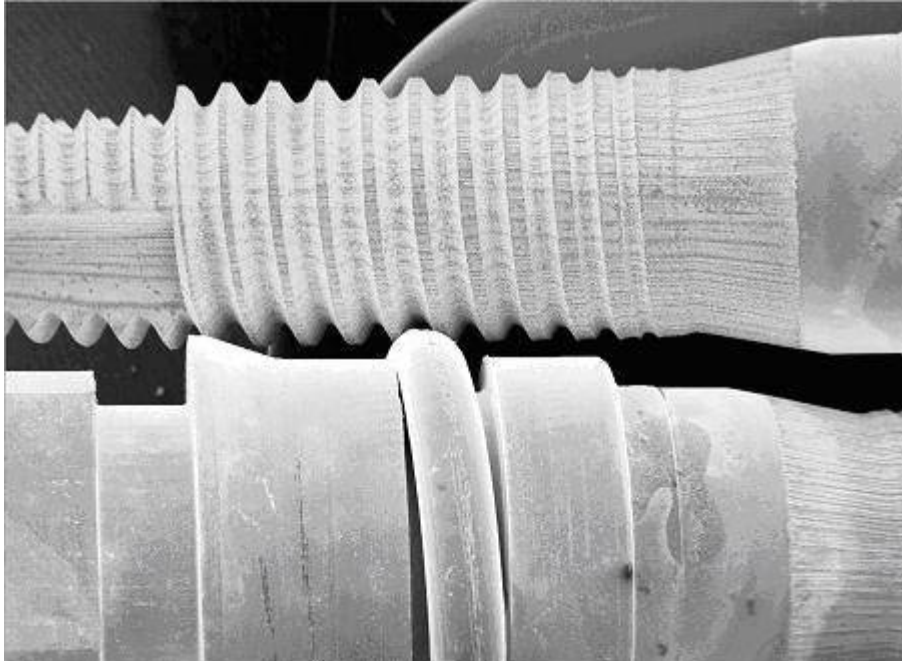


Figura 10 - Tratamento de superfície e montador de implante com um aumento de 30x após 24 horas.

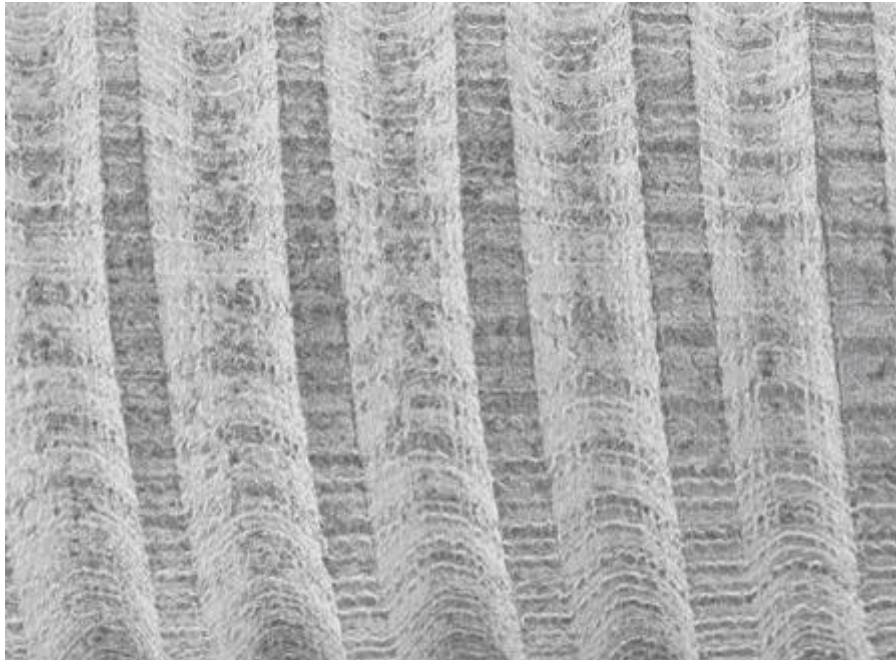


Figura 11 - Visão da superfície do implante com um aumento de 100x no intervalo de 24 horas.

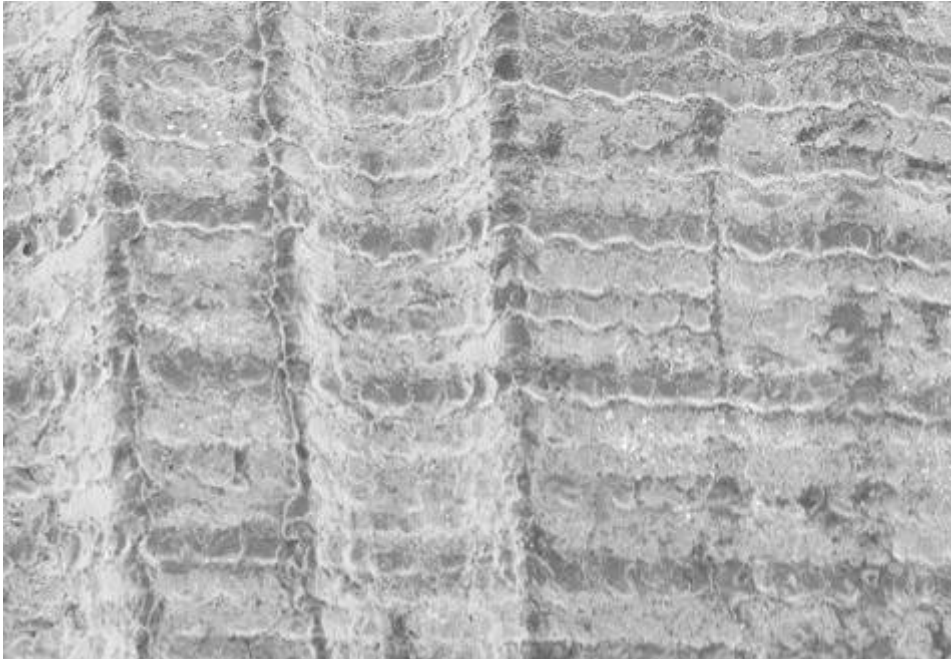


Figura 12 - Detalhes da superfície em um aumento de 250x em um intervalo de 24 horas.

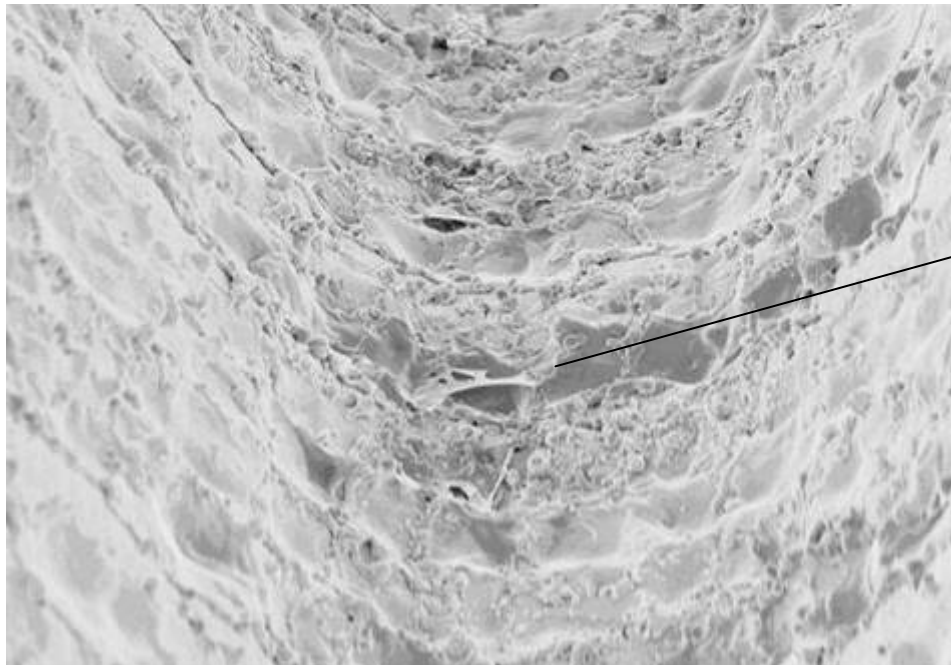


Figura 13 - Presença de células no aumento de 850x no intervalo de tempo de 24 horas.

