

KARIN E. SISTI

**ESTUDO DA TOPOGRAFIA E DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE
IMPLANTE DE TITÂNIO SOB AÇÃO DO LASER, COM OU SEM
DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA, EM COELHOS.**

**CAMPO GRANDE - MS
2011**

KARIN E. SISTI

**ESTUDO DA TOPOGRAFIA E DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE
IMPLANTE DE TITÂNIO SOB AÇÃO DO LASER, COM OU SEM
DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA, EM COELHOS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-
Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Rafael de Rossi.
Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos
Guastaldi.

**Campo Grande - MS
2011**

Sisti, Karin Ellen

Estudo da topografia e da osseointegração de implante de titânio sob ação do LASER, com ou sem deposição de hidroxiapatita, em coelhos.

Campo Grande, 2011.

xix, 95f.

Tese de Doutorado – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro – Oeste.

Topographical, histological and biomechanical evaluation of osseointegration of titanium implants modified by laser with or without hydroxyapatite deposition.

1. LASER.
2. Superfície de titânio.
3. Hidroxiapatita.
4. Implantes dentários.
5. Osseointegração.

FOLHA DE APROVAÇÃO

KARIN E. SISTI

**ESTUDO DA TOPOGRAFIA E DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTE DE
TITÂNIO SOB AÇÃO DO LASER, COM OU SEM DEPOSIÇÃO DE
HIDROXIAPATITA, EM COELHOS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-
Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Resultado: APROVADO COM LOUVOR

Campo Grande (MS), 14 de abril de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. RAFAEL DE ROSSI
Instituição: UFMS

Prof. Dra. ANDRÉIA C. M. BROCHADO ANTONIOLLI
Instituição: UFMS

Prof. Dr. IDELMO RANGEL GARCIA Jr.
Instituição: UNESP

Prof. Dra. THALLITA P. QUEIROZ
Instituição: UNIARA

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS GUASTALDI
Instituição: UNESP

DADOS CURRICULARES

KARIN ELLEN SISTI

Nascimento: 25/02/1975 Londrina-PR

Filiação: Francisco Luiz Sisti e Rosemary Sisti

1994-1997: Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia – UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS.

1998-1999: Capacitação em Paciente Espaciais – Faculdade de Odontologia - UFMS.

1999-2000: Capacitação em Prótese e Oclusão – Hospital Geral Militar Campo Grande/MS.

1999-2001: Professora Colaboradora da disciplina de Estágio Integrado em Pacientes Especiais –Faculdade de Odontologia - UFMS

1999-2001: Especialização em Implantes – Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas– Araraçatuba/SP.

2003-2004: Pós-Graduação em Odontologia; Área de Concentração em Implantodontia. Nível Mestrado – FOA - UNESP.

2007-2011: Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste; Nível Doutorado – Departamento de Clínica Cirúrgica - UFMS.

2008-2011: Grupo de Biomateriais do Instituto de química – UNESP – Araraquara/SP.

2009-2011: Professora Colaboradora da disciplina de Técnica Cirúrgica do Departamento de Clínica Cirúrgica da Faculdade de Medicina “Hélio Mandeta”– UFMS.

DEDICATÓRIA

A **DEUS** POR ME PROPORCIONAR O PRAZER PELA PESQUISA, PROVANDO
INÚMERAS VEZES QUE A CIÊNCIA É DIVINA.

AOS MEUS PAIS:
FRANCISCO LUIZ SISTI
ROSEMARY SISTI
QUE NÃO MEDIRAM ESFORÇOS PARA A ESTA CAMINHADA CIENTÍFICA.

AO MEU MARIDO
ÁLVARO BROCHADO NETO
QUE SEMPRE ME APOIOU ABDICANDO DE MINHA PRESENÇA INÚMERAS
VEZES AO LONGO DESSES ANOS.

AGRADECIMENTOS

A Magnífica Reitora Prof^a. Dr^a. Célia Maria Oliveira pelo incentivo a pesquisa na UFMS.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos por ter a iniciativa de desenvolver uma Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste - UFMS.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael de Rossi, que se predispôs a me ajudar na elaboração deste trabalho.

Ao Grupo de Biomateriais do Instituto de Química UNESP – Araraquara, sem ele não seria possível a elaboração desta pesquisa. *Dr. Nilson Tadeu Camarinho Oliveira, Dra. Anahi Herrera Aparecida, EDXon Almeida Filho.*

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (UFMS), em especial à secretária Jacqueline Maciel Corrêa, por demonstrar sempre muita força de vontade na divulgação em Congressos Nacionais e Internacionais, meu muito obrigada.

Aos funcionários da secretaria do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em especial à Vera Nascimento da Silva que com seu carinho sempre esteve contribuindo para a elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos de pesquisa Dr^a. Thallita Pereira Queiroz, Dr. Hewerson Tavares Santos, Dr. Francisley Avila Souza, que me acolheram nesta linha de pesquisa.

Aos funcionários do biotério central e laboratório de histologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Alan Semerine, Camilo Roberto, João Batista Alves, Odair Vicente, por cuidarem com tanto carinho dos animais utilizados nesta pesquisa.

Aos alunos da Pós-Graduação da FOA-UNESP pelo apoio e fundamental auxílio durante os procedimentos experimentais deste trabalho. Abrahão Cavalcanti Gomes de Souza Carvalho, Jéssica Lemos Gulinelli, Pâmela L. dos Santos, Fernando Pozzi Semeghini Guastaldi, Bruno M. de Carvalho.

Ao laboratório de pesquisa do Exakt da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, em especial o Prof. Dr. Elcio Marcantonio Jr.

Ao Prof. Dr. Jamil Awad Shibli do Departamento de Periodontotia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Guarulhos, pela oportunidade de apresentar o Prof. Dr. Adriano Piattelli.

Aos meus familiares: André Luiz Sisti, Silvana P. Paschoal Sisti, Lorenzo P. Sisti, Luige P. Sisti, Aparecido Sisti, Ignes Braga Sisti, Daniel B. Sisti, José Luiz Braga pelo incentivo, admiração, e principalmente pela presença durante a realização da defesa de doutoramento.

Aos meus pacientes e secretárias que sempre demonstraram incentivos, principalmente no grande período de ausência no consultório ao decorrer destes anos.

Aos meus amigos Katiuska Brandão Nascimento e Fabiano Nascimento pela paciência e incentivo durante a formatação deste trabalho.

Aos meus professores de inglês, em especial Failat Shoula e Roy Hale que tiveram uma enorme paciência nas inúmeras aulas de tradução dos mais variados artigos, tenho certeza que este trabalho não seria o mesmo sem essas contribuições.

À Titanium Fix, em nome do Sr. Sidival Dias pela gentileza e disponibilidade em ceder os implantes utilizados neste trabalho, bem como pela colaboração e incentivo na divulgação em eventos científicos no exterior.

À *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES*, pelo apoio financeiro concedido por meio da Bolsa de Doutorado.

Aos funcionários da Biblioteca Central da UFMS: à bibliotecária Sra. Alessandra Regina Borgo e Sr. Waldomiro Suares Mendes pela disponibilidade e pelo carinho despendido durante os levantamentos bibliográficos.

Aos meus amigos: Ricardo P. Câmara, Regina P. Câmara, Ilana Coutinho de Alencar, Edy E. Sakaguti, Myrian A. de Padoa, Maritza Brandão, Olga Brandão, Luciana Borges, Luciana Bergo, Aline C. Zinn, Alexandre D. Costa, pela compreensão de minha ausência.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao *Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Jr.* pela oportunidade de ceder um valioso espaço na FOA-UNESP.

Ao *Prof. Dr. Antonio Carlos Guastaldi - Instituto de Química UNESP Araraquara*, por sempre acreditar na possibilidade da elaboração deste doutoramento.

A *Profa. Dr^a. Andréia C. M. Brochado Antonioli* pelos ensinamentos metodológicos experimentais.

Ao *Prof. Dr. Adriano Piattelli* da Univesidade de Chieti-Pescara Itália pela oportunidade cedida naquela instituição de ensino.

Ao *Prof. Dr. Élcio Marcantonio Jr.* Pelo espaço cedido no laboratório do Exakt - Periodontia da FOAr – UNESP.

EPÍGRAFE

Gracias a La Vida

Gracias a la Vida que me ha dado tanto
me dio dos luceros que cuando los abro
perfecto distingo lo negro del blanco
y en el alto cielo su fondo estrellado
y en las multitudes el hombre que yo amo.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto
me ha dado el oído que en todo su ancho
graba noche y día grillos y canarios
martillos, turbinas, ladridos, chubascos
y la voz tan tierna de mi bien amado.

Gracias a la Vida que me ha dado tanto
me ha dado el sonido y el abecedario
con él las palabras que pienso y declaro:
MADRE, AMIGO, HERMANO y luz alumbrando,
la ruta del alma del que estoy amando.

Gracias a la Vida que me ha dado tanto
me ha dado la marcha de mis pies cansados
con ellos anduve ciudades y charcos,
playas y desiertos montañas y llanos
y la casa tuya, tu calle y tu patio.

Gracias a la Vida que me ha dado tanto
me dio el corazón que agita su marco
cuando miro el fruto del cerebro humano,
cuando miro el bueno tan lejos del malo,
cuando miro el fondo de tus ojos claros.

Gracias a la Vida que me ha dado tanto
me ha dado la risa y me ha dado el llanto,
así yo distingo dicha de quebranto
los dos materiales que forman mi canto
y el canto de ustedes que es el mismo canto
y el canto de todos que es mi propio canto.

Gracias a la Vida
Violeta Parra

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática das propriedades biológica e mecânica dos diferentes materiais empregados como biomateriais.....	27
Figura 2 – Mecanismo da formação de apatita sobre superfícies de vidros a base de CaO-SiO ₂ e vitro-cerâmicas.....	30
Figura 3 – Fotomicrografia em aumento de 1000X ilustrando corte vertical do disco de titânio do GIII e a mensuração da espessura média do tratamento da superfície realizada em 20 pontos - MEV (UFSCar –São Carlos-SP).....	41
Figura 4 - Fotografia ilustrando o aparelho de rugosímetro – utilizado para análise da Rm h (Contact AngleSystem, vídeo-based Dataphysics) - (FOAr UNESP-Araraquara-SP).....	41
Figura 5 - Fotografia ilustrando o aparelho de LASER de alta intensidade e o Implante de titânio sob ação do LASER (Instituto de Química de Araraquara – UNESP Araraquara-SP).....	42
Figura 6 – Fotografia ilustrando a mensuração do ângulo de contato no grupo controle GI. A) Nota-se uso de discos de titânio para possibilitar a análise. B) Imagem projetada pelo computador ilustrando molhamento parcial da superfície GI, formação de ângulo de contato entre a gota e a superfície.....	43
Figura 7 – Fotografias ilustrando técnica cirúrgica para instalação dos implantes: exposição e confecção do leito ósseo, em tibia de coelho. a) Anestesia terminal infiltrativa para proporcionar hemostasia. b) Diérese incisional dermomioperiostal. c) Divulção. d) Diérese óssea por meio da fresa lança. e) Fresagem com helicoidal 2mm, irrigação com solução fisiológica. f) Fresagem com piloto 2/ 3.....	45
Figura 8 – Fotografia para ilustrar a instalação dos parafusos de implante de titânio na tibia de coelhos. a) Leito receptor dos implantes. b) Implante a ser instalado. c) Instalação do implante usinado. d) Instalação do implante tratado a LASER. e) Instalação do implante tratado a LASER + HA. f) Síntese com sutura oclusiva.....	46
Figura 9 - Figura 9: Fotografias para ilustrar a abordagem dos parafusos após períodos de avaliação, em tibia de coelhos. a) Implantes com parafusos de cobertura. b) Instalação do montador de implantes. c) Torquímetro analógico (Tonich). d) Torquímetro registraando o valor máximo da força de remoção do implante. e) Torque Reverso. f) Implantes com instalação bicortical.....	47

Figura 10 - Organograma mostrando a distribuição dos grupos e dos períodos de avaliações pós-cirúrgicos (30 e 60 dias).....38

Figura 11 - Análise histométrica da extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do parafuso (COI) em porcentagem. a,b: extensão linear de contato total da espira. c,d: COI.....52

Figura 12 - Análise histométrica da área óssea entre as espiras do parafuso (AO) em porcentagem. a,b,c: AO total entre as espiras. d,e,f: AO entre as espiras.....53

Figura 13 - Fotomicrografia em aumento de 5.000X sob MEV mostrando superfície de implante de titânio: usinada(a), irradiada a LASER de alta intensidade(b), e irradiada a LASER de alta intensidade e depositada hidroxiapatita(c).....55

Figura 14 - EDX dos grupos experimentais: GI, GII e GIII, nota-se ausência de contaminação nas três superfícies pela mapeamento químico.....56

Figura 15 - D RX : Gráficos das análises do GI, GII e GIII, nota-se no GI a presença de picos de titânio, no GII a presença de óxidos de titânio provenientes da irradiação e no GIII presença de OCP e HA caracterizando alta cristalinidade57

Figura 16 - Fotomicrografias ilustrando discos em cortes verticais em MEV- aumento de 100X GII(A), 100X GIII(B), em 500X GII(C) e GIII(D), em 1.000X GII(E) e GIII(F).....60

Figura 17- Fotomicrografias ilustrando cortes histológicos não descalcificados do parafuso GI e as interfaces com o tecido ósseo, aos 30 dias (A) e aos 60dias (B), por meio de uma lupa (Leica MZ-6, Alemanha), em aumento de 4X.....65

Figura 18 - Fotomicrografias ilustrando cortes histológicos não descalcificados do parafuso GII e as interfaces com o tecido ósseo, aos 30 dias (A) e aos 60dias (B), por meio de uma lupa (Leica MZ-6, Alemanha), em aumento de 4X.....66

Figura 19 - Fotomicrografias ilustrando cortes histológicos não descalcificados do parafuso GIII e as interfaces com o tecido ósseo, aos 30 dias (A) e aos 60dias (B), por meio de uma lupa (Leica MZ-6, Alemanha), em aumento de 4X.....67

Figura 20 - Microfotografias ilustrando cortes histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X) da interface osso/parafuso, nota-se em preto os implantes, em rosa a presença de tecido ósseo maduro, em azul tecido conjuntivo, GI 30dias nota-se a grande presença de tecido conjuntivo corado pelo azul de Estevenel (seta branca). No GI 60 dias nota-se grande presença de tecido ósseo.....68

Figura 21 - Microfotografias ilustrando cortes histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X) da interface

osso/parafuso, notam-se em preto os implantes, em rosa a presença de tecido ósseo maduro, em azul tecido conjuntivo. No GII 30 dias, GII 60 dias (GII) nota-se grande presença de tecido ósseo.....69

Figura 22 - Microfotografias ilustrando cortes histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X) da interface osso/parafuso, notam-se em preto os implantes, em rosa a presença de tecido ósseo maduro, em azul tecido conjuntivo. No GIII 30 dias, nota-se grande presença de tecido ósseo. E no GIII 60 dias, nota-se presença de lamelas concêntricas, que representa maior maturidade óssea (seta).....70

LISTA DE QUADROS

QUADRO I – História das substâncias empregadas nas reconstruções de tecidos.....6

QUADRO II – Vários tipos de fosfatos de cálcio.....28

QUADRO III - Concentrações iônicas das soluções utilizadas para recobrimento com HA
(mmol.dm³).....38

QUADRO IV - Referências de ângulos de contato e condições de molhamento.....42

QUADRO V - Valores do torque - reverso no período de 30 e 60 dias pós-operatório.*anexo*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio padrão da rugosidade das superfícies dos diferentes grupos.....**59**

Tabela 2 - Média e desvio padrão da espessura da modificação de superfícies para os grupos testes.....**61**

Tabela 3 - Média e desvio padrão dos valores da AO dos grupos experimentais: GI, GII e GIII.....**61**

Tabela 4 - Média e desvio padrão do ângulo de contato obtido para as diferentes superfícies (discos).....**62**

Tabela 5 - Média e desvio padrão dos valores do COI dos grupos experimentais: GI,GII e GIII.....**63**

Tabela 6 - Média e desvio padrão dos valores da AO dos grupos experimentais: GI,GII e GIII.....**64**

LISTA DE ABREVIATURAS

Å – angstrom

Al- Alumínio

Atm – atmosfera

⁰C - graus Celsius

Cb - cobalto

CO₂ - dióxido de carbono

Cr - cromo

EDX – Energia dispersiva de Raio X

Er-yag - [*erbium-doped yttrium aluminium garnet*](#)

FOA – Faculdade de Odontologia de Araçatuba

HA – hidroxiapatita

HCl – ácido clorídrico

He - Hélio

Ho – Holmio

H₂SO₄ – ácido sulfúrico

Hz – Hertz

Kg - quilograma

KW – Kilowatts

LASER- Light amplification by stimulated emission radiation

Mo- molibdênio

MEV – Microscópio eletrônico de varredura

μ –micron

μm – micrometro

N –nitrogênio

n- nanometro

Nd-YAG – neodímio – *Ytrium Alumínio Garnet*

Ne- Neônio

pH- potencial de hidrogenização

Ti cp — Titânio comercialmente puro

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UNESP – Universidade Estadual Paulista ‘Julio de Mesquita Filho’

V- Vanádio

W/m^2 – Watts por metro quadrado

EDX –espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

DRX – difração de raios X

Yb – *Ytterbium*

RESUMO

Sisti KE. Estudo da topografia e da osseointegração de implante de titânio sob ação do LASER, com ou sem deposição de hidroxiapatita, em coelhos. Campo Grande; 2011. [Tese de Doutorado – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Objetivo: Estudar a topografia a osseointegração de implantes de titânio sob ação do LASER de alta intensidade com e sem deposição química de hidroxiapatita, em coelhos. Método: Foram utilizados 30 coelhos albinos que receberam em suas tíbias 3 tipos de superfície de implantes: grupo controle(GI) implantes usinados, grupo(GII) irradiado LASER(Yb), e grupo irradiado e depositado hidroxiapatita pelo método biomimético(GIII). Após os períodos de avaliações (30 e 60 dias) os implantes foram submetidos à avaliação biomecânica (torque reverso). Observou-se o contato osso/implante (COI) e a área óssea (AO) em análise histológica não descalcificada, realizada análise quantitativa. Análises topográficas: MEV-EDX, DRX, molhabilidade e rugosidade média (R_m) foram submetidos a uma análise qualitativa. Resultados: Torque reverso apresentou diferença estatística significativa entre GI X GII, e entre GI X GIII somente aos 30 dias. COI apresentou diferença estatística no GI entre os períodos de 30 e 60 dias. Na análise entre grupos houve diferença estatística entre GI X GII, e entre GI X GIII, aos 30 e aos 60 dias. A AO não apresentou diferença estatística no GIII quando comparado 30 com 60 dias, mas apresentou diferença estatística entre GII X GI, e entre GII XGIII aos 30 e aos 60 dias. Os grupos GII e GIII apresentaram uma média de ângulo de contato de zero grau contra 72^0 do GI, assim como uma maior rugosidade média. O MEV revelou uma superfície homogênea com esferas semelhante no GII e GIII. O EDX não apresentou contaminação nas três superfícies analisadas. DRX revelou presença de HA com alta cristalinidade no GIII. Conclusão: Implantes de titânio modificados por LASER, associados ou não à hidroxiapatita, apresentaram superfícies com propriedades físico-químicas e morfológicas que contribuem para uma precoce osseointegração quando comparado aos implantes com superfície usinada, em coelhos.

Palavras-chaves: 1.LASER. 2. Superfície de titânio. 3. Hidroxiapatita. 4. Implantes dentários. 5. Osseointegração.