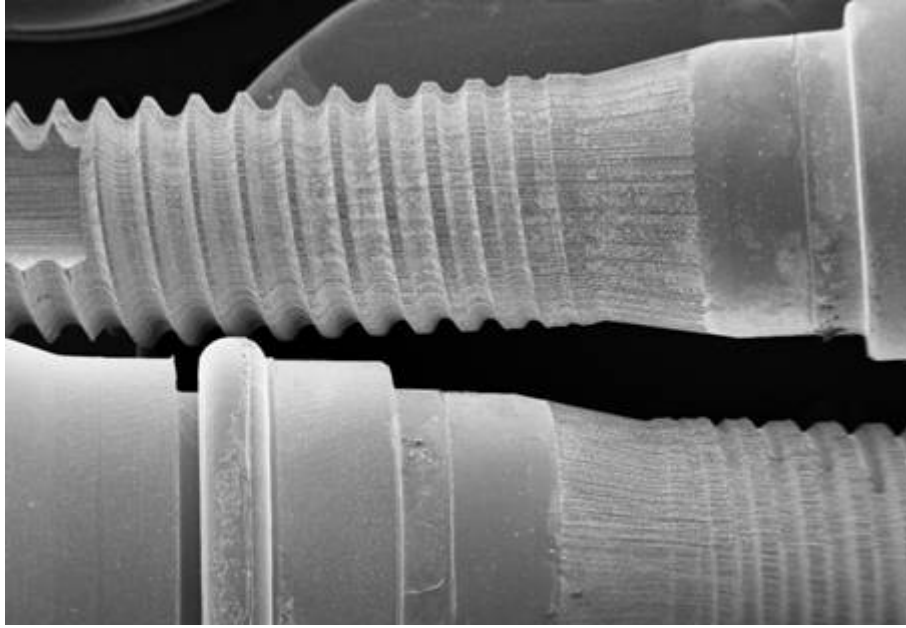


Figura 14 - Tratamento de superfície e montador de implante com um aumento de 30x após 72 horas.

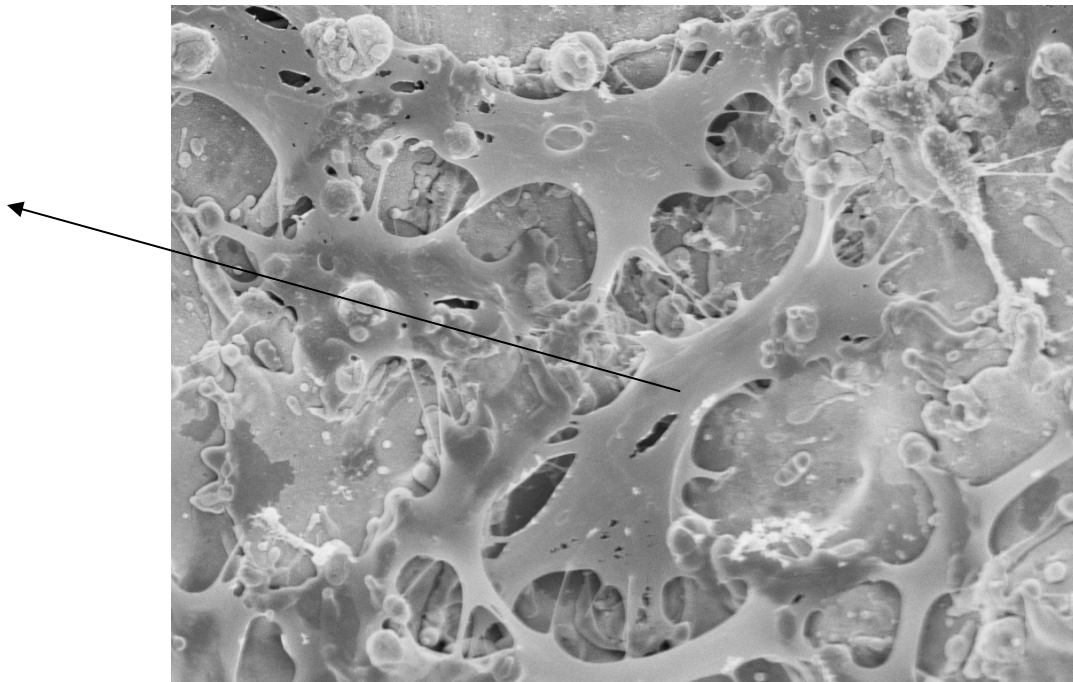


Figura 15 - Células em detalhe com um aumento de 2500 com 72 horas.

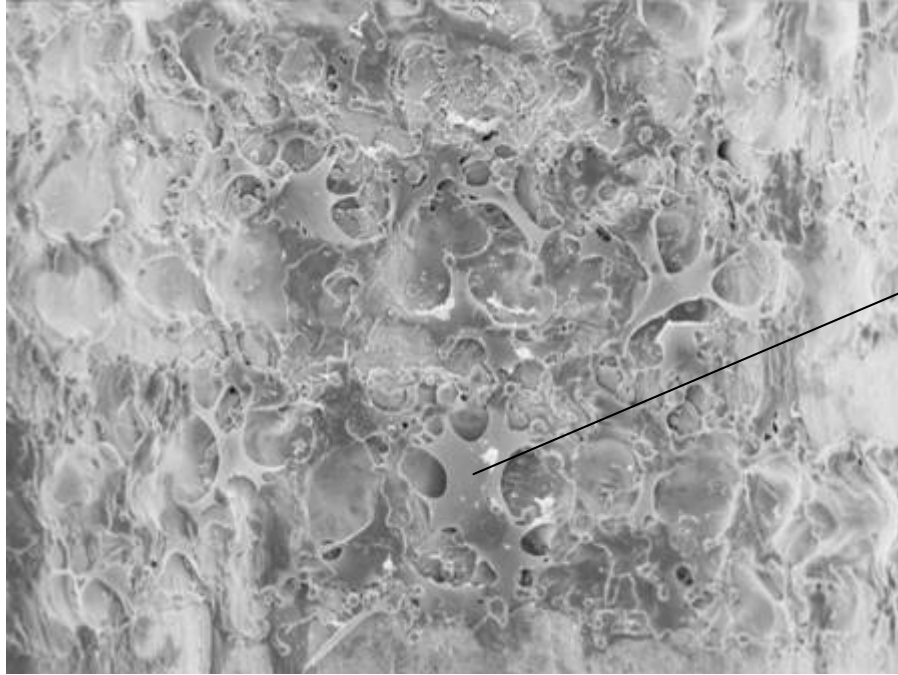


Figura 16 - Afinidade maior pela superfície tratada a laser do que uma região sem tratamento em um aumento de 850x em um intervalo de tempo de 72 horas.

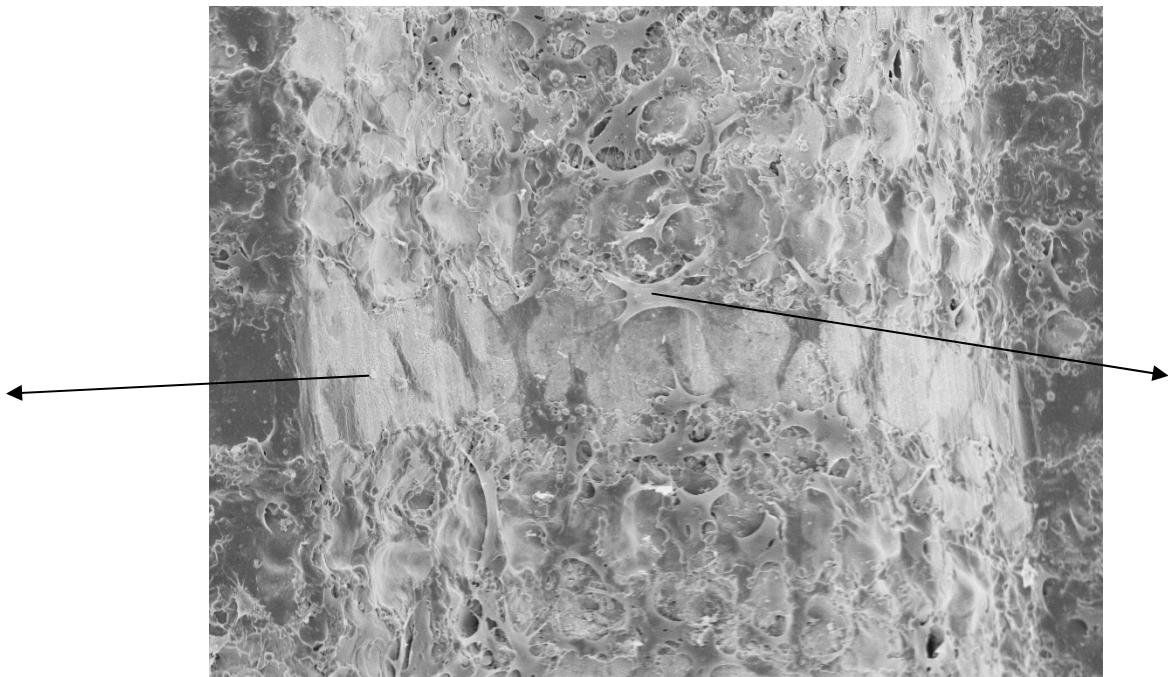


Figura 17 - Crescimento celular mais acentuado na superfície tratada a laser do que uma região sem tratamento em um aumento de 600x em um intervalo de tempo de 72 horas.

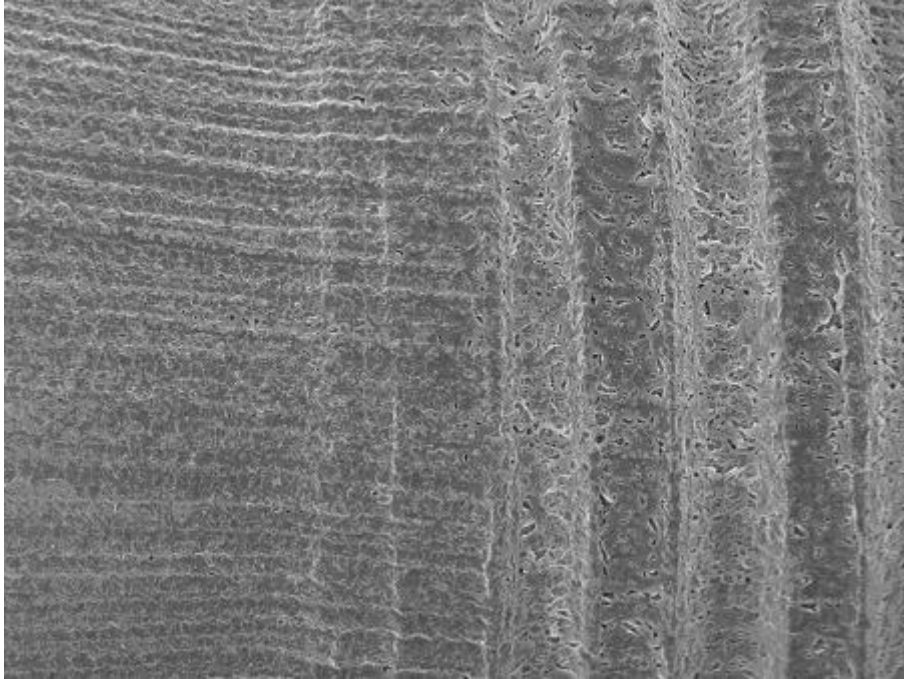


Figura 18 - Presença de células nas espiras do implante com um aumento de 25x no intervalo de 120 horas.

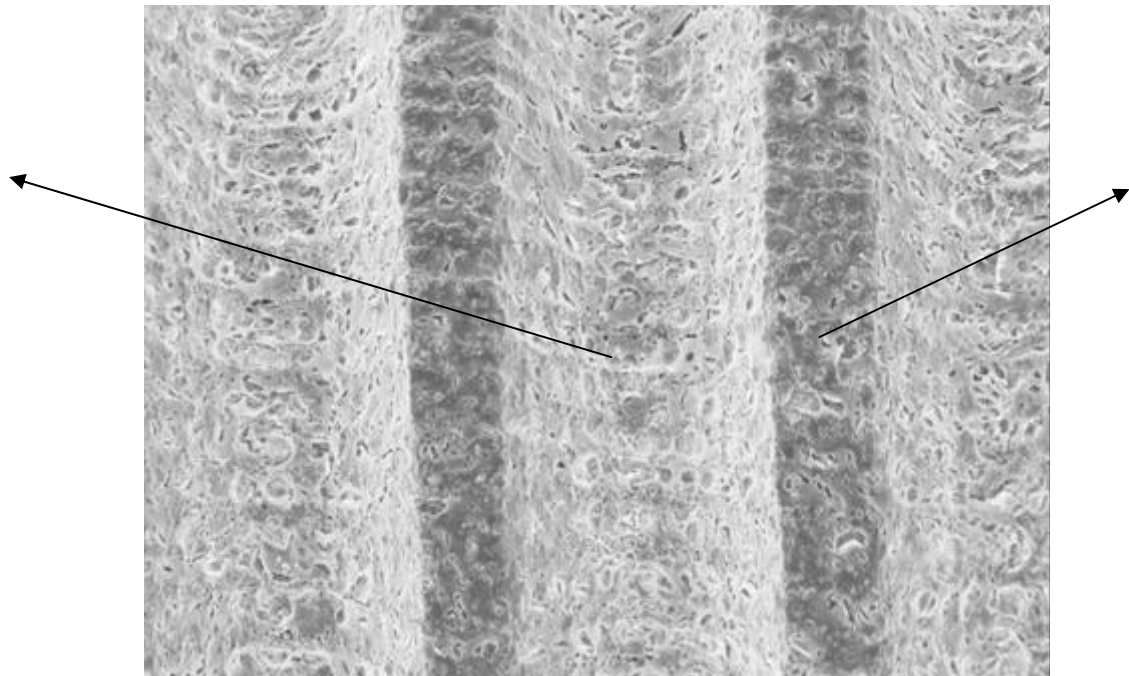


Figura 20 - Monocamada de células com um aumento de 450x no intervalo de 120 horas.

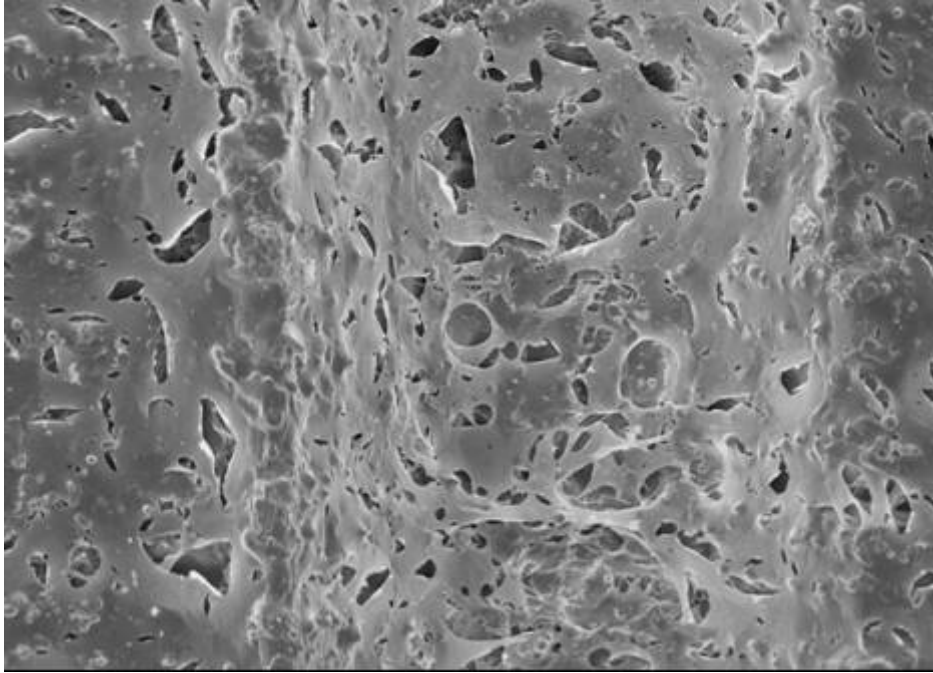


Figura 21 - Presença de células em um aumento de 600x em 120 horas.