ABSTRACT

Sisti KE. Study of topography and osseointegration of titanium implant modified by laser with and without hydroxyapatite coating, in rabbits. Campo Grande; 2011. [PhD Thesis – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Purpose: Study of topography and osseointegration of titanium implant modified by laser with and without hydroxyapatite coating, in rabbits. **Methods:** Titanium implants with 3 different surfaces were inserted into the tibia of 30 rabbits. Group I machined surface (GI), group II irradiated with LASER (GII), and group III irradiated with LASER and coated with hydroxyapatite (HA) by biomimetic method (GIII). The rabbits were distributed into 2 periods: 30 and 60 days post-surgery. Surface analyses of crystallinity and element distribution were conducted using XR-D and SEM-EDX, additionally contact angle and roughness were also analysed. Histological analysis was carried out post observation periods using non decalcified analysis. **Statistical analysis:** BIC by comparison of GI at 30 days with values of GI at 60 days, likewise GII and GIII, using test t; BIC by cross comparison, inclusive of all groups GI, GII and GIII, at 30 days with a similar comparison at 60 days using ANOVA followed by Tukey; BA by comparison of GI at 30 days with values of GI at 60 days, likewise GII and GIII, using Mann Whitney test; finally, BA by cross comparison, inclusive of all groups GI, GII and GIII, at 30 days with a similar comparison at 60 days using Kruskal Wallis Test followed by Student-Newman-Keuls test. **Results:** removal torque values showed a statistically significant difference between GI compared to GII and GI compared to GIII at 30 days. BIC values showed statistically significant difference in GI, at 30 and 60 days. BA values showed no statistically significant difference in GIII at 30 and 60 days. The treated groups showed zero degree contact angle compared to 72° in GI. Ra of GII and GIII presented values higher than that of GI. SEM of GII and GIII revealed a rough surface. The EDX showed no contamination on the three sample surfaces analyzed. XR-D revealed the presence of high HA crystallinity. **Conclusion:** Titanium implants modified by LASER irradiation can increase osseointegration during the initial phase.

Key word: 1. LASER. 2. Titanium surface. 3. Durapatite. 4. Dental implant. 5 Osseointegration.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE QUADROS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiv
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
SUMÁRIO.....	xviii
1. Introdução.....	01
2. Revisão de Literatura.....	05
2.1 Biomateriais.....	05
2.2 Propriedades Físico-químicas, Bioquímicas e Biodegradação em Implantes.....	08
2.2.1 Metal.....	08
2.2.2 Corrosão e Biodegradação.....	08
2.3 Titânio como Superfície de implante.....	09
2.4 Tipo de LASER.....	17
2.4.1 Superfície do Titânio tratada a LASER.	19
2.5 Cerâmica de Fosfato de Cálcio.....	24
2.5.1 Método Biomimético.....	28
3. Objetivo.....	34
4. Material e Método.....	35
4.1 Amostra.....	35
4.2 Preparo das Superfícies Testes.....	35
4.2.1 Modificação da Superfície por Feixe de LASER (discos e parafusos).....	36
4.2.2 Modificação da Superfície por Feixe de LASER e recobrimento por deposição de HA pelo Método Biomimético modificado ²³ (discos e parafusos).....	37
4.3 Delineamento experimental.....	38
4.4 Caracterizações das Superfícies por MEV, EDX, DRX, ângulo de contato e rugosidade média (discos).....	39
4.4.1 MEV e EDX.....	39
4.4.2 DRX	40
4.4.3 Rugosidade média (R _m).....	40
4.4.4 Medidas de ângulo de contato.....	42

4.5	Cirurgia Experimental.....	44
4.5.1	Técnica Cirúrgica.....	44
4.5.2	Instalação dos implantes (parafusos).....	48
4.5.3	Pós-operatório.....	49
4.6	Análises Biomecânica (parafusos).....	49
4.7	Análise histológica (parafusos).....	49
4.8	Análises estatísticas (discos e parafusos)	50
4.8.1	Ângulo de Contato (discos)	50
4.8.2	Rugosidade Média (discos)	51
4.8.3	Torque Reverso (parafusos)	51
4.8.4	Histometria (parafusos) COI.....	51
4.8.5	Histometria (parafusos) AO.....	51
5.	Resultados.....	55
5.1	Análise Topográfica - caracterizações das Superfícies por MEV, EDX, D-RX, ângulo de contato e rugosidade (discos).....	55
5.1.1	MEV e EDX	55
5.1.2	DRX	58
5.1.3	Rugosidade média (Rm).....	59
5.1.4	Medidas de ângulo de contato	61
5.2	Análises Biomecânica (parafusos).....	62
5.3	Análise Histológica (parafusos).....	63
5.3.1	Análise qualitativa.....	63
5.3.2	COI.....	63
5.3.3	AO.....	64
6.	Discussão.....	71
7.	Conclusão.....	81
8.	Referencias Bibliográficas.....	82
9.	Anexos.....	95

1. INTRODUÇÃO

O surgimento de implantes osseointegráveis possibilitou uma nova forma de reabilitação bucal, que proporcionou maior conforto ao paciente devolvendo estética, fonética e mastigação, otimizando a qualidade de vida dos mesmos. A partir de então uma nova era na odontologia foi marcada.¹

Branemark, na década de 1960, introduziu o conceito de osseointegração na medicina e na odontologia utilizando titânio comercialmente puro como material de implante, e a partir desta data a implantodontia tem sido uma das áreas na odontologia que apresentou grande avanço tecnológico, abrangendo diferentes tipos de implantes, técnicas e biomateriais usados, proporcionando maior sucesso na reabilitação dos pacientes edêntulos parciais ou totais.^{2,3}

O fenômeno da osteointegração é previsível⁴, porém alguns fatores como anatomia, técnica cirúrgica empregada, afecções associadas e fatores estéticos devem ser analisados previamente à cirurgia, pois poderão interferir nos resultados da reabilitação implantossuportada.^{5,6}

A osseointegração é definida como contato direto, estrutural e funcional entre o osso ordenado e a superfície do implante a luz da microscopia óptica, apresentando-se este, estável e capaz de suportar as forças mastigatórias.^{3,4} Biologicamente não existe evidência de contato total entre osso e implante, mas sim maior ou menor quantidade de tecido ósseo. Contudo, a resolução da microscopia óptica demonstra evidência adequada para osseointegração, mesmo que não haja consenso para uma definição com bases biológicas. É aceitável que o osso calcificado esteja a 100 Å do material do implante, sob microscopia

eletrônica. “Osseointegração é o processo pelo qual a fixação rígida e assintomática de um material aloplástico no osso é obtida e mantida durante a função” definida pela estabilidade do implante.⁷

O desempenho do biomaterial sempre foi de grande interesse e preocupação nas disciplinas médicas. A reabilitação dentária com implantes possui características especiais por estar sob efeito dos fluidos bucais, passando pela mucosa e fixando em osso subjacente. A dissipação de forças oclusais no conector protético, tecido mole e osso caracteriza o aspecto funcional.⁸

O tempo para uma osseointegração em implantes de titânio pode variar entre 3 a 6 meses³, é o período de espera necessário para que o implante possa receber carga (instalações de próteses), esse fator sempre incomodou tanto o profissional quanto o paciente. Esse tempo está diretamente relacionado com a qualidade óssea e a superfície do implante. Com a finalidade de melhorar ou mesmo acelerar essa osseointegração, principalmente em áreas de baixa qualidade óssea, vários estudos sobre a superfície dos implantes de titânio foram realizados nas últimas décadas, e têm demonstrado que o recobrimento dos mesmos com hidroxiapatita (HA) aumenta a rigidez da interface osso/implante.⁹

Existem várias formas de tratamento de superfície da liga de titânio chamado titânio comercialmente puro (Ti cp). Dentre elas pode-se citar: aplicação de plasma de titânio (Ti) sobre a superfície do implante, jateamento com diversos tipos de partículas (areia, vidro, óxido de alumínio), biomaterial reabsorvível como micropartículas de hidroxiapatita, além de modificações químicas como ataque ácido¹⁰, anodização⁷ e físicas como irradiação de LASER em alta intensidade^{11, 12}. A literatura demonstra que implantes

com superfície rugosa apresentam uma maior área de contato osso-implante e melhores características biomecânicas.¹⁰

Em 1960, Theodore Maiman apresentou o primeiro LASER que tinha como princípio ativo um cristal de rubi. O LASER possui características que o diferenciam de uma luz comum como monocromaticidade, coerência, direcionalidade, possibilidade de focalização em pequenas áreas e emissão de alta densidade de energia¹³. Em odontologia são utilizados desde 1964, os LASER de Neodímio, Argônio, dióxido de carbono (CO₂), Hólmio, Érbio, Hélio-Neônio e Arsenato de Gálio¹⁴.

A oxidação ou nitretação da superfície do Ti empregando-se irradiação com feixes de LASER é de grande importância porque esses promovem aumento da área de superfície e formação de óxidos e nitretos de Ti que apresentam biocompatibilidade, possibilitando seu uso no organismo. A nitretação do Ti, que é considerada bioinerte pela *Food and Drugs Administration (FDA)* e proporciona um aumento na capacidade de escoamento do sangue sobre sua superfície, ou seja, possui uma excelente hidrofília.¹²

O LASER de alta intensidade é usado em estudos para modificar superfícies de implantes de Ti.^{11,12} Petö *et al.*¹⁵ (2002) irradiaram a superfície de implantes de titânio com LASER de Nd:glass em uma temperatura acima do ponto de fusão que modificou a morfologia original. György *et al.*¹⁶ (2002), utilizando LASER de pulso simples de Nd:YAG em amostras de titânio demonstraram que os parâmetros de potência do feixe influenciam na fusão da superfície. Em estudos de oxidação por LASER em superfície de Ti, Lavis¹⁷ concluiu que a camada fundida tem sua espessura dependente da quantidade de emissões no mesmo local da superfície.

Sisti *et al.*¹² realizaram um trabalho com LASER de alta intensidade (Nd:YAG) irradiando sobre a superfície de titânio com e sem deposição de hidroxiapatita. Os autores concluíram que a irradiação promoveu um aumento na área da superfície, apresentando a mesma rugosidade, aspereza e homogeneidade, que não é observada nos implantes disponíveis no mercado. Esses resultados sugerem que o uso de implantes irradiados com LASER e associados à hidroxiapatita promoverá uma osseointegração adequada e mais precoce quando comparados com os implantes atuais.

Dessa forma julgou-se pertinente a realização deste estudo para avaliar a osseointegração de implantes de titânio sob ação do LASER com ou sem deposição de hidroxiapatita.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biomateriais:

A inserção de um biomaterial no tecido ósseo desencadeia mecanismos biológicos favoráveis ao organismo e ao implante,¹⁸ após este processo uma série de etapas do reparo tecidual (modelagem e remodelagem) ocorrem na interface osso com a superfície do implante.^{18,19,20} A interação de um biomaterial seja ele liga metálica ou não, como são os casos da hidroxiapatita é objetivo de vários estudos atuais.^{21,22,23}

Através da história constatamos que o homem sempre teve uma preocupação em repor órgãos perdidos ou tecidos danificados usando substâncias naturais ou sintéticas. Documentos confirmam uso de dentes extraídos, madeira, pedra, osso seco, marfim, ouro, arame de ouro, ligas de prata e outras substâncias para uso médico e odontológico (Quadro I). Ludwingson sugeriu classificar em três eras cronológicas os biomateriais: I) até 1870 – período que antecipa procedimentos assépticos; II) 1870 até 1925 – muitos avanços tecnológicos nos materiais; III) 1925 até o presente.²⁴

Um relevante fato nas pesquisas com biomateriais foi a descoberta dos procedimentos de antissepsia e assepsia introduzidos por Lister na década de 1870.²⁴

Biomaterial é definido como quaisquer substâncias ou combinações de substâncias que não sejam drogas ou fármacos, sendo essas de origem sintética (inorgânica) ou natural (orgânica), que possam ser usadas por tempo indeterminado, como parte ou como um todo de sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo. Ainda, a coexistência não deve desencadear reações adversas ou incontroláveis no organismo, ou seja é biocompatível.²⁵

Quadro I. História das substâncias usadas nas reconstruções de tecidos.²⁴

Data	Referência	Substância
A.C.	Arqueológicos China e Egito	Dente: pedra e marfim reimplantado
1565	Petrônios	Ouro
1666	Fabricius	Ouro e marfim
1775	Pujol	Bronze
1827	Rodgers	Prata
1829	Levert	Platina
1860	Lister	Assepsia
1902	Lamblotle	Tântalo
1912	Sherman	Aço inoxidável
1934	Barber	Polimetilmetacrilato
1936	Venabe	ligas de cobalto
1951	Leventhal	Titânio e suas ligas
1962	Smith	Alumínio e óxido de cerâmica
1960`s	Bokros	Carbono grafite e pirolítico, vidros
1970`s	Driskell, Degroot e Jarco	Apatita e hidroxiapatita

Dentre as propriedades de um biomaterial a biocompatibilidade e a biofuncionabilidade são imprescindíveis. Um material que usado em aplicações específicas, desenvolve respostas teciduais adequadas no hospedeiro, caracteriza-se como biocompatível. Para isso, ele não necessita ser absolutamente inerte ou inócuo como se acreditava no passado. Já a biofuncionabilidade caracteriza-se por desempenhar funções desejadas dadas as suas propriedades mecânicas, químicas, ópticas, elétricas, etc.²⁶

O desempenho do biomaterial sempre foi de grande interesse e preocupação nas disciplinas médicas. A reabilitação dentária com implantes, possui características especiais por estar na boca (fluidos bucais), passando pela mucosa e fixando em osso subjacente. A dissipação das forças oclusais no conector protético, tecido mole e osso inclui o aspecto funcional, porém com acentuada complexidade das condições ambientais químicas e mecânicas. O volume e as propriedades da superfície do material também influenciam nesse aspecto, assim como manufatura, acabamento, embalagem, entrega, esterilização e cirurgia para inserção.⁸

O desenvolvimento dos biomateriais se deu por várias razões clínicas, incluindo a necessidade de materiais que possam ser usados em reconstruções ortopédicas de grandes defeitos ósseos e a carência de implantes médicos e odontológicos que sejam mecanicamente mais satisfatórios em ambiente biológico.²⁷

A engenharia de tecidos desenvolveu materiais como a matriz óssea desmineralizada, colágeno, fibrina, fosfato de cálcio, ácido poliacrílico, copolímeros poliláticos e poliglicólicos, polietileno, politetrafluoretileno expandido, hidroxiapatita, vidro biológico, gesso odontológico, tântalo e titânio.²⁷

Os biomateriais podem ser classificados quanto à interação com o organismo: bioinertes como cerâmica de óxido de alumínio, carbono e Ti (não fazem trocas com o organismo, porém podem ser encapsulados pelo mesmo), biorreativos como cerâmica de HA e vidro cerâmico (fazem trocas com o meio em que foram colocados e essas são benéficas ao organismo) ou biotoleráveis como as ligas de Cr-Cb-Mo e implantes de aço

(fazem trocas com o meio, porém essas trocas não causam grandes danos ao organismo). Ainda podem ser classificados quanto a sua qualidade mecânica e qualidade biológica.²⁸

2.2 Propriedades Química, Bioquímica e Biodegradação em Implantes

Algumas das mais importantes considerações com respeito a propriedades, manipulação e implantação de biomateriais sintéticos foi descrita por Lemons:²⁹

2.2.1 Metal :

Em geral os implantes devem ser química e mecanicamente limpos para otimizar e controlar as interações teciduais, estáveis e, se alterado, voltar sua estabilidade com o mínimo de biodegradação. A esterilização em autoclave (apenas com água destilada) mostra-se eficaz. Ligas de cobalto, no estado prévio, são as menos maleáveis das ligas, o aço inoxidável é o mais sujeito a biocorrosão se as faces forem alteradas e a camada protetora de óxido for removida. As ligas metálicas não devem realizar trocas de corrente elétrica nos metais usados em paciente, especialmente no mesmo arco. Aço inoxidável apresenta grande diferença de potencial galvânico quando comparado com ligas de Cb e Ti. Cr-Cb-Mb , Ti, e ligas de Ti-Al-Vn não possuem grandes diferenças entre si. Carbono (C) e carbono siliconado também são condutores elétricos e as mesmas regras são aplicadas para que não haja trocas elétricas, assim como misturas de C e aço inoxidável devem ser evitadas.²⁹

2.2.2 Corrosão e Biodegradação:

Na implantodontia odontológica o material está em contato com tecido ósseo, mucosa e fluidos bucais (os eletrólitos e compostos de oxigênio são diferentes desses

fluidos) e como coadjuvante a presença de placa bacteriana que faz com que o pH altere significativamente. Todos esses fatores fazem com que a corrente galvânica possa ser maior em implantes dentários do que ortopédicos. Essa corrente depende da passividade da camada de óxido formada por óxidos ou hidróxidos dos elementos metálicos que possuem maior afinidade com o oxigênio. Nos grupos de metais reativos como Titânio, Nióbio, Zircônio e Tântalo e ligas relacionadas, os materiais básicos determinam as propriedades da camada passiva. Williams⁸ sugeriu que três tipos de corrosão eram relevantes ao implante dentário: rachadura por corrosão de tensão, corrosão galvânica e corrosão por desgaste.

Lemos²⁹ mostra que características químicas e eletroquímicas dos poros na superfície das ligas dependem do local de composição, fundição e segregação das fases, presença de óxido, nitrato ou carbide na interface.

2.3 O Titânio como superfície de implante e suas modificações

Reúne características específicas como instabilidade, energia de superfície, biocompatibilidade e maleabilidade. A energia superficial, capacidade de escoamento, permite que o sangue se espalhe homogeneamente sobre o implante facilitando a adesão de rede de fibrina e a proliferação celular, caracterizando sua biocompatibilidade. Esta sequência de qualidades fez do titânio o material de eleição para a maioria dos sistemas de implantes. A instabilidade leva à formação de uma camada de óxido estável que impede que ocorra descarga de íons no organismo.³⁰

O titânio apresenta diferentes graus de pureza, o comercialmente puro (cp) é de escolha. Quatro graus compõem esta apresentação: grau I o mais puro e mais maleável, o grau IV possui contaminantes em quantidades aceitáveis, é o mais rígido. Alguns sistemas

de implante empregam a liga composta de titânio, alumínio e vanádio, por possuir maior resistência mecânica, em geral sistemas que usam plataforma de acentamento protético em hexágono interno.³⁰

As diferenças entre o Ti cp e a sua liga é que essa forma uma camada mais espessa de vários óxidos, e possui menos flexibilidade (resiliência). Entretanto, algumas pesquisas demonstram que não há diferença na qualidade da interface osteointegrada em longo prazo.^{30,8}

Clinicamente, o óxido de Ti é muito estável e inerte, não se quebra sob condições fisiológicas. A superfície do titânio perde essa passividade quando contaminada e o óxido altera sua composição, a resposta inflamatória resultará em um tecido de granulação que levará à perda da osseointegração.³¹

A influência da superfície macroscópica e microscópica na perda óssea marginal de implantes unitários cônicos foi estudada por Norton (1998)³², analisando radiograficamente 33 implantes por um período de quatro anos, em paciente de ambos os sexos e idade variando entre 17 a 71 anos. A camada da superfície de Ti cp foi modificada por jateamento com partículas de óxido de Ti que proporcionou uma rugosidade granular na superfície de 1 a 3 μm . A média acumulativa da perda óssea nos implantes mesial e distal foi de: 0,42mm a 0,4 mm - de um a dois anos; 0,54 e 0,53 de dois a três anos; 0,51 e 0,24 de três a quatro anos; 0,62mm e 0,6mm para implantes passados da revisão de quatro anos.

Ainda nesse ano, Pilar³³ realizou uma revisão de literatura sobre superfície de implantes, textura e porosidade, na qual comparou macroscopia e microscopia, assim como dimensões desta superfície de implantes usinados, jateados com Ti ou liga de Ti, superfície

com ataque ácido, plasma spray de titânio, plasma spray de hidroxiapatita e superfície de liga de Ti com poros ($\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$) na qual conclui que implantes que possuem superfícies porosas ou modificadas quimicamente pareciam ser mais promissores quando comparados com implantes usinados (superfície lisa).