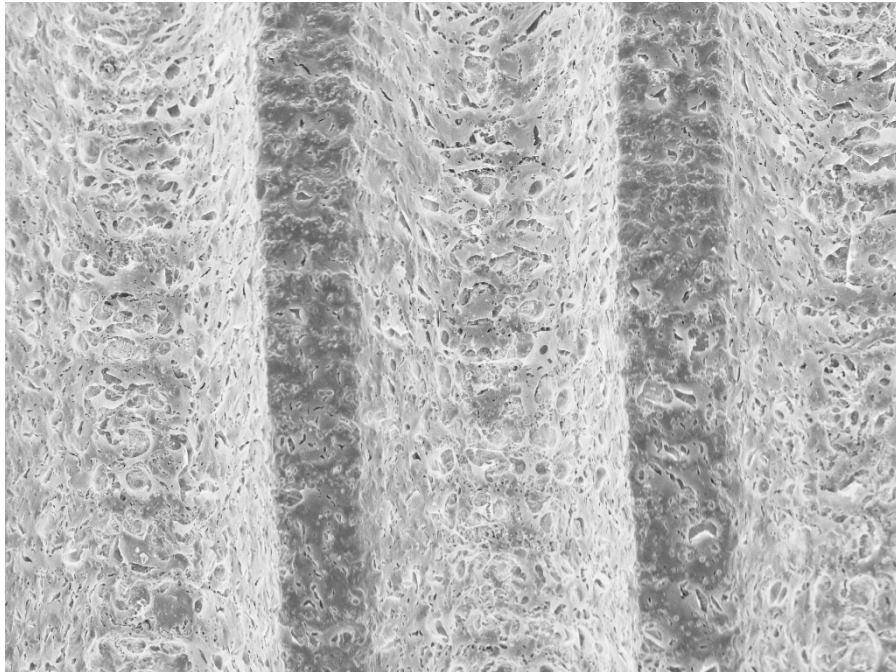


Figura 22 - Monocamada de células no implante com um aumento de 2200x após 120 horas.

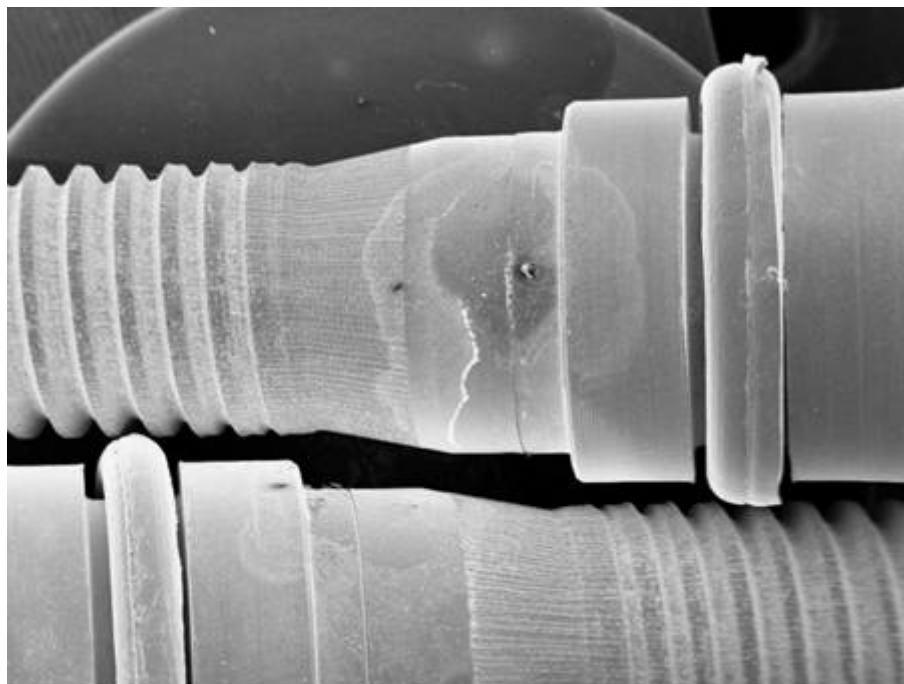


Figura 23 - Tratamento de superfície e montador de implante com um aumento de 30x após 120 horas.

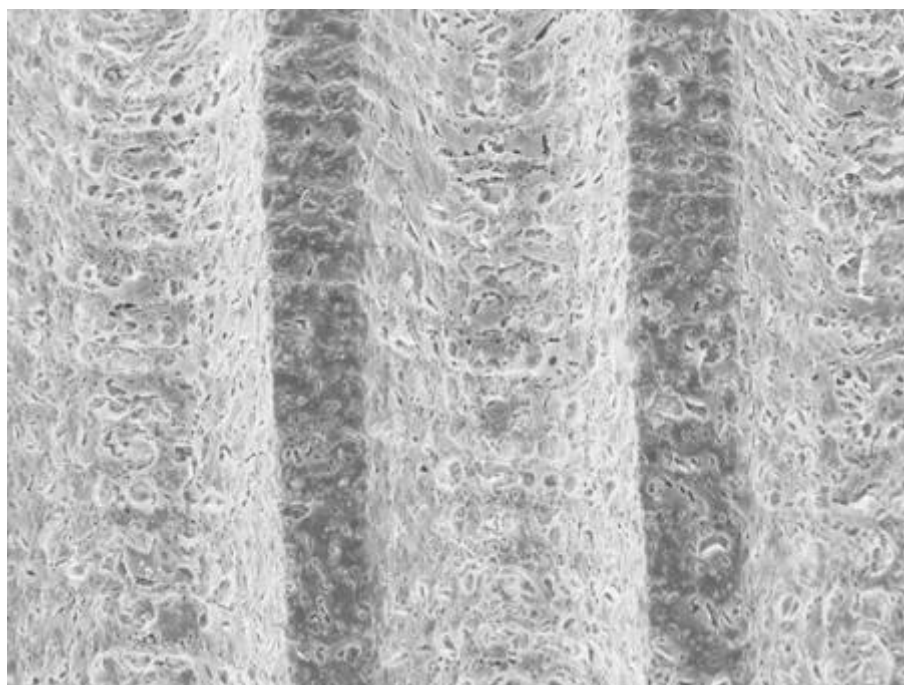


Figura 24 - Avaliação do crescimento celular em 120 horas - aumento de 2200X.

6 DISCUSSÃO

Há uma multiplicidade de variáveis dos implantes dentários disponíveis no mercado. Suas dimensões e formas variam muito, o que representa uma ampla possibilidade de selecionar o mais adequado para cada caso (Pilliar, 1987). Devido a sua excelente biocompatibilidade, baixa condutividade térmica e alta resistência, o titânio passou a ser empregado na Odontologia na forma de implantes, possuindo a capacidade de osseointegração viabilizando assim, a substituição de elementos dentários perdidos (Lautenschlager, Monaghan, 1993; Steinemann, 1998; Lavos-Valereto et al., 2002) , sendo superior, por exemplo, aos implantes de cerâmica alumizados (Karagianes et al., 1976) e considerado o melhor biomaterial para a confecção de implantes cirúrgicos (Steinemann, 1998; Morra, 2006) . É importante, segundo inúmeros autores, levar em consideração a usinagem do implante, o tipo de osso receptor, metal usado na fabricação, desenho do implante, acabamento superficial assim como o planejamento protético sobre esses (Albrektsson, Sennerby, 1990; Schenk, Buser, 1998; Sykaras et al., 2000). Um dos fatores importantes no sucesso dos implantes é a osseointegração, já definida anteriormente, como sendo a união estrutural e funcional entre o osso vivo e organizado e a superfície de um implante submetido ao carregamento protético (Listgarten et al., 1991).

A maioria desses estudos são realizados com implantes de titânio assim como o nosso experimento. Quanto às cobaias utilizadas, Branemark (1983) referiu que o parietal de coelho é um modelo animal adequado para a observação do processo de osseointegração, como realizado na maioria dos estudos encontrados na literatura (Blay, 2001; Hallgren et al., 2001; Kanagaraja et al., 2001; Sanz et al.,

2001; Petö, 2002; Castilho Filho, 2003; Cho, 2003; Luklinska, Schluckwerder, 2003; Vasconcellos, 2005; Rossi, 2006) . No entanto, inúmeros estudos a respeito de osseointegração são também realizados em ossos de ratos (Bowers et al., 1992; Yaakobi et al., 1996; Ozawa et al., 1998; Kanagaraja et al., 2001; Lavos-Valereto et al., 2002; Lee, 2002; Pinheiro et al., 2003; Rochkind et al., 2004; Kesler et al., 2006; Sollazzo et al., 2008) . Outros animais também são utilizados para essa finalidade como macacos (Schroeder et al., 1981; Cobb et al., 1990) , cães (Maniatopoulos, Tsatsas, 1986; Block et al., 1987; Pilliar et al., 1991; Ericsson et al., 1994; Nishiguchi et al., 2001; Kusakabe et al., 2004; Ponzoni, 2004; Veis et al., 2004) , porcos (Karagianes et al., 1976; Buser et al., 1991; Zechner et al., 2003) ou até mesmo cabritos (Fini et al., 2003) . Em nosso estudo, foi utilizado osso do Parietal de ratos pela facilidade de obtenção dessas cobaias e dificuldade em conseguir células humanas para realização de tal experimento.