Han *et al.*³⁴, em experimentos com osso de 19 coelhos, por um período de três meses, analisaram quantitativamente e qualitativamente implantes de Ti cp e liga de $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ 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.

Davis (1998)³⁵ 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 arcaboço 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. Concluiu que o tratamento de superfície promove um desenho diferente e otimiza as três fases do reparo.

Orsini (2000)³⁶ em um estudo com 10 implantes usinados e 10 implantes jateados e submetidos a ataque com ácido hidrófluorídrico a 1% e ácido nítrico a 30%, analisados sob MEV, demonstrou a biocompatibilidade dos implantes com tratamento de superfície, e proporcionou uma rugosidade de 2,5 μm a qual melhorou a ancoragem e a osteointegração, assim como a remoção das impurezas e micro-partículas residuais por meio do ataque ácido.

Sykaras³⁷ em uma revisão de literatura com implantes endósseos de diferentes categorias, desenhos e topografias de superfície, analisou os efeitos e significados no processo de osseointegração. Demonstrou que vários parâmetros afetam a histologia e biomecânica, tais como: diâmetro, comprimento, desenho, material, superfície, tempo e local de implantação, entre outros.

Wennerberg e Albrektsson (2000)³⁸ sugeriram um guia para padronizar a evolução topográfica na superfície de implantes orais, que inclui método para medir (confocal LASER scanning), área sugerida para medir (topos, vales e alas em três diferentes áreas medidas) e processo de filtragem (meio para valores da rugosidade).

Hall (2000)³⁹ apresentou um método para modificar a superfície de implantes por meio de diferentes métodos físicos. Na camada de óxido de titânio se dá a criação de poros com modificações de desenhos, espessura, rugosidade e textura. A superfície consistia essencialmente de óxido de titânio, a qual foi parcialmente cristalizada, e apresentou uma excelente qualidade de reter líquidos pela sua topografia, 1 a 2 μm , esta camada é fortemente aderida ao metal e não se desprende durante a colocação do implante.

Larsson (2000)⁴⁰, estudou 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.

Para Carvalho¹⁰ a superfície do implante apresenta um aspecto interessante e importante a ser considerado em virtude da capacidade de receber diferentes tipos de tratamento com o objetivo de melhorar a qualidade da interface, e como defendem alguns pesquisadores diminuir o período não funcional do implante.

Já para Lazzara e Davis⁴¹ a superfície dos implantes proporciona inúmeros estudos na tentativa de melhorar, otimizar e principalmente acelerar a osseointegração.

Proussaef⁴² analisou 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.

Ainda no mesmo ano, Li *et al.*⁴³ 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 por meio 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.

Lim *et al.*⁴⁴ relataram um importante fenômeno: a adesão das células na superfície dos implantes. Foi estudada a relação entre rugosidade e ângulo de contato para analisar energia superficial, em vários tipos de material: Ti cp, liga de Ti (Ti-6Al-4V) e liga de titânio-nickel (TiNi), foi submetido a tratamento mecânico, químico, por oxidação, e mecânico-químico. O ângulo de contato foi medido usando água destilada, cloreto de sódio a 1%, neutrófilos humanos e células osteoblásticas.

Sanz *et al.*⁹ em um estudo experimental 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, mostraram biocompatibilidade do material, aposição óssea sobre a superfície áspera, ausência de tecido fibroso na interface osso/implante, e reabsorção do material usado – fosfato de cálcio grosso que em superfície usinada age como material inerte.

Abrahamsson *et al.* (2001)⁴⁵, em um estudo experimental em cães mostraram a integração no tecido mole e duro em diferentes topografias de implantes: *self tapping standar* e *osseotite* e concluíram que a dimensão vertical peri-implante no tecido mole e o nível de osso marginal foi similar nos dois tipos de implantes analisados, porém a medida do contato osso/implante foi superior no *osseotite*, e a densidade óssea peri-implante foi similar em ambos.

Carvalho *et al.*¹⁰ citam que a superfície usinada é a mais estudada, aquela que não recebe tratamento especial, e os métodos de avaliações mais freqüentes são torque reverso e

histometria. 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 ($\text{HCl}/\text{H}_2\text{SO}_4$) 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* Ti 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.

A formação da camada de óxido de titânio em contato com o ar é em nanossegundos (10^{-9} segundos), após um milissegundo (10^{-6} segundos) a camada cresce e contaminantes do ar podem ser depositados. Em alguns segundos a camada se equilibra e alcança a espessura de 20 a 100 Å (10^{-10} metros), e essa depende de fatores como: tipo de máquina que manufatura a superfície metálica, rugosidade da superfície, tipo de resfriamento durante a usinagem e tratamentos para esterilização. A camada de óxido influencia a reação protética e celular. Assim, a superfície do implante assume um papel fundamental na osseointegração.³⁰

Hayakawa (2002)⁴⁶ em um estudo, *in vivo*, da evolução histológica e histomorfométrica de dois tipos de implantes retirados ainda em função, analisou na interface osso/implante a resposta óssea, um implante de plasma-spray de titânio (TPS) foi removido 5 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.

Trisi⁴⁷ propõe a introdução de uma nova técnica usando histomorfometria para estimar a extensão do contato ósseo entre implante/osso. Foi usado um mesmo implante: metade usinado, metade tratado quimicamente (*osseotite*®), no mesmo paciente, maxila posterior, após 6 meses removido com trefina e analisado com imagem digitalizada, o contato do *osseotite*® mostrou otimamente superior ao usinado, uma superfície com características de osteocondução, o que pode ser a resposta do sucesso clínico apresentado pelo mesmo.

Geurs *et al.*⁴⁸ 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 3 anos. Todos pacientes receberam 3 tipos de implantes: 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.

Luklinska (2003)⁴⁹ estudou 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 hidróxiapatita sintética. Mostrou um caráter bioquímico do compósito formando osso lamelar na interface e a osseointegração do material.

Zechner *et al.* (2003)⁵⁰ por meio 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 12 semanas.

Matsuyama (2003)⁵¹ com o propósito de alterar a superfície de implantes de titânio, usou LASER de Er:YAG e não constatou mudanças significativas na morfologia e coloração da superfície, foi utilizado resfriamento com jatos de água.

Estudos experimentais têm mostrado que implantes com superfícies tratadas podem levar a uma integração mais rápida, um melhor contato osso-implante e maior torque para sua remoção quando comparados a implantes de superfície lisa.^{10,27}

Veis *et al.* (2004)⁵², em estudo histomorfométrico em cães, com 22 implantes (20 testados e 02 controle) metade tratados 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 10mm foram ancorados 5mm em osso basal e no espaço artificial de 2mm preenchido com osso autógeno particulado e coberto com uma membrana reabsorvível (osteoquest[®]) que foi fixada com pinos de fixação (Biotac[®]).

2.4 Tipos de LASER

“Light Amplification by Stimulated Emission Radiation” (LASER), em 1917, Einstein elaborou o fundamento para o LASER por meio da introdução do fenômeno de emissão estimulada. Este fenômeno ocorre pela transição de um átomo para um estado de menor energia sob a influência de radiação eletromagnética.⁵³

O primeiro material a demonstrar a emissão do LASER foi o cristal sintético de rubi. O LASER de rubi (estado sólido) foi desenvolvido por Theodore Maiman em 1960.⁵⁴ Rapidamente após isto, pesquisadores em todo o mundo desenvolveram uma vasta lista de materiais capazes de emitir feixes de LASER. O primeiro LASER gasoso foi de HeNe, desenvolvido em 1961, sendo o primeiro com radiação contínua (não pulsada). Em 1964 foi inventado o primeiro LASER líquido. Um LASER que não se enquadra nestas três categorias mencionadas acima é o LASER de elétron livre (FEL). Esse converte energia elétrica em luz por meio da interação de um feixe de elétrons com campo magnético alternado periodicamente (ondulador). Todos esses produzem densidade muito alta de fluxo em espectro ultravioleta.⁵⁵

O princípio de amplificação está na criação de uma população de elétrons estimulados a saírem do seu estado natural para um estado de maior energia. Quando retornam ao seu estado original, esses elétrons emitem fótons com energia correspondente a de transição do átomo, por meio de um processo em cadeia uma avalanche de emissões estimuladas de fótons, e acontece a amplificação do fenômeno. O feixe de fótons criado pode ser transportado por meio de um espelho semitransparente. Além disso, a luz emitida é altamente monocromática e direcional, permitindo assim se obter um foco extremamente preciso. As propriedades acima mencionadas possibilitam a obtenção de diâmetros micrométricos para o feixe de LASER. Como uma consequência, densidades de potência acima de 10^{10} W/m^2 podem ser obtidas. Para modificações de superfície é necessário ter elevada densidade de potência no feixe, o que restringe os tipos de LASERs para tal finalidade.⁵⁵

Os LASERs, CO₂, Yb-YAG-(*ytterbium-doped-YAG*) e Nd-YAG podem ser usados em aplicações de corte, solda e modificação de superfície. Até recentemente, somente LASER de CO₂ era usado para modificar superfícies. Pelo advento do LASER de alta potência no mercado esta limitação foi eliminada e existe uma tendência atual nas indústrias da troca do LASER de CO₂ pelo LASER de Nd-YAG e Yb-YAG. Isso ocorre pela vantagem de transporte do feixe por fibras óticas flexíveis e a maior absorção do LASER pelo metal para esses últimos, o que compensa a sua menor eficiência com relação ao LASER de CO₂.⁵⁵

2.4.1 Superfície do titânio modificada por LASER:

Um dos processos industriais de modificação de superfície é o processo de injeção de partículas a LASER, geralmente com de intensidade alta, com 2 KW ou mais de potência. O feixe de LASER é transportado por meio de fibra ótica resultando em uma distribuição homogênea de intensidade. Após sair da fibra ótica, o feixe é colimado de forma a focar a amostra no diâmetro desejado. Entre o sistema de lentes e a amostra existe o soprador de gás que tem por função gerar uma armadura de gás inerte para proteger as lentes e evitar a oxidação da superfície da amostra.⁵⁶⁻⁵⁹

Srivastava *et al.*⁶⁰ estudaram a relação entre a microestrutura e os parâmetros do LASER de baixa intensidade 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.

Petö *et al.* (2002)¹⁵ irradiaram a superfície de implantes de titânio usinados e jateados com Al_2O_3 sob efeito do LASER pulsado de alta intensidade, 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, por meio 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.

György *et al.*¹⁶ utilizando LASER de alta intensidade com pulso simples, em amostras de titânio de alta pureza, demonstraram que os parâmetros de potência do feixe aplicado influenciaram na fusão da superfície.

Em estudos de oxidação por LASER em superfície de titânio Lavisse¹⁷ obteve-se as seguintes conclusões: a camada fundida tem sua espessura dependente da quantidade de emissões no mesmo local da superfície; fases ricas em oxigênio são obtidas devido à difusão de O_2 na zona irradiada da superfície; na zona termicamente afetada, a difusão do O_2 forma uma estrutura ordenada de Ti_6O , Ti_3O , Ti_2O com parâmetros de rede anômalos.

Já Pérez Del Pino *et al.*^{61,62}, irradiando titânio com LASER alta intensidade ao ar pulsado, obtiveram diferentes camadas de óxidos com cores uniformes, por meio 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.

Com relação à formação de camada protetora de TiN por feixe de LASER, Selamat *et al.* ⁶³ utilizaram emissão de LASER de baixa intensidade a 5KW sob atmosfera de 20% N_2 e 80%Ar em amostras de $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$, sob XRD (Rx difração), XPS (Rx espectroscópio fotoelétrico) e MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura) verificaram a formação de uma camada dourada com as seguintes características: a. Composição de α' -Ti e TiN_x , onde por XRD $x=0,75$ e por XPS x variou de 0,5 a 0,8; b. Formação de dendritas de TiN na superfície da camada com dureza na faixa de 500 a 800 Vickers.

Sob irradiação pulsada de LASER de alta intensidade, em atmosfera de N_2 , com amostras de titânio, a análise por XRD, XPS, Raman e MEV apresentou uma simples fase tetragonal δ' - Ti_2N nas camadas formadas com 2,5 μm de espessura, apresentando uma coloração dourada e uma superfície morfologicamente uniforme, sem micro-fraturas ou defeitos, e boa aderência no titânio. ⁶⁴

Quanto à formação de intermetálicos com adição de um terceiro elemento, Garcia *et al.* ⁶⁵ utilizando LASER de baixa intensidade com 5KW de potência em substrato de titânio e jateando alumínio em pó na zona fundida sob atmosfera de N_2 , verificaram a formação de diversas fases intermetálicas como TiAl_3 , $\text{Ti}_5\text{Al}_{11}$, TiN , Ti_2N e Ti_2AlN na camada formada. Uma estrutura dendrítica (arborizações formadas por cristais de metais ou de óxidos metálicos espalhados em ramificações à superfície) refinada, identificada como

nitreto de titânio com menos de 2% de alumínio, apresentou-se reforçando a cobertura intermetálica de alumínio-titânio.

György⁶⁶ utilizando LASER pulsado de alta intensidade com níveis de intensidade que não levassem à fusão superficial em amostras de titânio, mostrou que após um certo número de pulsos uma nova micro-estrutura se forma com a acentuação de rugosidade na superfície, e que a continuidade da emissão do feixe leva ao “alisamento” da mesma com formação micro-estrutural dendrítica. Este fenômeno incomum está relacionado com o aumento da intensidade da irradiação efetivamente absorvida pela amostra, isto se dá devido ao número maior de pulsos recebidos e por decorrência a fusão com posterior cristalização formando dendritos.

Moritz *et al.*⁶⁷ estudaram o efeito da aplicação de feixe de LASER de CO₂ sobre camadas de TiO₂, previamente depositadas em substrato de vidro e de titânio, quanto às características de depósito posterior de HA sob imersão em solução SBF (Simulação dos fluidos corporais). Concluíram que porosidades e espessuras da camada podem ser adequadas por meio dos parâmetros do feixe de LASER aplicado, acima de 18 W de potência, e o tratamento a LASER oferece uma nucleação mais rápida de HA em SBF quando comparado com a superfície de TiO₂ termicamente tratada em forno. A aplicação do LASER sobre a camada de TiO₂ também serve para a desinfecção da mesma.

Com o propósito de diminuir a fricção no contato do Ti com a cerâmica Courant *et al.*⁶⁸ modificaram a superfície do Ti por meio do uso de LASER de alta intensidade com amostras recobertas com pó de carbono, obtiveram uma superfície formada por carbetos de titânio e inclusão de carbono que reduziu drasticamente a fricção a seco e o desgaste.

A formação de dendritos de TiN na superfície de Ti₆Al₄V, por meio de feixe de LASER de CO₂, sob atmosfera de N₂, demonstrou uma melhora na resistência ao desgaste sob as condições de fricção a seco.⁶⁹

Yue *et al.*⁷⁰ visando a melhoria de resistência à corrosão do Ti-6Al-4V bifásico (α e β), irradiaram amostras por feixe pulsado de LASER KrF sob atmosfera de argônio e nitrogênio. As superfícies obtidas apresentaram relativamente lisas e livre de trincas, foram analisadas por TEM. Especificamente para implantes alguns estudos já foram realizados buscando correlacionar a irradiação por feixe de LASER destes produtos com o resultado funcional da osseointegração.

Cho e Jung⁷¹ observaram que a superfície tratada por LASER em implantes roscáveis ofereceu um valor de torque para a remoção do tecido ósseo integrado de 62,57 Ncm contra 23,58 Ncm para os não tratados, após 8 semanas da implantação em tíbias de coelhos.

Outro estudo onde se utilizou LASER de alta intensidade para irradiar a superfície de implantes que foram inseridos em coelhos (Nova Zelândia), Hallgren⁷² comprovou, por meio da técnica de histomorfometria, que após 12 semanas a quantidade de tecido calcificado depositado nas roscas do implante irradiado foi maior do que os depositado nos implantes não irradiados.

György *et al.*¹¹ analisaram a composição química da superfície do titânio após múltiplos pulsos de irradiação de LASER de alta intensidade, sob atmosfera de ar. A intensidade do LASER foi abaixo do ponto de fusão do titânio. A composição química da estrutura foi estudada quanto ao número de pulsos, como também a intensidade, ambos na

camada superficial e em profundidade. Micro-Ramam spectroscopy, (AES), (WDX) foram usados para diagnóstico da técnica e MEV foi usado para estudo morfológico. Obteve baixa concentração de oxigênio no centro da estrutura quando comparado com as bordas, e baixa concentração na superfície comparando com a profundidade.

De Giacomo⁷³ estudou o poder do LASER e a velocidade de travessia sobre a microestrutura de Ti_6Al_4V , assim como a porosidade e os picos da superfície. Foi usado o LASER Engineered Net Shaping (LENSTM) System e concluiu: o LASER depositado sobre Ti_6Al_4V é caracterizado por alta temperatura, as altas taxas de resfriamento aumentaram as deformidades da microestrutura; a falta de fusão e a porosidade diminuíram com aumento da velocidade de travessia da força equilibrada; o tipo de porosidade formado prevalece mais quando substrato fino foi usado; todos os picos diminuíram com o aumento da velocidade. A porosidade, falta de fusão, pode afetar muita a condição de solidificação e resultar na formação de picos durante a deposição do LASER.

A ablação da superfície por LASER é fácil de administrar, apresenta baixo custo, limpa e reprodutível, a fusão e a solidificação rápida produz irregularidades uniformes na meta e pode ser contraladas por vários fatores, tais como parâmetro de feixes de LASER e atmosfera durante irradiação. Concordando com a descrição de vários autores^{6,7,8,9,10,11,17}, o tratamento a LASER parece ser um método promissor para os implantes dentários, resultando em uma precoce osseointegração.

2.5 Cerâmica de Fosfato de Cálcio

Diversos tipos de biomateriais especialmente as biocerâmicas de fosfato de cálcio, continuam sendo pesquisadas e cada vez mais são utilizadas em procedimentos para a

reconstrução e recomposição tecidual, devido às suas características e propriedades, principalmente biocompatibilidade, osteocondutibilidade, osteoindutibilidade intrínseca e ainda pela sua semelhança estrutural, química e física com a matriz mineral óssea.⁷⁴

Essas biocerâmicas não induzem qualquer reação imunológica ou tóxica indesejáveis quando utilizadas, ao contrário de outros materiais como os de origem orgânica. Não apresentam riscos de transmissão de patologias infecto-contagiosas e degradação protéica em razão de suas características e por apresentarem alta pureza em decorrência de seu processo de obtenção que apresenta rígido e sistemático controle de acordo com os padrões exigíveis.⁷⁵

Há uma grande variedade de materiais de fosfatos de cálcio ofertados para uso na medicina, odontologia e veterinária, suas características e propriedades físico-químicas induzem uma resposta biológica específica, o que requer indicações e aplicações adequadas.²⁰

Pelo grande número de materiais cerâmicos utilizados como biomateriais e os diversos aspectos envolvidos na interação com os tecidos vivos, procura-se classificá-los em grupos. Assim, em termos gerais, as biocerâmicas são classificadas como bioinertes e bioativas.⁷⁶ De acordo com a Conferência da Sociedade Européia para biomateriais, realizada na Inglaterra, em 1986,²⁵ o termo bioinerte não é adequado, já que todo material induz algum tipo de resposta do tecido hospedeiro. No entanto, o termo ainda é comumente utilizado e definido como um material que representa uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou rejeição do tecido hospedeiro, podendo formar uma cápsula fibrosa ao seu redor. Como exemplo de cerâmicas bioinertes tem-se: alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$),

zircônia (ZrO_2) e dióxido de titânio (TiO_2)⁷⁶⁻⁸⁰. Por outro lado uma cerâmica bioativa é definida como aquela que induz uma atividade biológica específica, como a hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, o fosfato tricálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e os biovidros.²⁵

A HA merece um destaque por ser o constituinte principal da fase mineral dos tecidos calcificados. É um fosfato cerâmico ou biocerâmica que tem composição e estrutura similar a fase mineral de ossos e dentes.⁷⁹ O seu equivalente sintético possui propriedades de biocompatibilidade e de osseointegração o que coloca esse material entre os mais importantes substitutos do osso humano em implantes e próteses. Nas aplicações tecnológicas, a HA é utilizada no preenchimento de cavidades, em forma de grãos densos ou porosos, bem como no revestimento de implantes metálicos, esses geralmente feitos de titânio. Nesse último caso, procura-se melhorar as características dos implantes, combinando-se a resistência mecânica do metal à atividade biológica do material cerâmico, como ilustrado na figura1.²⁸

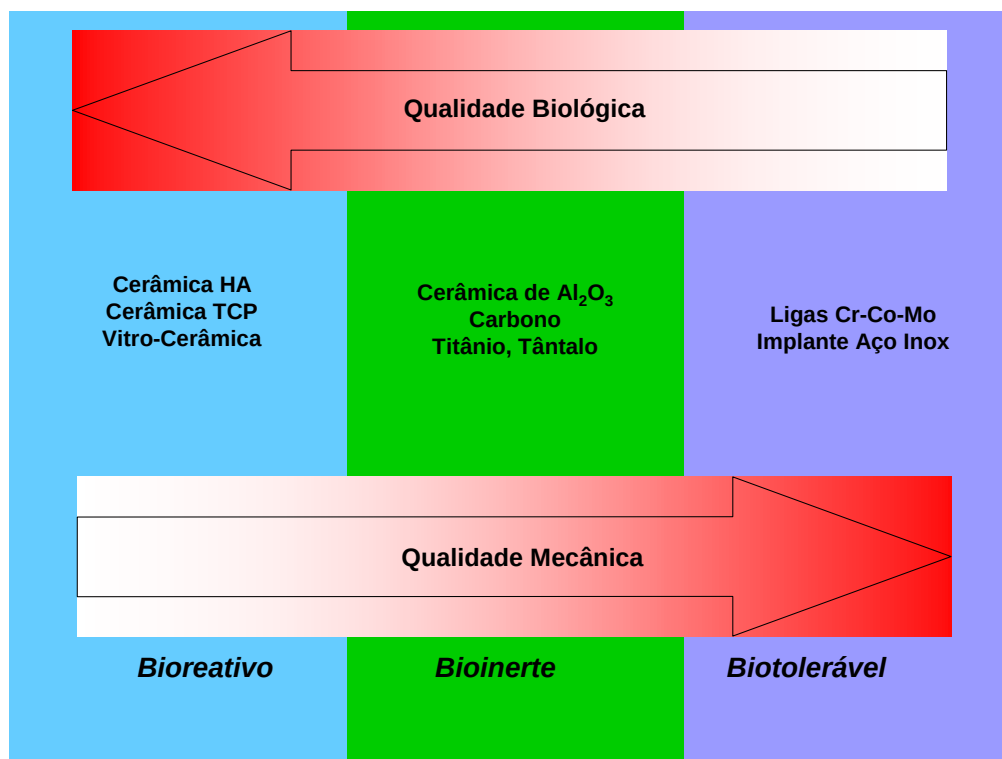


Figura 1: Representação esquemática das propriedades biológica e mecânica dos diferentes materiais utilizados como biomateriais.²⁸

As propriedades químicas da HA podem ser modificadas por meio do método de sua preparação. Para implantes ósseos ou dentários, com grande tempo de vida útil, é empregado um material pouco solúvel, constituído por hidróxiapatita pura. Quando se deseja que o implante seja reabsorvido pelo corpo cedendo lugar ao tecido ósseo novo utiliza-se uma cerâmica mais solúvel, geralmente constituída por uma mistura de hidróxiapatita com outros fosfatos de cálcio⁸⁰. Uma forma conveniente de classificar os vários fosfatos de cálcio é por meio de sua razão molar entre cálcio e fósforo, como ilustrado no quadro II. Vários fosfatos de cálcio que possuem razão variando de 0,5 a 2,0 podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons cálcio e fosfato, sob condições alcalinas ou ácidas.⁸¹ Estes fosfatos podem ser transformados em cerâmicas

biocompatíveis e osteocondutoras (capacidade para fazer que o crescimento ósseo ocorra sobre a superfície do material).⁷⁶

Quadro II : Vários tipos de Fosfatos de cálcio.⁸²

Ca/P	Fórmula	Nome	Abreviação
2,00	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	Fosfato tetracálcico	TTCP
1,67	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita	HÁ
1,67	$\text{Ca}_{10-x}\text{H}_{2x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita deficiente em cálcio ou fosfato de cálcio amorfo	ACP
1,50	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Fosfato tricálcico (α, β, γ)	TCP
1,33	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Fosfato octacálcico	OCP
1,00	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Hidrogeno fosfato de cálcio dihidratado	DCPD
1,00	CaHPO_4	Hidrogeno fosfato de cálcio	DCP
1,00	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Pirofosfato de cálcio (α, β, γ)	CPP
1,00	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Pirofosfato de cálcio dihidratado	CPPD
0,70	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})\text{O}_2$	Fosfato heptacálcico	HCP
0,67	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	Dihidrogeno fosfato tetracálcico	TDHP
0,50	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fosfato monocálcico monohidratado	MCPM
0,50	$\text{a}(\text{HPO}_3)$	Metafosfato de cálcio	CMP

2.5.1 Método Biomimético:

O método denominado biomimético foi introduzido por Abe⁸³, é uma das técnicas mais promissoras para produção de biomateriais sob condições ambiente. É possível recobrir materiais de formas complexas, como os porosos, e sensíveis a temperaturas, como

polímeros. Além disso, com esta técnica pode-se recobrir implantes com diferentes fases de fosfatos de cálcio, as quais possuem características benéficas para formação óssea.^{83,84,75}

Este método consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética Simulação dos Fluidos do Corpo (SBF - Simulated Body Fluid) de composição iônica semelhante à do plasma sanguíneo. Em anexo com o substrato coloca-se uma placa de vidro de composição, MgO 4,6, CaO 44,7, SiO₂ 34,0, P₂O₅ 16,2, CaF₂ 0,5 % em peso, denominado vidro G bioativo. Este é colocado a uma distância de aproximadamente 0,5 mm do substrato. Depois de mantido o sistema durante 7 dias a 36,5°C é depositado uma camada contínua e homogênea de 1µm de espessura composta por cristalitos de HA biológica muito finos e de aparência fibrosa. Por meio da re-imersão durante 7 dias em uma solução 1,5 vezes mais concentrada do que a primeira obtém-se um aumento na espessura da camada até 15µm.⁸³

A caracterização do recobrimento demonstrou que se tratava de uma hidroxiapatita carbonatada, CO₃-HA, de baixa cristalinidade, muito semelhante a da HA biológica presente no tecido ósseo natural. Abe *et al.*⁸³ propuseram o seguinte mecanismo de recobrimento, Figura 2. Os íons silicatos presentes no vidro G dissolvem-se e adsorvem-se sobre o substrato. Ocorre a nucleação de HA sobre os íons silicatos adsorvidos. Os núcleos de HA crescem graças ao SBF supersaturado com relação a HA produzindo-se o recobrimento do substrato (1 µm de espessura). A espessura da camada aumenta (até 15 µm) devido ao SBF 1,5 vez mais concentrado. Este mecanismo parece concordar com estudos sobre a formação de HA sobre sílica gel no qual se atribui um papel fundamental na formação de HA aos grupos silanóis (SiOH) presentes na superfície do gel.⁸⁵⁻⁸⁶

Após a descoberta de Abe *et al.* muitos estudos foram realizados utilizando o processo biomimético, com pequenas alteração no método na busca de um recobrimento de HA com características mais próximas da HA biológica, otimizando as propriedades mecânicas e o tempo despendido no processo .^{23,83,87-89}

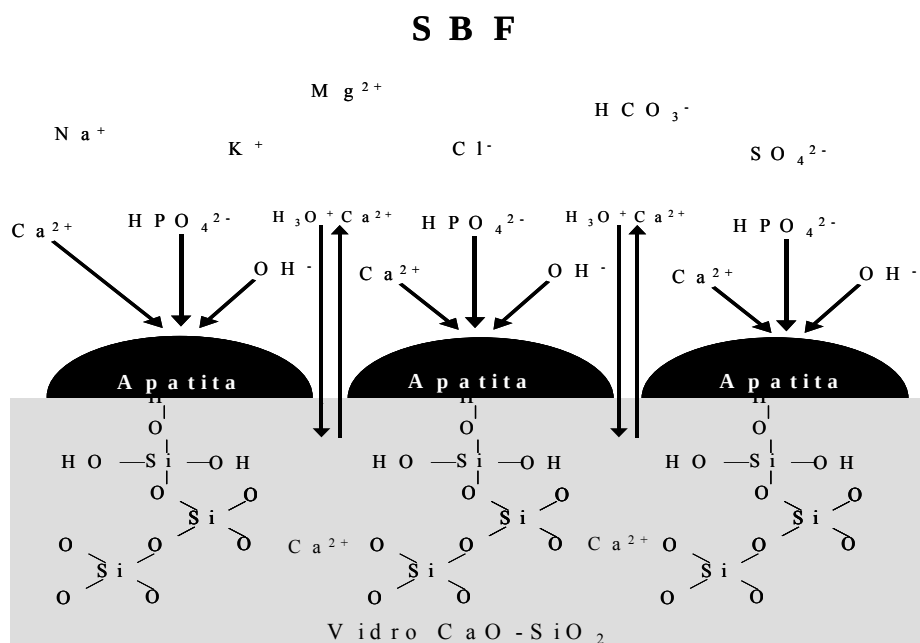


Figura 2: Mecanismo da formação de apatita sobre superfícies de vidros a base de CaO-SiO_2 e vitro-cerâmicas.⁸³

Kokubo⁹⁰ pode observar o crescimento de HA “biológica” sobre um substrato polimérico colocado em SBF separado 0,5 mm de uma placa de sílica gel e em seguida imerso em SBF 1,5 vezes mais concentrado. Quando o primeiro tratamento com sílica gel foi omitido observou-se que após a imersão em 1,5 SBF nada acontecera, indicando que os íons silicatos dissolvidos da sílica gel e adsorvidos sobre a superfície do polímero induziram a nucleação da HA “biológica”. Constatou-se que quando a sílica gel foi

substituída por um vidro a base de CaO-SiO_2 essa nucleação pode ser acelerada pelos íons Ca dissolvidos do vidro.

Rigo *et al.*⁹¹ substituíram a etapa do tratamento em presença de vidro G no procedimento de Abe *et al.* por imersão em uma solução de silicato de sódio. Discos de $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ foram imersos em 1,5 SBF, constatando-se a formação de uma camada de HA carbonatada similar à reportada por Abe *et al.* .

Um novo processo de nucleação utilizando uma simples solução de silicato de sódio foi proposto por Miyaji *et al.*⁹². Com este tratamento facilitaria o recobrimento de qualquer tipo de material e de formas mais complexas. Neste trabalho foi estudado o efeito da concentração da solução de silicato de sódio, mostrando que com o aumento da concentração desta solução a formação de apatita é mais efetiva.

Barreré e outros⁸⁴ modificaram a solução de SBF adicionando íons CO_3^{2-} e Mg^{2+} e estudaram a influência desses íons na deposição da apatita. Eles concluíram que ambos atuaram como inibidores de crescimento de cristais. Na presença de Mg^{2+} o depósito de apatita foi composto de cristais deficiente em Ca e a adição de HCO_3^- levou à formação de HA carbonatada.

A influência do valor de pH e da concentração dos íons Ca sobre o processo de precipitação de HA foi avaliado por Feng *et al.*⁹³, os quais demonstraram a necessidade da supersaturação da solução, próxima da concentração crítica do fosfato octacálcico, e com um valor de pH próximo a 7,4.

Pham *et al.*⁹⁴ estimularam a superfície do titânio para promover a nucleação da HA por meio da incorporação de íons sódio utilizando uma energia entre 18-22 keV para um depósito com uma espessura de aproximadamente 100 nm. A camada de titanato de sódio formada sobre a superfície foi devida à reação do íon sódio com o titânio na presença de oxigênio. Este tratamento mostrou-se muito efetivo para nucleação e crescimento da HA utilizando o método biomimético.⁸³ Um outro tipo de modificação de superfície muito parecido com o anterior foi estudado por SHI *et al.*, que utilizaram a técnica de plasma spray para o depósito de uma camada de Ti sobre o substrato de Ti-6Al-4V. Após o depósito da camada, o substrato recebeu um tratamento em uma solução de NaOH, obtendo sobre a superfície uma camada do hidrogel à base de titanato de sódio.

Recentemente, modificação da superfície do titânio durante o tratamento químico e posteriormente o depósito de HA pela solução SBF tem sido estudada.

Kanekos, *et al.*⁹⁵ puderam observar a formação da HA sobre Ti cp, quando este é tratado com uma solução de H₂O₂ contendo cloreto de tântalo, constatando que o titânio tratado quimicamente possui uma forte ligação com o osso quando comparado com o titânio não tratado. Atribuindo a forte ligação ao alto poder de osteocondução e/ou ao contato direto com o osso.

Wen *et al.*³¹ realizaram o tratamento em duas etapas na superfície do titânio com HCl/H₂SO₄ antes do tratamento com NaOH, produzindo uma superfície bioativa pela formação de microporos e uma rápida nucleação da HA. Concluindo que o tratamento

químico da superfície do titânio, pode ser um caminho efetivo e de baixo custo para aplicações clínicas de recobrimentos de fosfatos de cálcio sobre metais.

Kokubo *et al.*⁹⁰ demonstraram que superfícies de titânio e suas ligas, em soluções alcalinas e com tratamento térmico produzem uma apatita similar à humana quando imersas em uma solução sintética de composição iônica semelhante à do plasma sanguíneo, SBF (*Simulated Body Fluid*). O NaOH resulta na formação de uma camada de gel hidratada de titanato contendo íons alcalinos em sua superfície. Este gel é desidratado e densificado para formar uma camada de titanato alcalino amorfo por meio do tratamento térmico a 600 °C. Quando esta superfície é colocada em SBF, os íons alcalinos são liberados da superfície de titanato e os íons H_3O^+ entram na superfície resultando na formação do hidrogel de óxido de titânio. A liberação dos íons Na^+ aumenta a concentração da solução SBF e pelo aumento do pH e do óxido de titânio há nucleação da apatita na superfície do titânio.

3. OBJETIVO

- **Objetivo geral:**

Estudar a superfície e a osseointegração de implantes de titânio modificados por LASER, com e sem deposição de hidroxiapatita, em coelhos.

- **Objetivos específicos:**

Estudo topográfico, biomecânico e histológico de implantes de titânio modificados por LASER, com e sem deposição de hidroxiapatita, em coelhos.

4. MÉTODO

Considerando os aspectos éticos e legais o protocolo desta pesquisa foi submetido e aprovado sob o n.:121/2006 pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, e está disponível no anexo I deste trabalho.

4.1 Amostra

30 coelhos brancos (*Oryctolagus cuniculus*), raça nova Zelândia, variação *albinus*, com idade de aproximadamente cinco meses, machos, de peso entre 3 e 4 Kg foram utilizados para este experimento. Os animais passaram por um controle sanitário prévio para aclimação por 10 dias no biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP com temperatura e iluminação ambientes estáveis (ciclo dia/noite), higiene diária controlada, em gaiolas individuais e suspensas com 80 cm³, que possibilitou espaço suficiente para sua movimentação e descanso. A dieta foi realizada com ração sólida (Procoelho, Primor[®]) própria da espécie e água à vontade durante todo o experimento. Os animais ficaram isolados para certificar de que esses permaneceram estáveis e saudáveis, mantendo contato apenas com as pessoas envolvidas no trabalho.⁹⁶⁻⁹⁹

4.2 Preparo das superfícies testes (discos e parafusos):

Foram utilizados 30 parafusos de implantes de titânio comercialmente puro (Ti) e confeccionados 30 discos de Ti. Os discos mensuravam 14,0 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, os parafusos, 10mm de comprimento e diâmetro de 3,75mm e hexágono externo, - (TitaniumFix, São José dos Campos/SP, Brasil)[®]. As superfícies receberam tratamentos diferentes conforme os grupos, como descritos a seguir:

- 1- Grupo I - implante de Ti com superfície usinada; grupo controle - **GI.**
- 2- Grupo II - implante de Ti com superfície usinada, modificada por Feixe de LASER;
GII.

- 3- Grupo III - implante de Ti com superfície usinada, modificada por Feixe de LASER associada à deposição de HA pelo método biomimético; **GIII**.

4.2.1 Modificação da Superfície por Feixe de LASER (discos e parafusos)

Para análise topográfica da rugosidade, ângulo de contato e difração de RX, foram confeccionados primeiro corpos de prova de Ti, usinados no formato de discos. Em seguida foram polidos com lixa de granulação 600. Após a usinagem, as amostras foram submetidas ao processo de limpeza em ultrassom com solução detergente, álcool, acetona e lavadas em água destilada. A confecção de discos de titânio se deve ao fato que algumas análises não podem ser realizadas em superfícies não planas como os parafusos, esses estudos incluíram: Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Espectroscopia por energia dispersiva de raios X (EDX), Difração de Raio X (DRX), ângulo de contato (molhabilidade) e rugosidade média.

A irradiação por feixe de LASER foi realizada utilizando-se o equipamento de LASER Yb pulsado 20W pulsado (Pulsed Ytterbium Fiber LASER, Sistema Omnimark 20F, Ominitek Tecnologia Ltda, São Paulo, Brasil), em temperatura ambiente.

Um estudo⁵⁹ inicial foi realizado empregando-se diferentes parâmetros de aplicação do LASER, onde foram estabelecidos parâmetros fixos de frequência de pulso (35KHz) e potência (255mJ). A distância focal, a velocidade de varredura, o espaçamento entre as varreduras e o diâmetro do feixe eram fixos e pré-estabelecidos pelo fabricante do equipamento.

Os implantes de Ti (parafusos) com superfície usinada também receberam tratamento de superfície, foram fixados em um torno rotatório, sob o aparelho de LASER Yb (figura

5). O feixe de LASER foi projetado sobre toda a superfície das roscas (espiras) do implante, buscando-se a obtenção de uma superfície rugosa e homogênea.

4.2.2 Modificação da Superfície por Feixe de LASER e recobrimento por deposição de HA pelo Método Biomimético modificado²³(discos e parafusos)

O grupo de amostras recobertas com HA foi irradiado previamente com o objetivo de aumentar a interação química da HA com a superfície de titânio. As amostras foram preparadas pelo mesmo operador.

Para o recobrimento por deposição de HA os substratos foram lavados com álcool, acetona e água deionizada durante 10 minutos, em ultrassom, para retirar as possíveis impurezas adquiridas no contato do implante no momento de irradiação pelo feixe de LASER. Em seguida, as amostras foram imersas em 50 mL de solução de NaOH ($5,0 \text{ Mol.L}^{-1}$) na estufa por um período de 24 horas a 60°C , para a ativação da superfície do implante. Os implantes foram mantidos em estufa por um período de 3 horas a 60°C , para secagem da superfície.

Posteriormente, os implantes foram imersos em SBF modificada, que simula os fluidos corpóreos por apresentar composição iônica semelhante ao do plasma sanguíneo. Os implantes permaneceram imersos nesta solução por um período de 4 dias, em estufa a 37°C e pH 7,25, para a formação de uma apatita uniforme e homogênea sobre a superfície do implante. O quadro III ilustra as concentrações iônicas da solução utilizada. A SBF modificada foi trocada a cada 24 horas para que fosse mantida a quantidade de íons em solução.