Os implantes inicialmente apresentavam formatos cilíndricos com geometria de roscas e superfície lisa (Jaffin, 1991). Contudo, este padrão vem sendo alterado a fim de se obter um formato mais eficaz para a osseointegração. O processo de osseointegração se inicia por células precursoras de osteoblastos que migram e se aderem ao implante e essas células são influenciadas pelo diâmetro dos poros (Frosch, 2002). Logo a osseointegração pode ser melhorada através do tratamento de superfície desses implantes e uma das primeiras modificações realizadas foi a produção de rugosidades na superfície lisa, resultando em maior área de contato na interface osso-implante (Deligianni et al., 2001; Vasconcellos, 2005) . A grande maioria dos autores afirmaram que a modificação na superfície do implante tem como objetivo aumentar essa rugosidade, pois ela juntamente com as características físico-químicas e as propriedades do material influenciam a retenção

mecânica inicial desses, aumentando a área de contato com o leito ósseo receptor favorecendo a osseointegração (Maniatopoulos, Tsatsas, 1986; Brunette, 1988; Galante et al., 1991; Bowers et al., 1992; Davis, 1998; Ellingsen, 1998; Schenk, Buser, 1998; Li et al., 1999; Trisi et al., 1999; Davies, 2000; Orsini et al., 2000; Amarante, 2001; Groessner-Schreiber et al., 2003; Joly et al., 2003; Bachle, Kohal, 2004; Bagnò, Di Bello, 2004; Kim et al., 2004; Kusakabe et al., 2004) , além de propiciar maior retenção mecânica, maior molhabilidade, retendo assim melhor o coágulo, estímulo no processo de reparo e alterações das propriedades fisicoquímicas de superfície (Galante et al., 1991). Além disso, osteoblastos e condrócitos são sensíveis a sutis diferenças na rugosidade e na química da superfície (Boyan et al., 1996) . Os mecanismos pelos quais as células osteoblásticas possam distinguir uma superfície ou outra inclui fenômenos de adesão celular, indicando que receptores de integração são usados para adesão de célula para proteínas de superfícies absorvidas de titânio (Schneider, Burrige, 1994). Já os implantes lisos, apesar de apresentarem um bom travamento inicial, desenvolvem uma cápsula de tecido fibroso que aumenta gradualmente com o passar do tempo (Maniatopoulos, Tsatsas, 1986), impedido sua completa estabilidade. Foi exposto que existem quatro princípios de comportamento celular que explicam as afinidades das células com os implantes. Um deles, o guia de contato, alinha as células e as fibras colágenas com os sulcos finos na superfície dos implantes lisos. Outro que é a rugofilia, mostra a preferência dos macrófagos com as superfícies rugosas. Há também a teoria dos dois centros, que pode explicar a orientação das células do tecido conjuntivo e as fibras aderidas às superfícies porosas. Um quarto principio é denominado de *haptotaxis*, fenômeno que ocorre quando as células se deparam com um material com diferente propriedade adesiva,

podendo assim estar diretamente relacionado com a formação de cápsulas ao redor dos implante com baixa de superfície (Brunette, 1988). Apesar de todos esses estudos, alguns autores concluíram que não há influência da textura da superfície do implante para o processo de osseointegração (Hallgren et al., 2001; Kanagaraja et al., 2001) . Entretanto hoje não se discute mais se as superfícies tratadas apresentam a superioridade sobre a lisa, mas sim qual é o melhor tratamento em que as texturas superficiais dos implantes devem ser submetidas (Tortamano Neto, 2006), embora o papel preciso da química de superfície e da topografia no processo de osseointegração dos implantes dentários ainda permanece mal compreendido e raramente são executados estudos clínicos comparativos com superfícies de implante diferentes (Le Guehenec et al., 2007) .

Atualmente diversos tratamentos físicos e químicos da superfície do titânio estão sendo então propostos visando obter maior biocompatibilidade da mesma, tornando-se mais benéfica aumentando assim a osseointegração. Quanto ao tipo de superfície, os implantes são divididos didaticamente naqueles que possuem superfície lisa e os que possuem superfície texturizada e esses últimos processos podem ser alcançados por subtração, adição ou remodelamento. As superfícies texturizadas por subtração são aquelas que sofrem jateamento ou ataque ácido ou ainda ataque eletroquímico. Já as texturizadas por adição são aquelas submetidas a tratamento com plasma ou aposição de HA. E por último, há a remodelação dessas superfícies através do uso de laser, anodização ou corrosão eletrolítica.

No que se diz respeito a texturização por subtração, tem-se o jateamento da superfície com oxido de titânio (Hall, Lausmaa, 2000), sílica (Buser et al., 1998) , jato de areia (Simpson, 1998; Romanos et al., 2000; Amarante, 2001; Lee, 2002;

Morra et al., 2003) , partículas de óxido de alumínio (Al_2O_3). (Bowers et al., 1992; Carvalho, 2001; Li et al., 2001; Aparicio et al., 2002; Xavier, 2003; Ponzoni, 2004) e carbeto de silício (Aparicio et al., 2002) ou ainda superfícies tratadas com zinco, que se torna óxido de zinco quando exposto ao oxigênio (Shibli et al., 2007; Sollazzo et al., 2008) . As superfícies também podem receber tratamento químico de subtração com ácido fluorídrico (Masaki et al., 2005) , ácido sulfúrico, ácido clorídrico (Martin et al., 1995; Ong et al., 1996; Simpson, 1998; Carvalho, 2001) , hidrofluorídrico (Martin et al., 1995; Ong et al., 1996; Morra et al., 2003) ou ácido nítrico (Martin et al., 1995; Ong et al., 1996) . A aplicação de ácidos na superfície torneada varia de acordo com o tipo, concentração e temperatura do ácido empregado. No entanto, o ataque ácido pode produzir superfície rugosa não apropriada e afetar a resistência do material à fadiga (Wennerberg, 1995).

Com relação à texturização por adição, tem-se a aplicação de plasma *spray* de titânio (Schroeder et al., 1981; Branemark, 1983; Buser et al., 1991; Martin et al., 1995; Karabuda et al., 1999; Hall, Lausmaa, 2000; Yang et al., 2000; Amarante, 2001; Carvalho, 2001; Amarante, 2001; Carvalho, 2001; Geurs, 2002; Hayakawa et al., 2002; Kim et al., 2004) ou cobertura de superfície por materiais osteocondutores como a hidroxiapatita (HA) (van Rossen et al., 1989; Buser et al., 1991; Pilliar et al., 1991; Golec, Krauser, 1992; Meffert, 1993; Edmonds et al., 1996; Ong et al., 1996; Karabuda et al., 1999; Vidigal et al., 1999; Romanos et al., 2000; Carvalho, 2001; Proussaefs et al., 2001; Geurs, 2002; Lee, 2002; Lavos-Valereto et al., 2002; Kusakabe et al., 2004; Masaki et al., 2005). A hidroxiapatita é um sal de fosfato e cálcio com uma organização cristalina bastante complexa, apresentado textura microgranular e lenta velocidade de reabsorção pelo organismo, demorando de quatro a seis semanas para sua total reabsorção (Cobb et al., 1990) . Devido a

sua solubilidade nos líquidos fisiológicos, a sua reabsorção pelo tecido ósseo é uma certeza e é isso que a enquadra como biomaterial. Talvez seja o recobrimento de superfície de implante mais citado na literatura. Há também como opção de recobrimento de superfície o fosfato do cálcio (Yang, 2002), a fluorhidroxiapatita (Moroni et al., 1999; Fini et al., 2003) ou ainda superfícies de implantes tratados termicamente com calor (Nishiguchi et al., 2001; Feng, 2002) .

Já a remodelação de superfície é obtida na maioria das vezes pela aplicação de laser e quando se fala em utilização de laser para propósitos clínicos, cirúrgicos ou estéticos, geralmente é utilizado lasers de alta potência (el-Montaser et al., 1999; Feng, 2002; Kesler et al., 2006; Rossi, 2006; Sisti et al., 2006; Maluf et al., 2007). No entanto, mais recentemente, foi proposto o tratamento a laser de baixa intensidade (Ozawa et al., 1998; Castilho Filho, 2003; Pinheiro et al., 2003; Ueda, 2003; Rochkind et al., 2004; Khadra, 2005; Rossi, 2006; Jakse et al., 2007) , que por sinal se encontra em crescentes estudos. Há uma unanimidade dos autores na literatura em relatar os benefícios da irradiação por laser na superfície de implantes de titânio no que se diz respeito à indução da proliferação de osteoblastos, necessários a osseointegração, ou seja, processos secundários que possam advir do emprego do laser nos tecidos adjacentes ou subjacentes à aplicação do laser (Feng, 2002). A diferença fundamental entre os dois tipos de utilização do laser, o de alta e o de baixa potência é a diferenciação entre a excitação foto-térmica ou foto-biológica dos tecidos e células. O laser de alta potência permite que o raio seja concentrado com intensidade suficiente para cortar, soldar, evaporar ou fundir os tecidos, de modo imediato, por efeitos puramente térmicos. Os lasers de baixa potência não têm esta possibilidade e seu mecanismo de ação só é possível através de processos foto-biológicos, envolvendo efeitos correlatos à biologia celular e

molecular (Freitas et al., 2001) . O laser de baixa potência apresenta excelentes resultados na terapia da reparação tecidual (Feng, 2002; Rochkind et al., 2004) . A superfície de titânio irradiada com laser pode promover a união de osteoblastos além de formação óssea (Khadra, 2005; Romanos et al., 2006; Jakse et al., 2007; Maluf et al., 2007) . Neste estudo, foram utilizados os implantes IMPLUS (*erson implant*), de titânio, que apresentam uma superfície tratada, resultante de usinagem em tornos e tratamento de superfície de acordo com o protocolo do fabricante, ou seja, laser de alta intensidade. Embora tenha sido mostrado inúmeros benefícios das diversas potências de laser com relação ao aumento da osseointegração, ainda não existe protocolo sobre sua utilização na Implantodontia (Feng, 2002). No que se diz respeito a remodelação tem-se também a oxidação anódica (Larsson, 2000; Lavisse, 2002).

Alguns autores utilizaram em suas pesquisas uma associação de tratamento dessas superfícies como a associação do jateamento de partículas com o ataque ácido que é também capaz de criar rugosidade significativa (Joly et al., 2003; Xavier, 2003) ou jateamento seguido de tratamento termo-químico (Aparicio et al., 2002) ou mesmo associação de ácidos como cloreto de hidrogênio, ácido sulfúrico ou ácido hidrofúrico com ácido nítrico (Ong et al., 1996) ou irradiação com laser com tratamento térmico (Srivastava, 2001) ou laser seguido de cobertura com HA (Sisti et al., 2006).

Na literatura, podemos observar a existência de uma maior adesão celular em implantes de titânio com superfícies rugosas e bons resultados naqueles tratados com laser. No decorrer do experimento, apesar deste não haver comparação entre superfícies rugosas e lisas, ocorreu uma adesão celular de células do tipo Osteo 1 (Deboni et al., 1996) na superfície do implante em 24, 72 e

120 horas como foi mostrado nas figuras em diversos aumentos (figura 2-17), sugerindo-se a existência de sucesso em relação à aspereza de superfície do implante *IMPLUS*® de uma forma precoce, pois já em 24 horas, podê-se observar a presença células.

7 CONCLUSÃO

Com base na metodologia aplicada e nos resultados obtidos através do experimento *in vitro* efetuado no presente estudo, considera-se que:

- a) a liga de titânio possui características biocompatíveis com células ósseas promovendo a adesão no implante com superfície tratada a laser;
- b) o grau de rugosidade da superfície do implante tratada a laser permitiu sucesso na adesão óssea de células osteoblásticas;
- c) o implante com superfície tratada a laser apresentou, devido às suas características, um desempenho favorável *in vitro* no tocante à adesão de células osteoblásticas, coerente com as superfícies estudadas na literatura;
- d) os resultados positivos obtidos neste estudo validam o uso do implante de titânio com superfície tratada a laser e constituem um substrato considerável para o possível desenvolvimento de implantes a ser utilizado na clínica cirúrgica com maior possibilidade de sucesso na osseointegração.

REFERENCIAS¹

Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand*. 1981;52(2):155-70.

Albrektsson T, Sennerby L. Direct bone anchorage of oral implants: clinical and experimental considerations of the concept of osseointegration. *Int J Prosthodont*. 1990;3(1):30-41.

Amarante ELLA. Otimização das superfícies dos implantes: plasma de titânio e jateamento com areia condicionado por ácido - estado atual. *Pesqui Odontol Bras*. 2001;15(2):166-73.

Aparicio C, Gil FJ, Planell JA, Engel E. Human-osteoblast proliferation and differentiation on grit-blasted and bioactive titanium for dental applications. *J Mater Sci Mater Med*. 2002 Dec;13(12):1105-11.

Bachle M, Kohal RJ. A systematic review of the influence of different titanium surfaces on proliferation, differentiation and protein synthesis of osteoblast-like MG63 cells. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15(6):683-92.

Bagno A, Di Bello C. Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials. *J Mater Sci Mater Med*. 2004;15(9):935-49.

Blay A. Efeitos da radiação laser de baixa intensidade no mecanismo de osseointegração de implantes: estudo in vivo. São Paulo: USP; 2001.

Block MS, Kent JN, Kay JF. Evaluation of hydroxylapatite-coated titanium dental implants in dogs. *J Oral Maxillofac Surg*. 1987;45(7):601-7.

Bowers KT, Keller JC, Randolph BA, Wick DG, Michaels CM. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1992 Fall;7(3):302-10.

Boyan BD, Hummert TW, Dean DD, Schwartz Z. Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. *Biomaterials*. 1996 Jan;17(2):137-46.

Branemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*. 1983;50(3):399-410.

Brunette DM. The effects of implant surface topography on the behavior of cells. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1988;3(4):231-46.

Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte LP. Removal torque values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998 Sept-Oct;13(5):611-9.

¹ De acordo com o Manual de Normatização para Dissertações e Teses do Centro de Pós-Graduação CPO São Leopoldo Mandic, baseado no modelo Vancouver de 2007, e abreviaturas dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

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

Carvalho DCL. Ação do ultra-som de baixa intensidade em ossos de ratas osteopênicas [dissertação]. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo; 2001.

Castilho Filho T. Avaliação biomecânica da ação da radiação laser em baixa intensidade no processo de osseointegração de implantes de titânio inseridos em tibias e coelhos. São Paulo: USP; 2003.

Cho SA, Jung SK. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials*. 2003 Nov;24(26):4859-63.

Cobb CM, Eick JD, Barker BF, Mosby EL, Hiatt WR. Restoration of mandibular continuity defects using combinations of hydroxylapatite and autogenous bone: microscopic observations. *J Oral Maxillofac Surg*. 1990 Mar;48(3):268-75.

Cooper LF. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosthet Dent*. 2000;84(5):522-34.

Davies JE. Bone engineering. Toronto: University of Toronto Press; 2000. p. 358-68.

Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont*. 1998 Sept-Oct;11(5):391-401.

Deboni L, Sporleder H, Fernandes S, Keitel E, Bittar A, Garcia V et al. Kidney allograft outcome analyzed by donor-reactive antibodies after transplantation. *Transplant Proc*. 1995 Apr;27(2):1823-4.

Deligianni DD, Katsala ND, Koutsoukos PG, Missirlis YF. Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomaterials*. 2001 Jan;22(1):87-96.

Edmonds RM, Yukna RA, Moses RL. Evaluation of the surface integrity of hydroxyapatite-coated threaded dental implants after insertion. *Implant Dent*. 1996;5(4):273-8.

Ellingsen JE. Surface configurations of dental implants. *Periodontol* 2000. 1998;17:36-46.

el-Montaser M, Devlin H, Dickinson MR, Sloan P, Lloyd RE. Osseointegration of titanium metal implants in erbium-YAG laser-prepared bone. *Implant Dent*. 1999;8(1):79-85.

Ericsson I, Johansson CB, Bystedt H, Norton MR. A histomorphometric evaluation of bone-to-implant contact on machine-prepared and roughened titanium dental implants. A pilot study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1994 Dec;5(4):202-6.