Quadro III: Concentrações iônicas das soluções utilizadas para o recobrimento de HA (mmol.dm³)

	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	HPO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻
Plasma Sanguíneo	142,0	5,0	2,5	1,5	27,0	103,0	1,0	0,5
SBF	142,0	5,0	2,5	1,5	4,2	148,0	1,0	0,5
SBF modificada	140,4	-	3,1	-	5,0	142,9	1,86	-

Após a realização das modificações da superfície, os implantes foram enviados à empresa (Titanium Fix , São José dos Campos/SP, Brasil)[®], para esterilização por radiação gama.

4.3 Delineamento experimental:

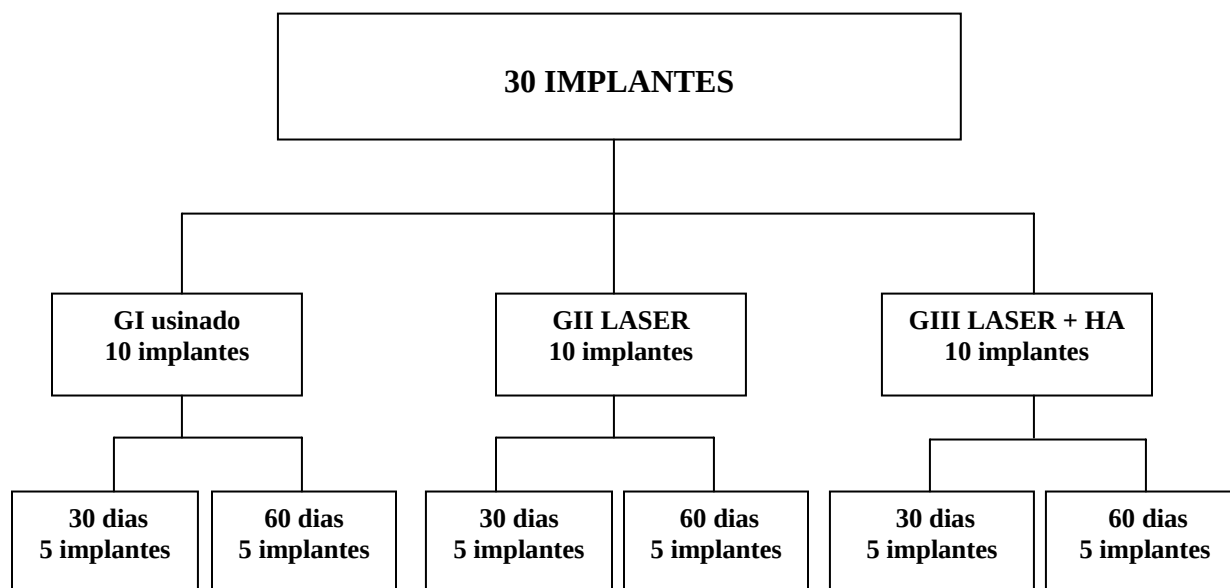


Figura 10: Organograma mostrando a distribuição dos grupos e dos períodos de avaliações pós-cirúrgico (30 e 60 dias).

4.4 Análise topográfica: MEV, EDX, DRX, ângulo de contato e rugosidade média (discos):

4.4.1 MEV e EDX

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) produz imagens de alta ampliação e resolução. As imagens possuem um caráter virtual, o que é visualizado no monitor é a transcodificação da energia emitida pelos elétrons, ao contrário da radiação de luz. O princípio de funcionamento do MEV consiste na emissão de feixes de elétrons por um filamento capilar de tungstênio (eletrodo negativo), mediante a aplicação de uma diferença de potencial que pode variar de 0,5 a 30 KV. Essa variação de voltagem permite a variação da aceleração dos elétrons, e também provoca o aquecimento do filamento. A parte positiva em relação ao filamento do microscópio (eletrodo positivo) atrai fortemente os elétrons gerados, resultando numa aceleração em direção ao eletrodo positivo. A correção do percurso dos feixes é realizada pelas lentes condensadoras que alinham os feixes em direção à abertura da objetiva. A objetiva ajusta o foco dos feixes de elétrons antes dos elétrons atingirem a amostra analisada.

A caracterização físico-química das superfícies foi realizada por MEV associada à análise quantitativa por espectroscopia por energia dispersiva de raios X - EDX. Os implantes com os diferentes tipos de superfície foram analisados utilizando-se o MEV Philips XL Series, modelo XL 30 TMP, acoplado ao EDX, utilizando-se ouro como material condutor. O EDX possibilita a observação do espectro inteiro de raios X de modo simultâneo à observação das imagens tridimensionais, o que permite a análise qualitativa e

semi-quantitativa dos constituintes principais da amostra, ou seja, o mapeamento da composição química das diferentes superfícies.

4.4.2 DRX

A composição cristalina das apatitas, assim como os tipos e fases de óxidos formados foram analisados via difratometria de raios X - DRX. Esta técnica cobre várias investigações, incluindo análises de fases qualitativas e quantitativas, determinação da cristalinidade, micro- identificação, determinação de parâmetros de rede, caracterização de filmes finos, e, em alguns casos, análise da estrutura do cristal¹⁰⁰. No presente trabalho, utilizou-se um difratômetro de raios X SIEMENS D5000 com varredura angular entre 4 e 70°, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu (ka1) com passo de 0.05 (2 θ), sendo que o tempo de passo foi de 1,0 segundo para cada amostra. A identificação das fases de apatita presentes nos recobrimentos foi realizada comparando-se os dados obtidos com as fichas padrões da base de dados mantida pelo CPDS, “Committee for Powder Diffraction Studies 2003”.

4.4.3 Rugosidade média (R_m)

A rugosidade média de cada superfície foi analisada utilizando-se os corpos de prova em formato de discos em um rugosímetro digital (Mitutoyo SJ-400, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, Brasil)[®]. Cada disco foi mensurado em 10 pontos. Estes mesmos discos foram analisados em seção vertical, por MEV, para a determinação da espessura da modificação em 20 diferentes regiões ao longo da imagem por meio do programa de *software*. *Image Tool* (versão 3) (fig. 3).

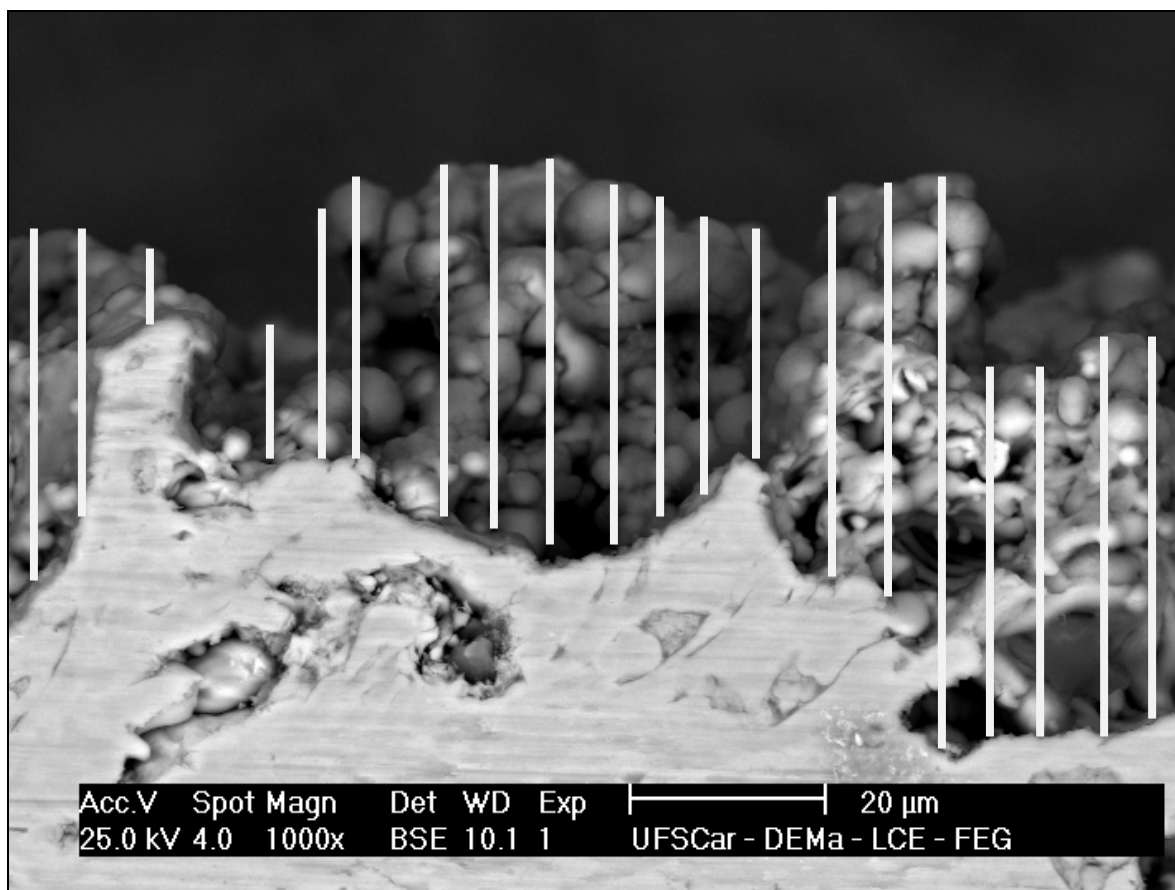


Figura 3: Fotomicrografia em aumento de 1000X ilustrando corte vertical do disco de titânio do GIII e a mensuração da espessura média do tratamento da superfície realizada em 20 pontos - MEV (UFSCar –São Carlos-SP).



Figura 4: Fotografia ilustrando o aparelho de rugosímetro – utilizado para análise da Rm (Contact AngleSystem, video-based Dataphysics) - (FOAr UNESP-Araraquara-SP).

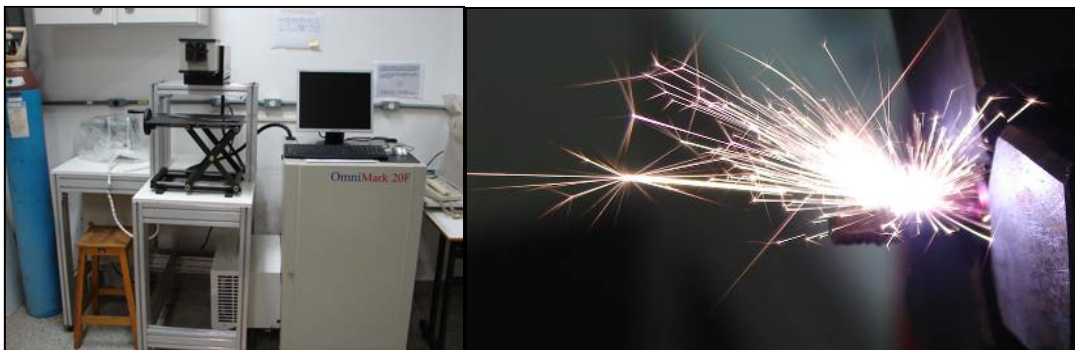


Figura 5: Fotografia ilustrando o aparelho de LASER de alta intensidade e o Implante de titânio sob ação do LASER (Instituto de Química de Araraquara – UNESP Araraquara- SP).

4.4.4 Medidas de ângulo de contato

A medida do ângulo de contato de uma gota de um líquido de interesse numa superfície tem sido usada para caracterizar a molhabilidade desta superfície, conforme apresentado no Quadro 4. A molhabilidade da superfície de um implante pode descrever a interação deste com as biomoléculas e células presentes no meio biológico¹⁰¹⁻¹⁰².

Quadro IV: Referências de ângulos de contato e condições de molhamento¹⁰¹

$X = 0$	<i>molhamento completo</i>
$0 < X < 90^\circ$	<i>molhamento parcial</i>
$X > 90^\circ$	<i>não há molhamento</i>

No presente trabalho foi utilizado um equipamento (*Contact Angle System, vídeo-based Dataphysics*, modelo OCA-15) controlado por *software*. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, e a água destilada foi utilizada como líquido de medida, sobre os discos de titânio. A leitura do ângulo de contato foi realizada 20 segundos após

deposição da gota na superfície das amostras para estabelecimento do equilíbrio das forças envolvidas, a mensuração de cada amostra foi repetida 3 vezes para obtenção do valor médio do ângulo de contato (θ) das diferentes superfícies (fig. 6).

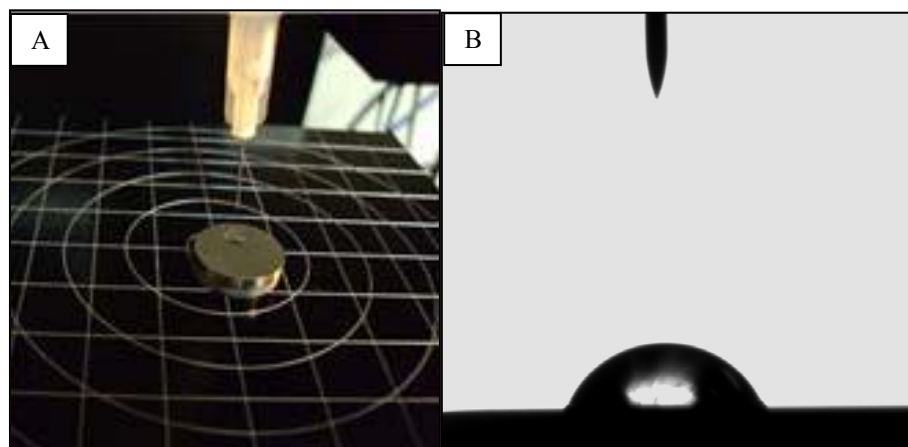


Figura 6: Fotografia ilustrando a mensuração do ângulo de contato no grupo controle GI. A) Nota-se uso de discos de titânio para possibilitar a análise. B) Imagem projetada pelo computador ilustrando molhamento parcial da superfície GI, formação de ângulo de contato entre a gota e a superfície.

4.5 Cirurgia Experimental:

4.5.1 Técnica Cirúrgica:

Previamente ao procedimento cirúrgico os animais foram mantidos em jejum por oito horas e anestesiados pela combinação de 50mg/Kg de quetamina via intramuscular (Vetaset – Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil)[®] e 5mg/Kg de cloridrato Xilazina, (Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda – Osasco, São Paulo, Brasil)[®].

Em seguida realizou-se epilação no local da incisão e antissepsia com polivinil pirrolidona iodo degermante (PVP-I a 10% Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto)[®]. Campos estéreis foram usados para a manutenção da assepsia cirúrgica.^{18,19}

A região da incisão recebeu anestesia local de mepivacaína a 2% com adrenalina 1/100.000 (Scandicaine-Septodont, França)[®] 0,3ml/Kg., a fim de proporcionar menor sangramento durante o procedimento cirúrgico (fig. 7a).⁹⁶⁻⁹⁸

Incisão com lâmina nº15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japan)[®] montada em cabo de bisturi nº03, realizada em pele e músculo e periósteo com 3 cm de comprimento iniciando nas metáfises das tíbias direita e esquerda e estendendo-se distalmente no sentido longitudinal, em seguida foi realizada divulsão do tecido mole em espessura total, expondo o tecido ósseo para instalação dos implantes (fig. 7b, 7c).

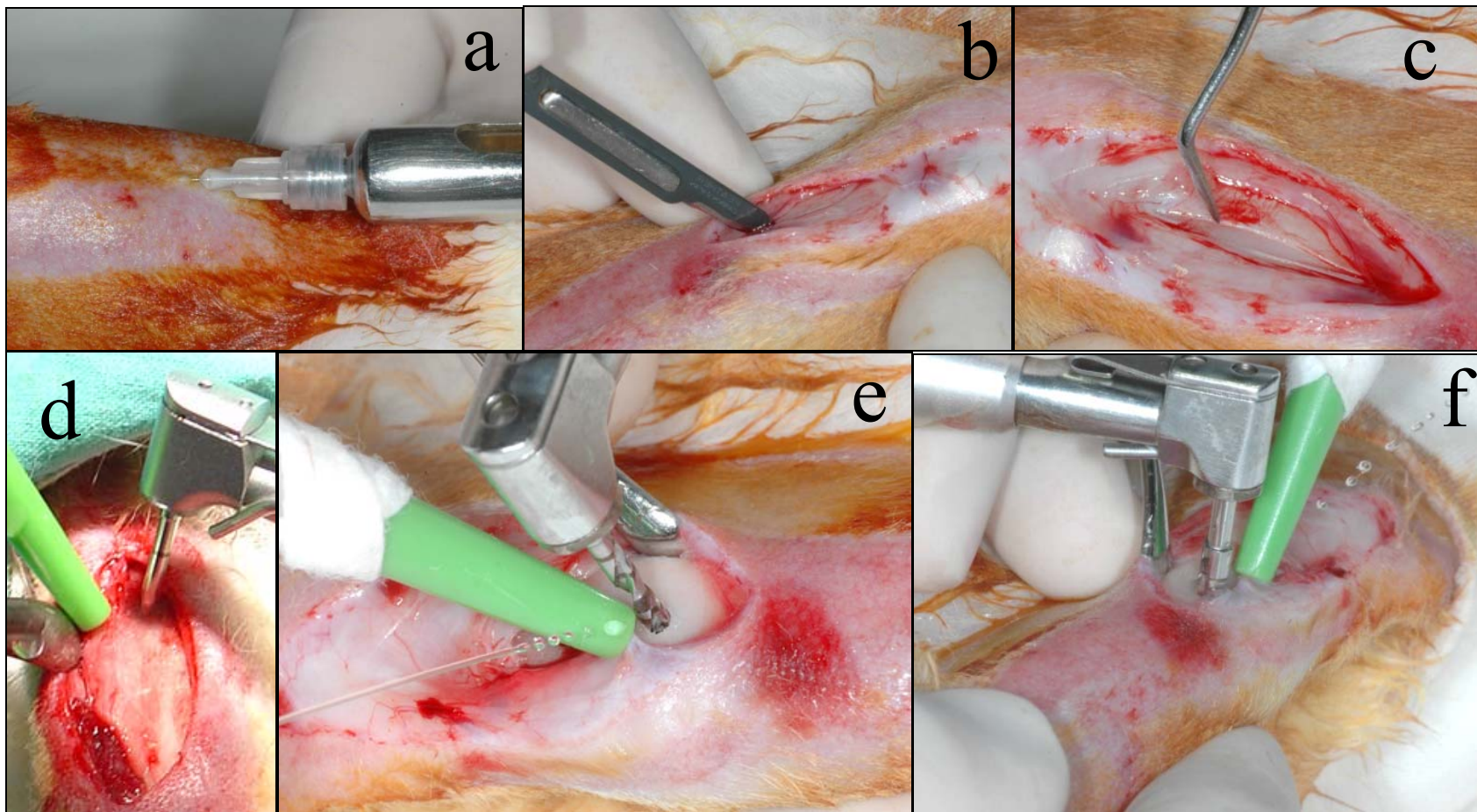


Figura 7: Fotografias ilustrando técnica cirúrgica para instalação dos implantes: exposição e confecção do leito ósseo, em tíbia de coelho. a) Anestesia terminal infiltrativa para proporcionar hemostasia. b) Diérese incisional dermomioperiostal. c) Divulção. d) Diérese óssea por meio da fresa lança. e) Fresagem com helicoidal 2mm, irrigação com solução fisiológica. f) Fresagem com piloto 2/ 3.