Feng GBEA. Characterization of surface oxide films on titanium and bioactivity. *J Mater Sci Mater Med*. 2002;13:457-64.

Feres Junior F, Passanezi E, Gregghi SLA, Passanezi A. Comparativa do índice de sucesso dos implantes osteointegrados com e sem a utilização de PRP, no protocolo de fixação. *Semina*. 2004;25(9):228.

Fini M, Savarino L, Nicoli Aldini N, Martini L, Giavaresi G, Rizzi G et al. Biomechanical and histomorphometric investigations on two morphologically differing titanium surfaces with and without fluorohydroxyapatite coating: an experimental study in sheep tibiae. *Biomaterials*. 2003 Aug;24(19):3183-92.

Freitas AC, Pinheiro AL, Miranda P, Thiers FA, Vieira AL. Assessment of anti-inflammatory effect of 830nm laser light using C-reactive protein levels. *Braz Dent J*. 2001;12(3):187-90

Frosch KHEA. Migration, matrix production and lamellar bone formation of human osteoblast-like cells in porous titanium implants. *Cells Tissues Organs*. 2002;170(4):214-27.

Galante JO, Lemons J, Spector M, Wilson Junior PD, Wright TM. The biologic effects of implant materials. *J Orthop Res*. 1991 Sept;9(5):760-75.

Geurs NC, Jeffcoat RL, McGlumphy EA, Reddy MS, Jeffcoat MK. Influence of implant geometry and surface characteristics on progressive osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002 Nov-Dec;17(6):811-5.

Golec TS, Krauser JT. Long-term retrospective studies on hydroxyapatite coated endosteal and subperiosteal implants. *Dent Clin North Am*. 1992;36(1):39-65.

Groessner-Schreiber B, Neubert A, Müller WD, Hopp M, Griepentrog M, Lange KP. Fibroblast growth on surface-modified dental implants: an in vitro study. *J Biomed Mater Res A*. 2003 Mar 15;64(4):591-9.

Hall J, Lausmaa J. Properties of a new porous oxide surface on titanium implants. *Appl Osseointegration Res*. 2000;1(1):5-8.

Hallgren C, Reimers H, Gold J, Wennerberg A. The importance of surface texture for bone integration of screw shaped implants: an in vivo study of implants patterned by photolithography. *J Biomed Mater Res*. 2001 Dec 15;57(4):485-96.

Hayakawa T, Kiba H, Yasuda S, Yamamoto H, Nemoto K. A histologic and histomorphometric evaluation of two types of retrieved human titanium implants. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2002 Apr;22(2):164-71.

Heinrich A, Dengler K, Koerner T, Haczek C, Deppe H, Stritzker B. Laser-modified titanium implants for improved cell adhesion. *Lasers Med Sci*. 2008 Jan;23(1):55-8.

Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5 - year analysis. *J Periodontol*. 1991 Jan;62(1):2-4.

Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Aug;18(4):517-24.

Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res*. 2007 Aug;18(4):517-24.

Joly JC, Lima AF, Silva RC. Clinical and radiographic evaluation of soft and hard tissue changes around implants: a pilot study. *J Periodontol*. 2003;74(8):1097-103.

Kanagaraja S, Wennerberg A, Eriksson C, Nygren H. Cellular reactions and bone apposition to titanium surfaces with different surface roughness and oxide thickness cleaned by oxidation. *Biomaterials*. 2001 July;22(13):1809-18.

Karabuda C, Sandalli P, Yalcin S, Steflik DE, Parr GR. Histologic and histomorphometric comparison of immediately placed hydroxyapatite-coated and titanium plasma-sprayed implants: a pilot study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 July-Aug;14(4):510-5.

Karagianes MT, Westerman RE, Rasmussen JJ, Lodmell AM. Development and evaluation of porous dental implants in miniature swine. *J Dent Res*. 1976 Jan-Feb;55(1):85-93.

Kesler G, Romanos G, Koren R. Use of Er:YAG laser to improve osseointegration of titanium alloy implants - a comparison of bone healing. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21(3):375-9.

Khadra M. The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. *Swed Dent J Suppl*. 2005;(172):1-63.

Kim HK, Jang JW, Lee CH. Surface modification of implant materials and its effect on attachment and proliferation of bone cells. *J Mater Sci Mater Med*. 2004;15(7):825-30.

Kusakabe H, Sakamaki T, Nihei K, Oyama Y, Yanagimoto S, Ichimiya M et al. Osseointegration of a hydroxyapatite-coated multilayered mesh stem. *Biomaterials*. 2004 July;25(15):2957-69.

Larsson C. The Interface between bone and implants with different surface oxide properties. *Appl Osseointegration Res*. 2000;1(1):9-14.

Lautenschlager EP, Monaghan P. Titanium and titanium alloys as dental materials. *Int Dent J*. 1993;43(3):245-53.

Lavisse LGD, Langlade C, Vannes B. The early stage of the laser-induced oxidation of titanium substrates. *Appl Surface Sci*. 2002 Jan 28;186(1-4):150-5.

Lavos-Valereto IC, Deboni MC, Azambuja junior N, Marques MM. Evaluation of the titanium Ti-6Al-7Nb alloy with and without plasma-sprayed hydroxyapatite coating on growth and viability of cultured osteoblast-like cells. *J Periodontol*. 2002 Aug;73(8):900-5.

Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater*. 2007 July;23(7):844-54.

Lee TM, Tsai RS, Chang E, Yang CY, Yang MR. The cell attachment and morphology of neonatal rat calvarial osteoblasts on the surface of Ti-6Al-4V and plasma-sprayed HA coating: effect of surface roughness and serum contents. *J Mater Sci Mater Med*. 2002 Apr;13(4):341-50.

Li D, Liu B, Wu J, Chen J. Bone interface of dental implants cytologically influenced by a modified sandblasted surface: a preliminary in vitro study. *Implant Dent*. 2001;10(2):132-8.

Li DH, Liu BL, Zou JC, Xu KW. Improvement of osseointegration of titanium dental implants by a modified sandblasting surface treatment: an in vivo interfacial

biomechanics study. *Implant Dent.* 1999;8(3):289-94.

Listgarten MA, Lang NP, Schroeder HE, Schroeder A. Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants [corrected and republished with original paging, article originally printed in *Clin Oral Implants Res* 1991 Jan-Mar;2(1):1-19]. *Clin Oral Implants Res.* 1991 Jul-Sep;2(3):1-19.

Luklinska ZB, Schluckwerder H. In vivo response to HA-polyhydroxybutyrate/polyhydroxyvalerate composite. *J Microsc.* 2003;211(Pt 2):121-9.

Mackerer CR, Clay GA, Dajani EZ. Loperamide binding to opiate receptor sites of brain and myenteric plexus. *J Pharmacol Exp Ther.* 1976;199(1):131-40.

Maluf PSZ, Maotti J, Komatsu C, Arangelli P. Vantagens do tratamento de superfície à laserem implantes dentais osseointegráveis. *Implant News.* 2007;4(5):537-41.

Maniatopoulos C, Tsatsas B. Endodontic implants. Clinical application of techniques. *Odontostomatol Proodos.* 1986 Aug;40(4):221-33.

Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Lankford Junior J. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). *J Biomed Mater Res.* 1995 Mar;29(3):389-401.

Masaki C, Schneider GB, Zaharias R, Seabold D, Stanford C. Effects of implant surface microtopography on osteoblast gene expression. *Clin Oral Implants Res.* 2005 Dec;16(6):650-6.

Meffert RM. Periodontitis and perimplantitis: one and the same? *J Dent Symp.* 1993 Aug;1:24-8.

Moroni A, Faldini C, Chilò V, Rocca M, Stea S, Giannini S. The effect of surface material and roughness on bone screw stability. *J Orthop Trauma.* 1999 Sept-Oct;13(7):477-82.

Morra M, Cassinelli C, Bruzzone G, Carpi A, Di Santi G, Giardino R et al. Surface chemistry effects of topographic modification of titanium dental implant surfaces: 1. Surface analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 Jan-Feb;18(1):40-5.

Morra M. Biochemical modification of titanium surfaces: peptides and ECM proteins. *Eur Cell Mater.* 2006 July 24;12:1-15.

Nagem Filho H, Francisconi PAS, Campi Junior L, Fares NH. Influência da textura superficial dos implantes. *Rev Odonto Ciênc.* 2007 jan-mar;22(55):82-6.