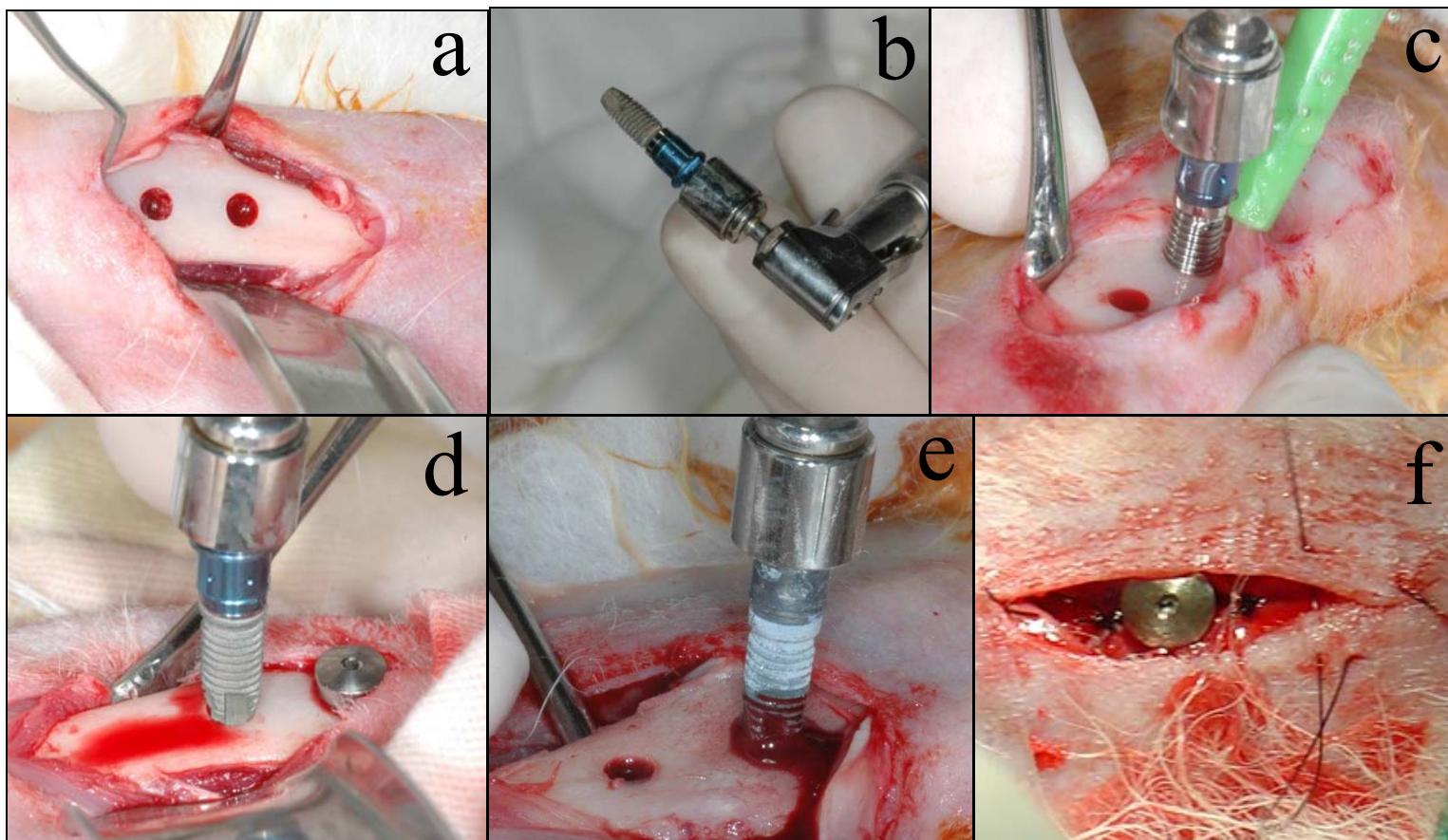


Figura 8: Fotografia para ilustrar a instalação dos parafusos de implante de titânio na tíbia de coelhos. a) Leito receptor dos implantes. b) Implante a ser instalado. c) Instalação do implante usinado. d) Instalação do implante tratado a LASER. e) Instalação do implante tratado a LASER + HA. f) Síntese com sutura oclusiva.

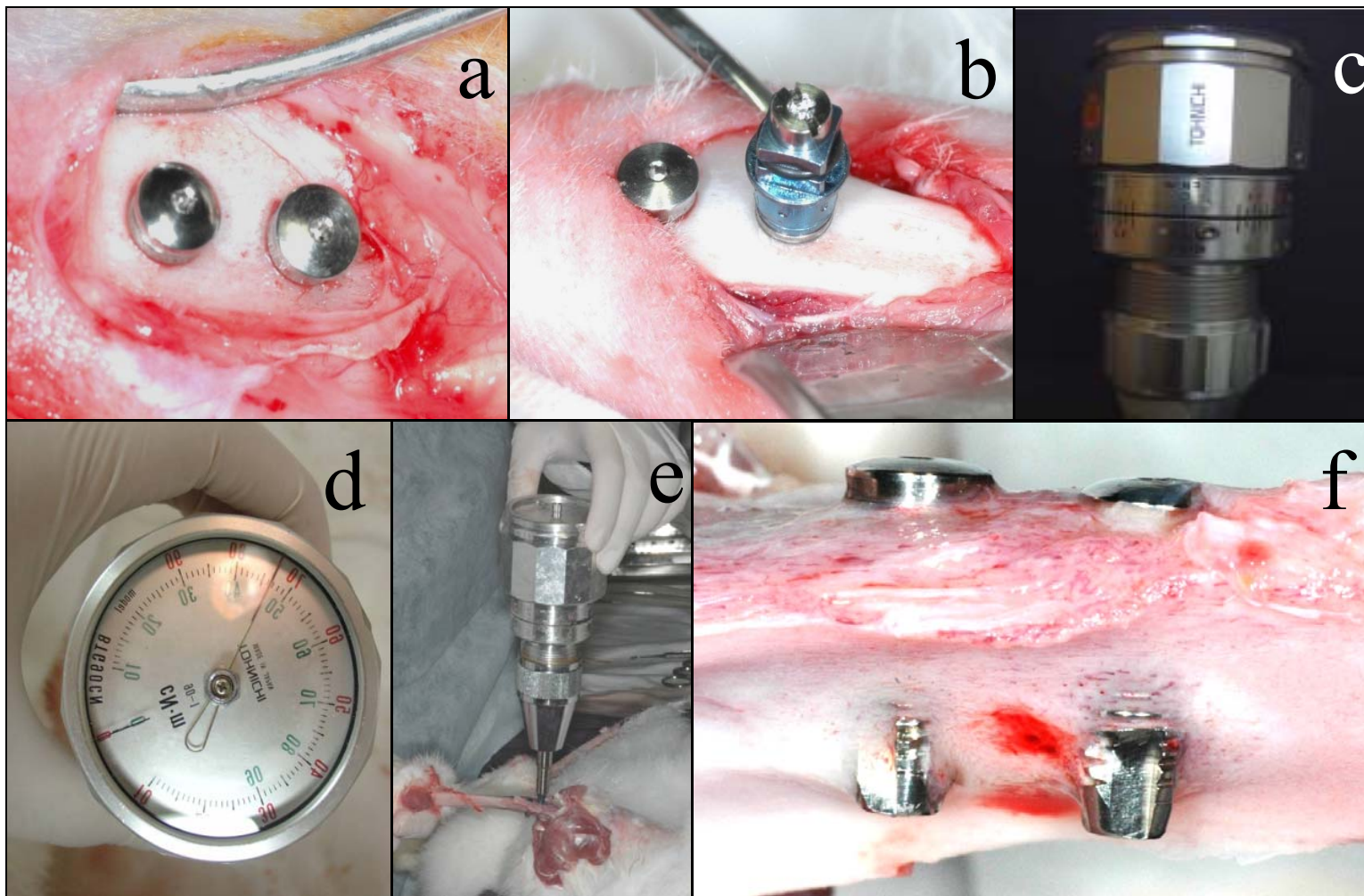


Figura 9: Fotografias para ilustrar a abordagem dos parafusos após períodos de avaliação, em tíbia de coelhos. a) Implantes com parafusos de cobertura. b) Instalação do montador de implantes. c) Torquímetro analógico (Tonich). d) Torquímetro registrando o valor máximo da força de remoção do implante. e) Torque Reverso. f) Implantes com instalação bicortical.

4.5.2 Instalação dos implantes (parafusos):

Para o preparo das cavidades (leito ósseo) foi utilizado motor elétrico acoplado em um contra-ângulo redutor de velocidade 16:1, que permitiu uma rotação final de 1.500 rpm, (Driller, Jaguaré-SP, Brasil)[®] com irrigação externa usando solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil)[®], a fim de não aquecer o leito ósseo e evitar desnaturação protéica (figura 7e, 7f). A fresagem (perfuração óssea com um tipo de broca) foi gradativa, intermitente e precisa, a sequência de fresas foi a preconizada pelo fabricante (TitaniumFix)[®]: fresa lança, (figura 7d) para delimitar a localização dos implantes e romper a cortical óssea, fresa de 2mm (figura 7e) de espessura descendo até a marca de 10mm de comprimento, fresa piloto de 2/3mm (figura 7f), fresa de 3mm até 10mm de comprimento. Cada jogo de fresas foi utilizado em 10 implantes, objetivando evitar o aquecimento ósseo, devido ao desgaste das fresas, seguindo as recomendações do fabricante. Os preparos foram de forma bicortical, ou seja envolveram as corticais anterior e posterior da tíbia.⁹⁷

Após o preparo da loja óssea foram colocados dois implantes na tíbia direita e dois na tíbia esquerda de cada animal de forma aleatória (figura 8b, 8c, 8d), usando motor elétrico em uma rotação de 20 rpm e torque de 50N, os implantes foram tampados com parafuso de cobertura (*cover screw*).

A sutura foi realizada por planos usando fio absorvível de ácido polilático (Poligalactina 910 – Vycril 4.0, Ethicon, Johnson Prod., São José dos Campos, Brasil) com pontos interrompidos em plano profundo e fio monofilamentar (Nylon 4.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brasil), com ponto contínuo ancorado no plano da derme, de forma oclusiva (figura 8f).⁹⁶⁻⁹⁸

4.5.3 Pós-operatório:

Os animais foram medicados com administração intramuscular de Pentabiótico (0,1mL/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil)[®] em dose única, e Dipirona Sódica (0,5mg/kg/dose, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil)[®] no total de 3 doses. Não foram administrado anti-inflamatório para que não hajouvesse interferência do reparo ósseo.¹⁰³

Os coelhos foram sorteados de forma aleatória e contidos fisicamente para serem submetidos à eutanásia por meio de superdosagem de pentobarbital sódico (150mg/Kg) intra-peritonal, com finalidade de retirada das peças, após 30 e 60 dias das implantações.⁹⁶

4.6 Análise Biomecânica (parafusos):

A via de acesso para os implantes foi reabordada (fig.9a), nas metáfises tibiais direita e esquerda dos animais de cada período de observação para realização do torque-reverso. Um monta-implante foi adaptado ao hexágono do implante (fig. b) e o torquímetro analógico (15-BTG, Tohnichi, Tokyo, Japan/ www.tohnichi.co.jp) acoplado ao monta-implante (fig. 9c). Aplicou-se movimento anti-horário para remoção dos implantes e aumentou-se o torque reverso até que ocorresse a rotação completa do implante no interior do tecido ósseo (fig. 9e) momento em que o torquímetro registrou o pico máximo de torque (fig. 9d). Os valores obtidos foram agrupados e registrados para análise estatística de variância, com correção de Welch, em que adotou nível de significância de 5%.

4.7 Análise histológica (parafusos):

Preparação das amostras e análise histométrica.

As amostras teciduais provenientes das tíbias direita e esquerda contendo os implantes e tecido ósseo foram removidas por meio de serra manual, em corte transversal

das tíbias, respeitando 5mm de cada extremidade (distal e mesial) dos implantes, e foram submersas em formalina neutra tamponada a 10% por um período de 72, em potes plásticos individuais, estéreis. Em seguida foi realizada a desidratação dessas peças em concentrações crescentes de álcoois (etanol 60-100%) e posteriormente, infiltração em resina fotopolimerizável (Technovit 7200 VLC, Kultzer Heraeus GmbH & Co., Wehrheim, Alemanha). Os blocos contendo implante e tecido ósseo peri-implantar foram cortados em um ponto central, empregando-se um micrótomo com sistema de corte e desgaste (Exakt Apparatebau, Hamburgo, Alemanha). As lâminas confeccionadas apresentaram espessura de aproximadamente 50 µm e foram coradas pelo azul de Estevenel e pela fucsina ácida. As imagens foram analisadas em microscópio óptico (Diastar, Leica Reichert & Jung products, Alemanha) e capturadas por meio de uma câmera fotográfica digital (Leica Microsystems DFC-300-FX, Alemanha), com resolução de 1.3 megapixels, acoplada ao microscópio de luz. As análises histométricas foram realizadas por meio do software de análise de imagens (IMAGELAB 2000, versão 2.4). Foram calculadas a extensão linear de contato total entre o tecido ósseo e a superfície do implante (COI) e a área de tecido ósseo presente (AO) entre as 3 espiras mais coronárias, localizadas em osso cortical em cada lado do implante.

4.8 Análises estatísticas (discos e parafusos):

O nível de significância adotado foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi o Bio Estat versão 5.0.¹⁰⁴

4.8.1 Ângulo de Contato (discos): Os valores da mensuração do ângulo de contato foram repetidos 3 vezes para obtenção do valor médio do ângulo de contato das diferentes superfícies e comparados entre elas. Foram analisadas a média e o desvio padrão. Os valores obtidos dispensaram análise estatística.

4.8.2 Rugosidade Média (discos): Os valores obtidos apresentaram distribuição normal (testados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov) e foram comparados por meio da análise de variância (ANOVA one-way) e do teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$). Foram realizadas 10 mensurações em cada disco. Utilizando 3 discos de cada grupo.

4.8.3 Torque Reverso (parafusos): Os valores do torque reverso foram comparados nos períodos de 30 e 60 dias pós-cirúrgico, em cada grupo por meio do teste ANOVA para comparação geral entre os grupos seguida de Teste de SKN (Student-Newman-Keuls Method) para comparação grupo a grupo.¹⁰⁴

4.8.4 Histometria (parafusos) COI: Os valores de COI foram comparados nos períodos pós-cirúrgicos de 30 e 60 dias, em cada grupo, por meio do teste *t*. A comparação entre os três grupos (GI X GII X GIII) em cada período pós-cirúrgico, foi realizada pelo teste ANOVA seguido do Teste de Tukey. A normalidade da distribuição foi analisada pelo Teste Shapiro-Wilk (fig. 11).

4.8.5 Histometria (parafusos) AO: A área óssea (AO) foi analisada nas 3 primeiras roscas dos implantes, aos 30 e 60 dias, e utilizou-se o teste de Mann Whitney. A comparação entre os três grupos (GI X GII X GIII) em cada período pós-cirúrgico pelo Teste Kruskal Wallis seguido do Teste Student-Newman-Keuls. A normalidade da distribuição foi analisada pelo Teste Shapiro-Wilk (fig. 12).

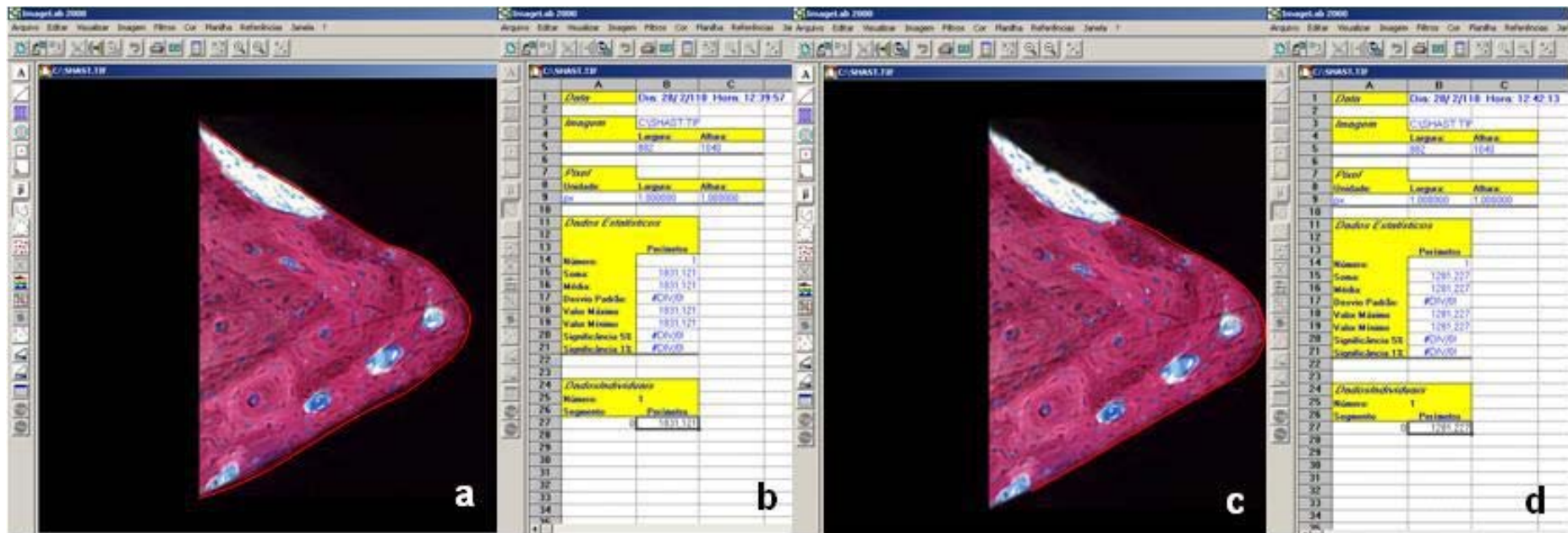


Figura 11: Análise histométrica da extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do parafuso (COI) em porcentagem. a,b: extensão linear de contato total da espira. c,d: COI.

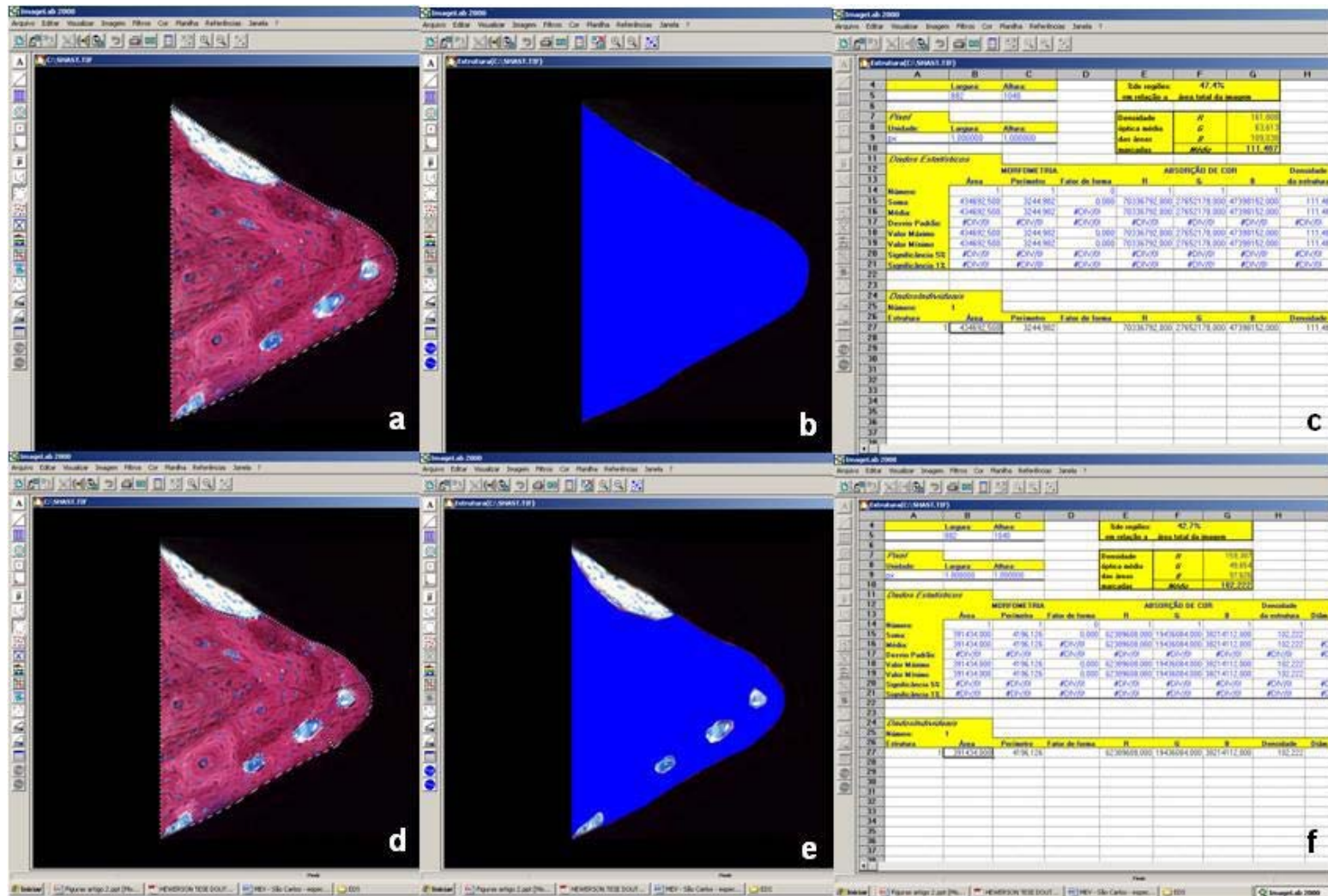


Figura 12: Análise histométrica da área óssea entre as espiras do parafuso (AO) em porcentagem. a,b,c: AO total entre as espiras. d,e,f: AO entre as espiras.

5. Resultados:

5.1 Análise Topográfica - caracterizações das Superfícies por MEV, EDX, D-RX, ângulo de contato e rugosidade (discos):

5.1.1 MEV e EDX

A microscopia eletrônica de varredura das três superfícies estudadas diferiu quanto à análise topográfica. O GI revelou uma topografia com estrias provenientes do processo de usinagem, uma superfície lisa e com restos de usinagem (fig 13a). GII apresentou zonas de fusão e solidificação rápida que resultaram em estruturas similares a esferas em toda a superfície. O GII (fig 13b) e o GIII (fig 13c) mostraram superfícies rugosas e homogêneas, e apresentaram esferas em escala nanométrica (tamanho de cada partícula menor do que 100 nanômetros, utilizando-se como referência a escala do microscópio).

O EDX não revelou contaminação nas três superfícies analisadas, apresentou picos de Ti para GI (fig 14a). No GII observou-se picos de Ti e oxigênio (fig 14b). Entretanto GIII manteve as características do GII, diferenciando-se do mesmo pela presença de picos referentes aos elementos cálcio (Ca) e fósforo (P) (fig.14c).

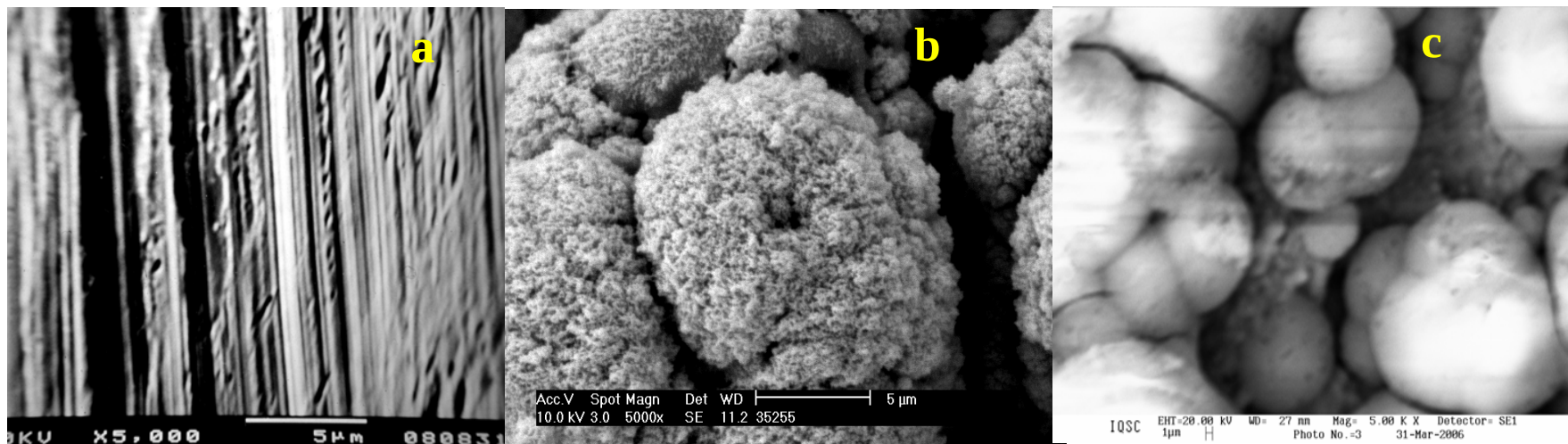


Figura 13: Fotomicrografia em aumento de 5.000X sob MEV mostrando superfície de implante de titânio: usinada(a), irradiada a LASER de alta intensidade(b), e irradiada a LASER de alta intensidade e depositada hidroxiapatita(c).

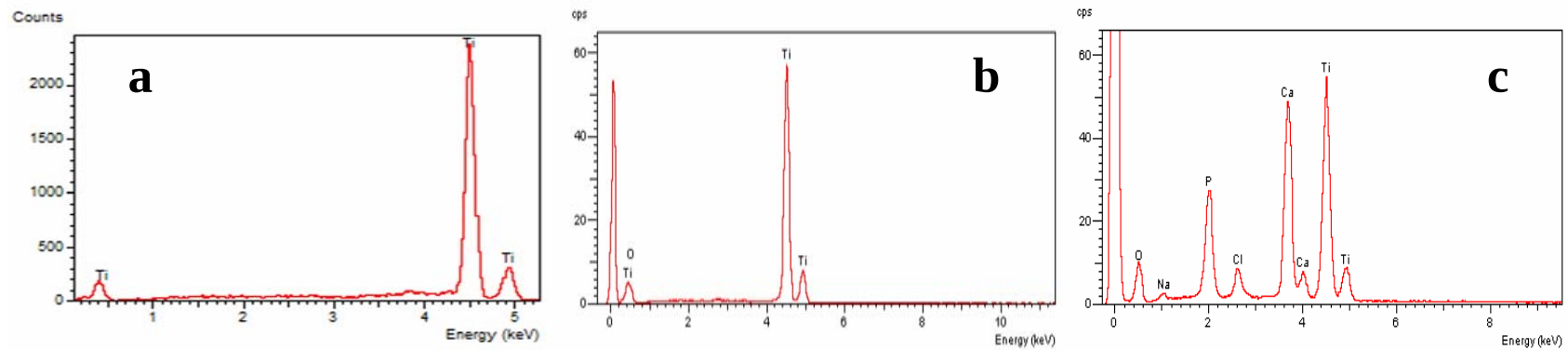


Figura14: EDX dos grupos experimentais: GI, GII e GIII, nota-se ausência de contaminação nas três superfícies pela mapeamento químico.

5.1.2 DRX

O DRX do GI apresentou apenas picos de Ti, o GII mostrou a presença de óxidos e nitretos, provenientes da interação da superfície com o ar, durante o processo de irradiação. O GIII apresentou picos agudos e bem definidos de HA carbonatada, caracterizando maior cristalinidade, proveniente do tratamento térmico (figura15).

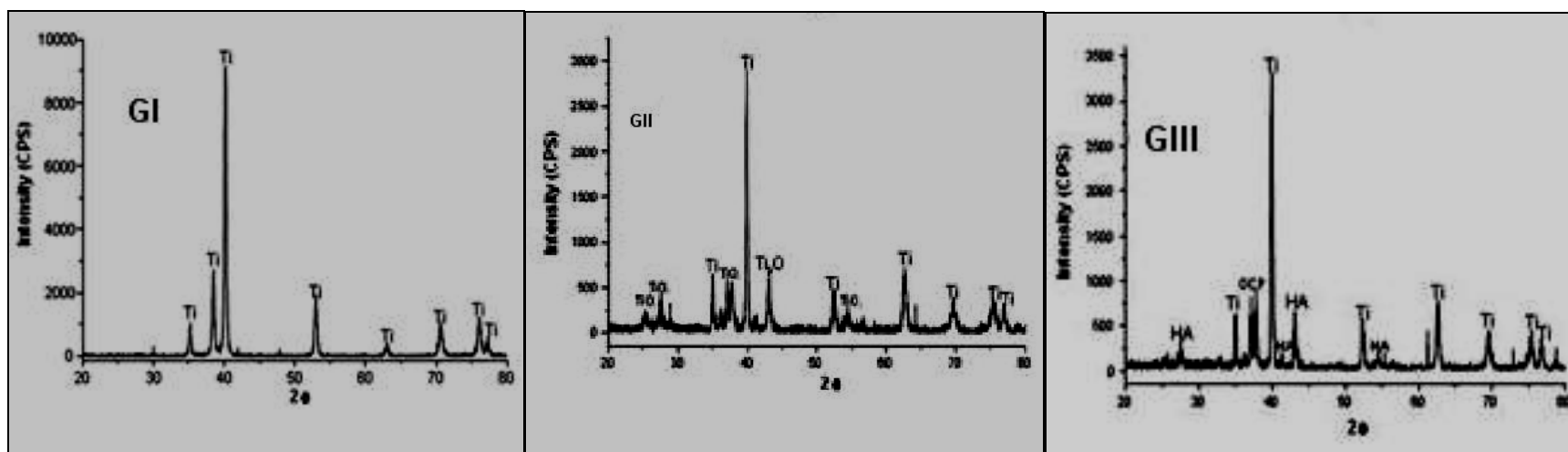


Figura 15: D R X : Gráficos das análises do GI, GII e GIII, nota-se no GI a presença de picos de titânio, no GII a presença de óxidos de titânio provenientes da irradiação e no GIII presença de OCP e HA caracterizando alta cristalinidade .

5.1.3 Rugosidade média (Rm)

A análise microtopográfica revelou diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$) entre a rugosidade média do GII ($R_m = 10.096 \pm 1,024 \mu\text{m}$) e GIII ($R_m = 10.068 \pm 1,109 \mu\text{m}$) quando comparadas ao GI ($R_m = 0.252 \pm 0,037 \mu\text{m}$), os grupos tratados foram estatisticamente superiores de acordo com a tabela 1.

A rugosimetria por meio da secção vertical dos discos mostrou uma espessura média de $R_m = 28,97 \pm 8,84 \mu\text{m}$ para GII (Tabela 2), e $R_m = 33,54 \pm 9,99 \mu\text{m}$ para GIII (Tabela 2). O MEV em seção transversal do GIII (fig. 17B, 17 D e 17 E) mostrou a presença de uma camada “híbrida”, composta pela irradiação com feixe de LASER seguida pela deposição da hidroxiapatita, não sendo possível distinguir a modificação por feixe de LASER do depósito da hidroxiapatita, evidenciada pelo EDX (fig. 16).

Tabela 1 – Média e Desvio Padrão da rugosidade das superfícies dos diferentes grupos.

SUPERFÍCIES	RUGOSIDADE (Rm)	
	Média	DP
GI	0.252 μm	$\pm 0,037 \mu\text{m}$
GII	10.096 μm	$\pm 1,024 \mu\text{m}$
GIII	10.068 μm	$\pm 1,109 \mu\text{m}$

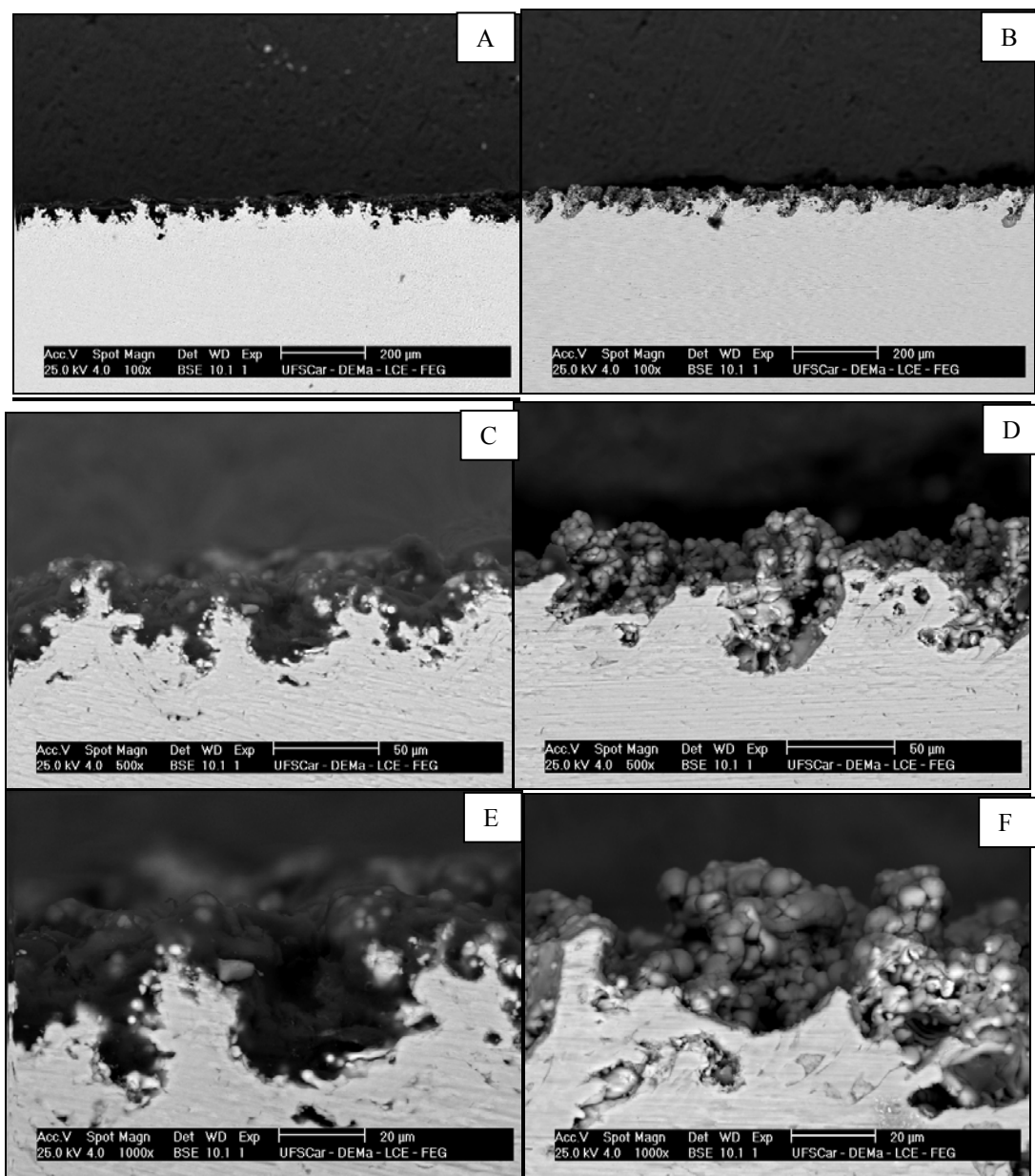


Figura 16: Fotomicrografias ilustrando discos em cortes verticais em MEV- aumento de 100X GII(A), 100X GIII(B), em 500X GII(C) e GIII(D), em 1.000X GII(E) e GIII(F).

Tabela 2 – Média e Desvio Padrão espessura da modificação de superfície para os grupos testes.

SUPERFÍCIES	ESPESSURA	
	Média	DP
GII	28,97 μm	$\pm 8,84 \mu\text{m}$
GIII	33,54 μm	$\pm 9,99 \mu\text{m}$

5.1.4 Medidas de ângulo de contato

A análise de ângulo de contato dispensa análise estatística devidos os valores apresentados (Tabela 3).

Tabela 3 – Média e Desvio Padrão do ângulo de contato obtido para as diferentes superfícies (discos).

SUPERFÍCIES	ÂNGULO DE CONTATO			
	1ª avaliação	2ª avaliação	3ª avaliação	Média e DP
GI	68,9°	81,2°	72,9°	74,3° $\pm$ 6,27
GII	0	0	0	0
GIII	0	0	0	0

5.2 Análises Biomecânica (parafusos):

Tabela 4 – Média e desvio padrão dos valores do torque reverso dos grupos experimentais: GI, GII e GIII, nos períodos de avaliação de 30 e 60 dias.

Período	GI	II	III	<i>p</i> (Kruskall Wallis seguido de Dunn)
30 dias	23,6 ± 12,9	40,8 ± 7,8	60,0 ± 9,4	<i>p</i> = 0,007 (GI=II, II=III, GI≠III)
60 dias	44,0 ± 19,3	60,4 ± 11,1	65,2 ± 10,5	<i>p</i> = 0,244 (GI=II=III)
<i>p</i> (Mann Whitney)	0,047 (30dias≠60dias)	0,028 (30dias≠60dias)	0,347 (30dias=60dias)	-

Nota: se $p \leq 0,05$ – diferença estatisticamente significativa.

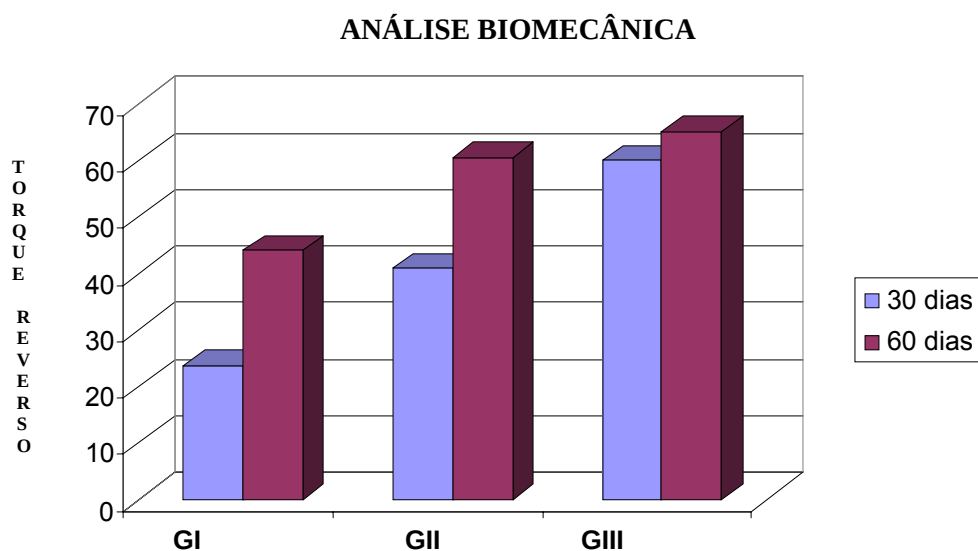


Gráfico 1 – Médias dos valores do torque reverso (N.cm) segundo o período transcorrido para a remoção dos implantes e grupos experimentais: GI, GII e GIII.

5.3 Análise histológica (parafusos):

5.3.1 Análise qualitativa:

Aos 30 dias, verifica-se que o tecido ósseo presente entre as espiras dos GII (fig. 21) e GIII (fig. 22), na região cortical, apresentou disposição regular e mais homogênea das fibras colágenas, com formação de lamelas concêntricas, características de tecido ósseo em fase mais avançada de maturação. Além disso, observou-se significativa interface de contato sendo estabelecida entre essas superfícies e o tecido ósseo. Também é possível notar nesses grupos pequenas áreas de tecido conjuntivo imaturo (corado pelo azul de Estevenel), com presença de osteoblastos dispostos em paliçada, sugerindo que os mesmos encontram-se em processo de síntese da matriz óssea.

5.3.2 COI:

Tabela 5 – Média e desvio padrão dos valores do COI dos grupos experimentais: GI, GII e GIII.