Nishiguchi S, Kato H, Fujita H, Oka M, Kim HM, Kokubo T et al. Titanium metals form direct bonding to bone after alkali and heat treatments. *Biomaterials.* 2001 Sept;22(18):2525-33.

Ong JL, Prince CW, Raikar GN, Lucas LC. Effect of surface topography of titanium on surface chemistry and cellular response. *Implant Dent.* 1996 Summer;5(2):83-8.

Orsini G, Fanali S, Scarano A, Petrone G, di Silvestro S, Piattelli A. Tissue reactions, fluids, and bacterial infiltration in implants retrieved at autopsy: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000 Mar-Apr;15(2):283-6.

Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone*. 1998 Apr;22(4):347-54.

Pérez del Pino A, Serra P, Morenza JL. Oxidation of titanium through Nd:YAG laser irradiation. *Appl Surface Sci*. 2002;197-8:887-90.

Pető GKA, Pászti Z, Guczi L. Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity laser pulses. *Appl Surface Sci*. 2002;186(7):13.

Pilliar RM, Deporter DA, Watson PA, Pharoah M, Chipman M, Valiquette N et al. The effect of partial coating with hydroxyapatite on bone remodeling in relation to porous-coated titanium-alloy dental implants in the dog. *J Dent Res*. 1991 Oct;70(10):1338-45.

Pilliar RM. Porous-surfaced metallic implants for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res*. 1987;21(A1 Suppl):1-33.

Pinheiro AL, Limeira Junior FFA, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J*. 2003;14(3):177-81.

Ponzoni D. Avaliação da osseointegração promovida por implantes jateados por Al₂O₃: análises histológica e histométrica em cães [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2004.

Proussaefs P, Lozada J, Ojano M. Histologic evaluation of threaded HA-coated root-form implants after 3.5 to 11 years of function: a report of three cases. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2001;21(1):21-9.

Rochkind S, Kogan G, Luger EG, Salame K, Karp E, Graif M et al. Molecular structure of the bony tissue after experimental trauma to the mandibular region followed by laser therapy. *Photomed Laser Surg*. 2004 June;22(3):249-53.

Romanos G, Crespi R, Barone A, Covani U. Osteoblast attachment on titanium disks after laser irradiation. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006 Mar-Apr;21(2):232-6.

Romanos GE, Everts H, Nentwig GH. Effects of diode and Nd:YAG laser irradiation on titanium discs: a scanning electron microscope examination. *J Periodontol*. 2000;71(5):810-5.

Rossi MCC. Análise comparativa da interface osso-implante, em tibia de coelho, utilizando fresa cirúrgica e laser de Er,Cr:YSGG [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.

Sanz A, Oyarzún A, Farias D, Diaz I. Experimental study of bone response to a new surface treatment of endosseous titanium implants. *Implant Dent*. 2001;10(2):126-31.

Schenk RK, Buser D. Osseointegration: a reality. *Periodontol* 2000. 1998;17:22-35.

Schneider G, Burrige K. Formation of focal adhesions by osteoblasts adhering to different substrata. *Exp Cell Res*. 1994;214(1):264-9.

Schroeder A, van der Zypen E, Stich H. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J Maxillofac Surg*. 1981;9(1):15-25.

Shibli JA, Grassi S, de Figueiredo LC, Feres M, Marcantonio Junior E, Iezzi G et al. Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007 Feb;80(2):377-85.

Simpson JSD. *La superfície SLA de ITI® Straumann*. Waldenburg: Institut Straumann AG; 1998.

Sisti KE, Garcia Junior IR, Guastaldi AC, Antonioli AC, Rossi R, Brochado Neto AL. Analysis of titanium surface irradiated with laser, with and without deposited of durapatite. *Acta Cir Bras*. 2006;21 Suppl 4:57-62.

Sollazzo V, Pezzetti F, Scarano A, Piattelli A, Bignozzi CA, Massari L et al. Zirconium oxide coating improves implant osseointegration in vivo. *Dent Mater*. 2008 Mar;24(3):357-61.

Srivastava D, Chang ITH, Loretto MH. The effect of process parameters and heat treatment on the microstructure of direct laser fabricated TiAl alloy samples. *Intermetallics*. 2001 Dec;9(12):1003-13.

Steinemann SG. Titanium: the material of choice? *Periodontol* 2000. 1998;17:7-21.

Suzuki K, Aoki K, Ohya K. Effects of surface roughness of titanium implants on bone remodeling activity of femur in rabbits. *Bone*. 1997;21(6):507-14.

Sykaras N, Iacopino AM, Marker VA, Triplett RG, Woody RD. Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000 Sept-Oct;15(5):675-90.

Tortamano Neto P. Novas superfícies para a osseointegração otimizando a carga imediata e a carga precoce. *Implant News*. 2006;3(1):12-3.

Trisi P, Rao W, Rebaudi A. A histometric comparison of smooth and rough titanium implants in human low-density jawbone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14(5):689-98.

Trisi P, Rebaudi A. Progressive bone adaptation of titanium implants during and after orthodontic load in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2002;22(1):31-43.

Ueda YSN. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. *J Clin Laser Med Surg*. 2003;21:271-7.

van Rossen IP, Putter C, Groot K. Investigation of the surface texture of hydroxylapatite-coated dental implants by means of SEM. *J Oral Rehabil*. 1989;16(5):447-50.

Vasconcellos LMR. *Implantes porosos de titânio puro grau 2: osseointegração em tíbias de coelhos [dissertação]*. São José dos Campos: Universidade Estadual Paulista; 2005.

Veçoso MC. *Laser em fisioterapia*. São Paulo: Louvosie; 1993.

Veis AA, Trisi P, Papadimitriou S, Tsirlis AT, Parissis NA, Desiris AK et al. Osseointegration of Osseotite and machined titanium implants in autogenous bone graft. A histologic and histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2004 Feb;15(1):54-61.

Vidigal Junior GM, Aragones LC, Campos Junior A. Histomorphometric analyses of hydroxyapatite-coated and uncoated titanium dental implants in rabbit cortical bone. *Implant Dent.* 1999;8(3):295-302.

Wennerberg AAT, Andersson B, Krol JJ. A histomorphometric and removal torque study on screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Impl Res.* 1995;6:24-30.

Xavier SP, Carvalho PS, Beloti MM, Rosa AL. Response of rat bone marrow cells to commercially pure titanium submitted to different surface treatments. *J Dent.* 2003 Mar;31(3):173-80.

Yaakobi T, Maltz L, Oron U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. *Calcif Tissue Int.* 1996;59(4):297-300.

Yang C. Effect of calcium phosphate surface coating on bone ingrowth onto porous-surfaced titanium alloy implants in rabbit tibiae. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(4):422-5.

Yang C. The effect of calcium phosphate implant coating on osteoconduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92(6):606-9.

Yang YZ, Tian JM, Tian JT, Chen ZQ, Deng XJ, Zhang DH. Preparation of graded porous titanium coatings on titanium implant materials by plasma spraying. *J Biomed Mater Res.* 2000 Nov;52(2):333-7.

Zechner W, Tangl S, Tepper G, Fürst G, Bernhart T, Haas R et al. Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 Jan-Feb;18(1):15-22.

ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



São Leopoldo Mandic
Faculdade de Odontologia
Centro de Pesquisas Odontológicas
Certificado de Cumprimento de Princípios Éticos

C E R T I F I C O que, após analisar o projeto de pesquisa

Título: *AVALIAÇÃO IN VITRO DA ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE OSTEÓBLASTOS SOBRE IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS COM TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE A LASER (IMPLUS SERSON)*

Pesquisador principal: Bruno Brenner Pentagna

Orientador: Thomaz Wassal

Data Avaliação:

o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia e Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic considerou que o projeto está de acordo com as diretrizes para a proteção do sujeito de pesquisa, estabelecidas pela Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Campinas, SP, Brazil, segunda-feira, 17 de novembro de 2008

CERTIFICATION OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES

I hereby, certify that upon analysis of the Research Project,

Main Researcher(Author): Bruno Brenner Pentagna

Advisor: Thomaz Wassal

The Committee of Ethics for Research of São Leopoldo Mandic School of Dentistry and Research Center, has considered the mentioned project to be in accordance to the guidelines of protection to the subject of the research, established by the Regulation number 196/96, from the National Health Council of the Brazilian Health Ministry.

Prof. Dr. Thomaz Wassal
Coordenador de Pós-Graduação