Período	GI	GII	GIII	<i>p</i>
		COI		ANOVA seguido de Tukey
30 dias	39,26 ± 18,23	68,41 ± 13,68	62,14 ± 16,76	$p < 0,001$ (GI ≠ GII = GIII)
60 dias	52,37 ± 15,43	70,89 ± 10,47	67,40 ± 10,16	$p < 0,001$ (GI ≠ GII = GIII)
<i>p</i> teste <i>t</i>	0,006	0,536	0,192	-

Nota: se $p \leq 0,05$ – diferença estatisticamente significativa.

5.3.3 AO:

Tabela 6 – Média e desvio padrão dos valores da AO dos grupos experimentais: GI, GII e GIII.

Período	GI	II	III	<i>p</i>
	AO			Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls
30 dias	64,17 ± 16,81	78,98 ± 12,86	72,69 ± 14,07	0,004 (II ≠ GI = III)
60 dias	74,22 ± 11,92	87,89 ± 5,45	78,58 ± 8,78	<i>p</i> < 0,001 (II ≠ GI = III)
<i>p</i> Mann Whitney	0,015	0,010	0,268	

Nota: se $p \leq 0,05$ – diferença estatisticamente significativa.

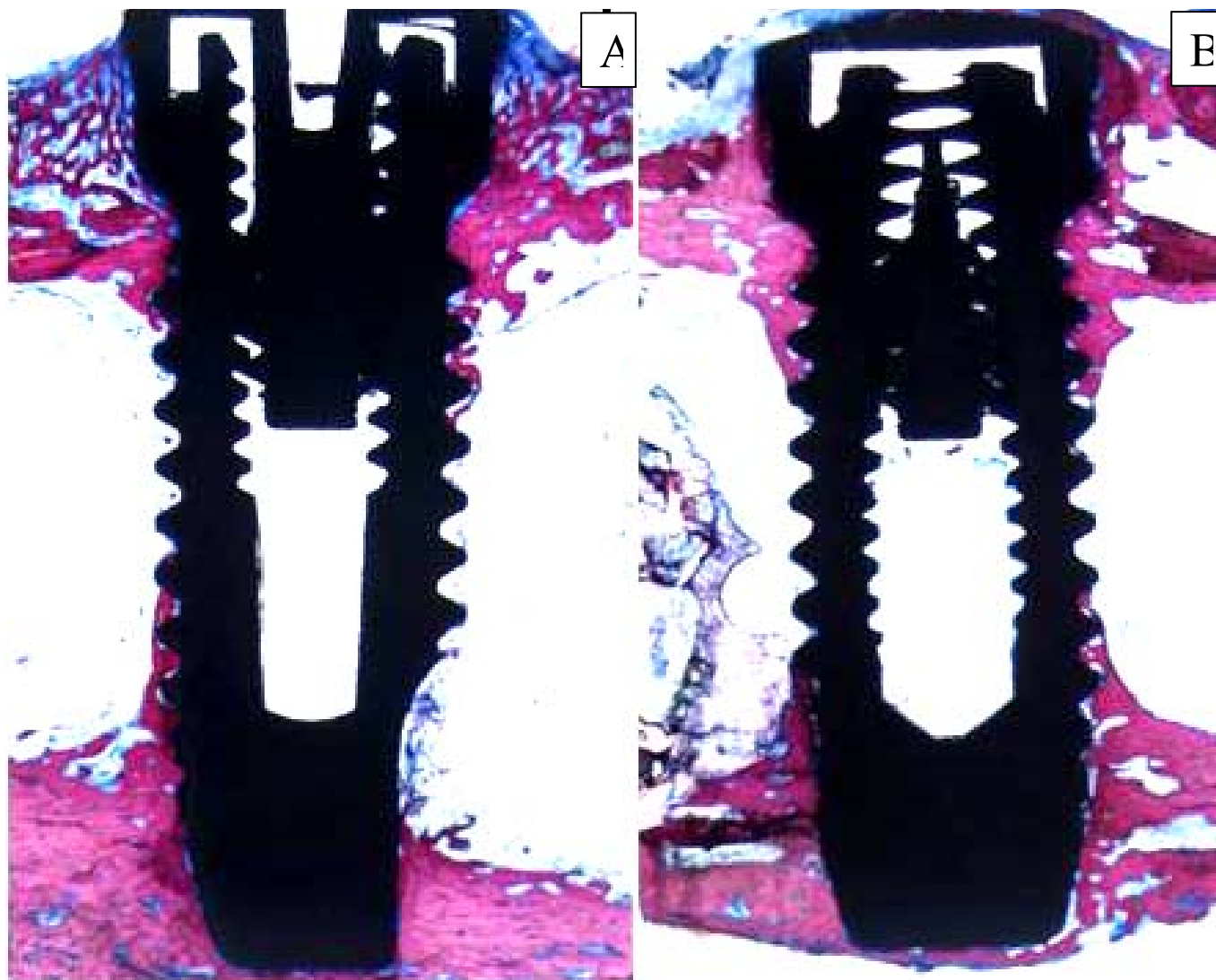


Figura 17: Fotomicrografias ilustrando cortes histológicos não descalcificados do parafuso GI e as interfaces com o tecido ósseo, aos 30 dias (A) e aos 60 dias (B), por meio de uma lupa (Leica MZ-6, Alemanha), em aumento de 4X.

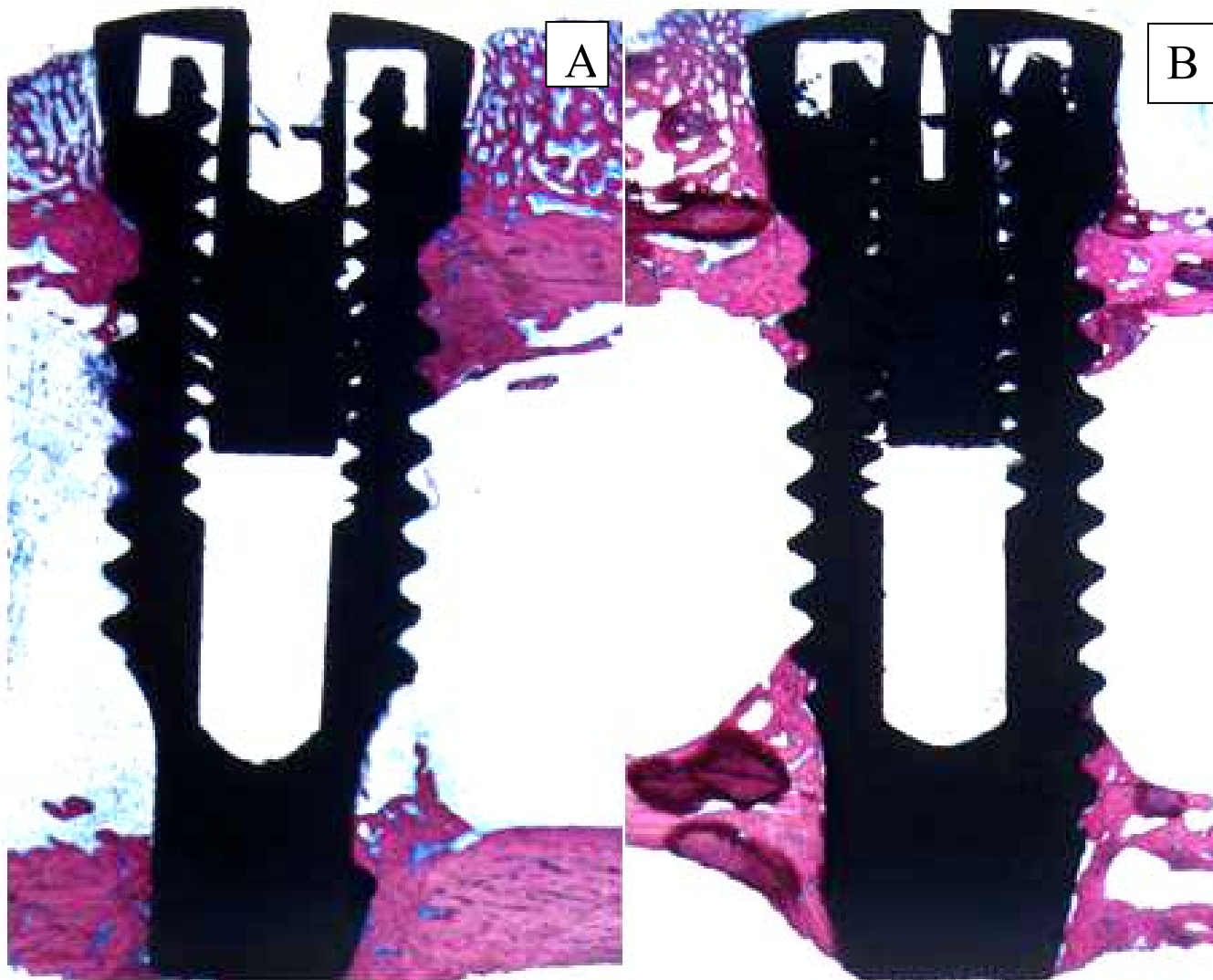


Figura 18: Fotomicrografias ilustrando cortes histológicos não descalcificados do parafuso GII e as interfaces com o tecido ósseo, aos 30 dias (A) e aos 60 dias (B), por meio de uma lupa (Leica MZ-6, Alemanha), em aumento de 4X.

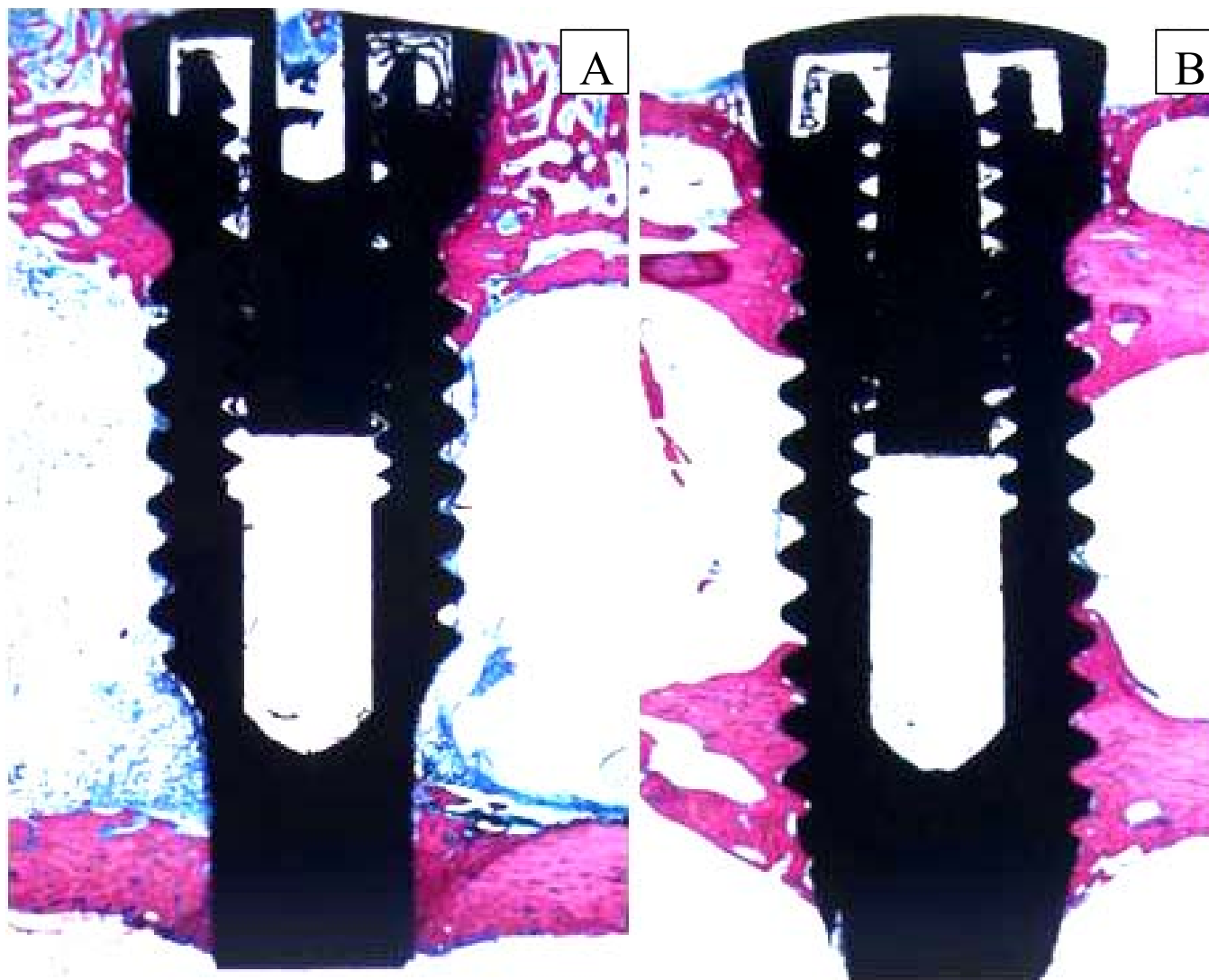


Figura 19: Fotomicrografias ilustrando cortes histológicos não descalcificados do parafuso GIII e as interfaces com o tecido ósseo, aos 30 dias (A) e aos 60 dias (B), por meio de uma lupa (Leica MZ-6, Alemanha), em aumento de 4X.

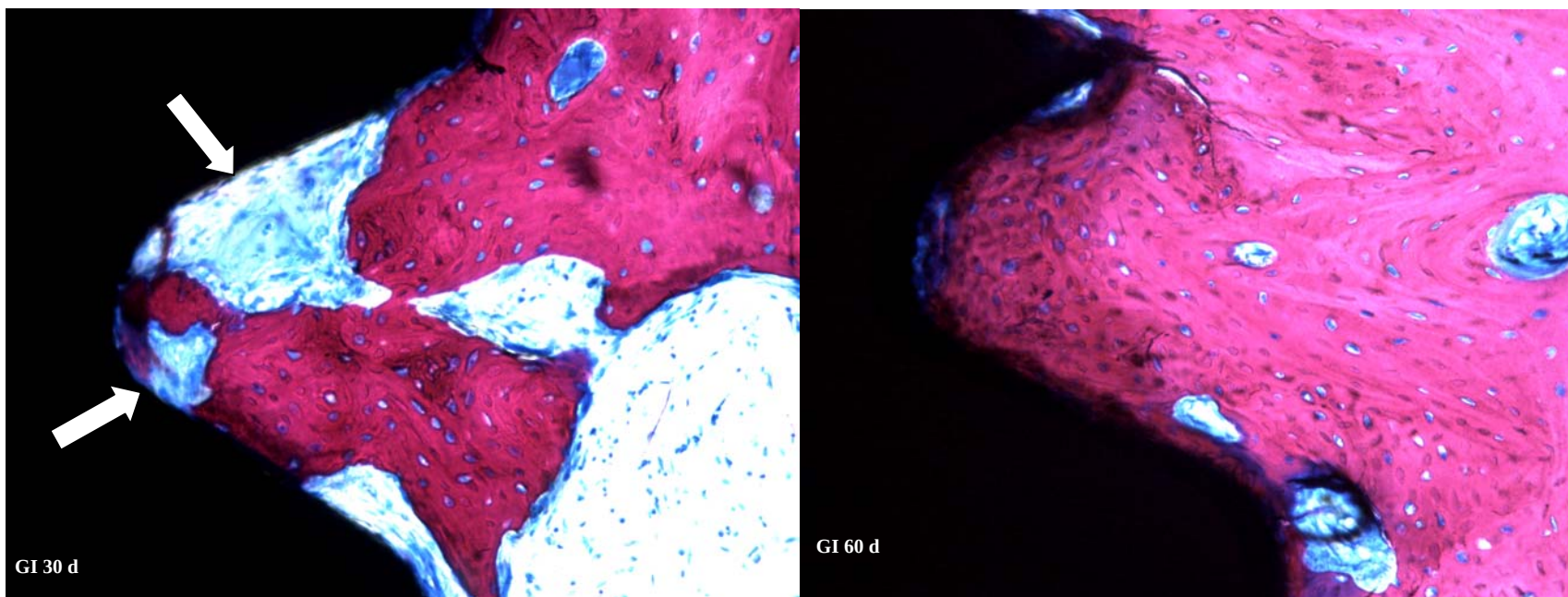


Figura 20: Microfotografias ilustrando cortes histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X) da interface osso/parafuso, notam-se em preto os implantes, em rosa a presença de tecido ósseo maduro, em azul tecido conjuntivo, GI 30dias nota-se a grande presença de tecido conjuntivo corado pelo azul de Estevenel (seta branca). No GI 60 dias nota-se grande presença de tecido ósseo.

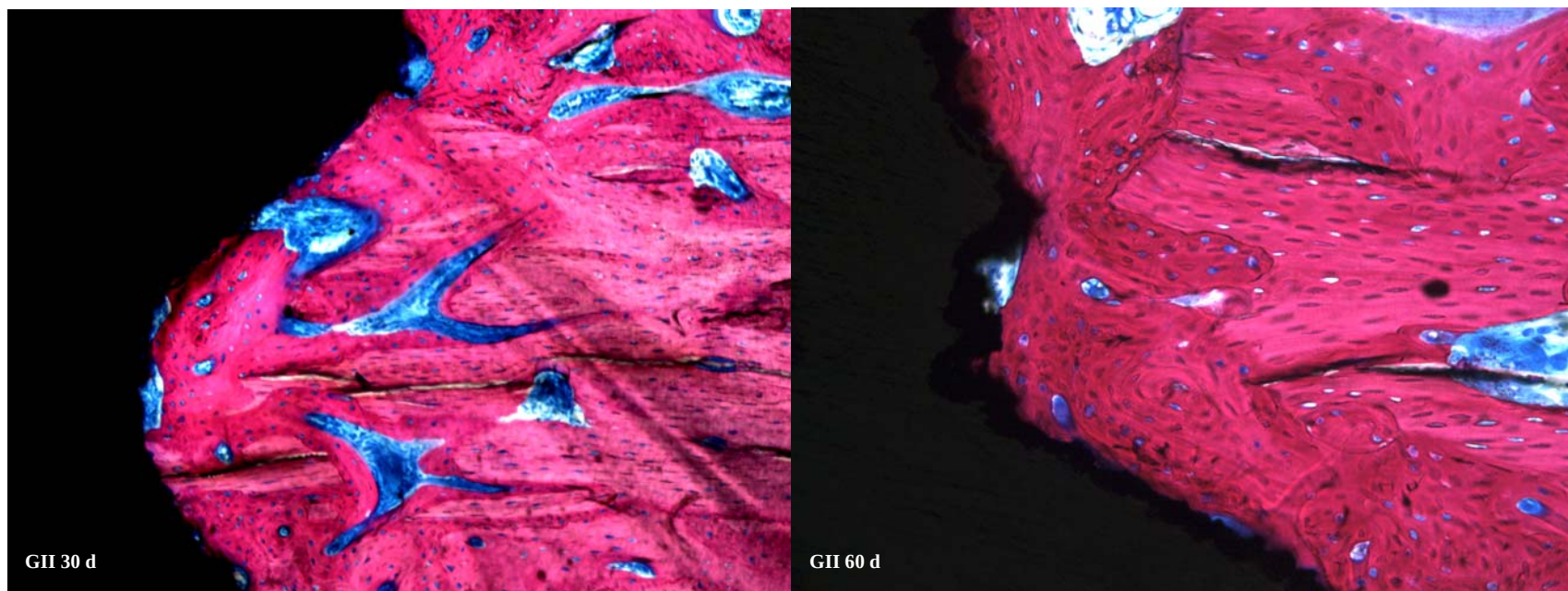


Figura 21: Microfotografias ilustrando cortes histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X) da interface osso/parafuso, nota-se em preto os implantes, em rosa a presença de tecido ósseo maduro, em azul tecido conjuntivo. No GII 30 dias, GII 60 dias (GII) nota-se grande presença de tecido ósseo.

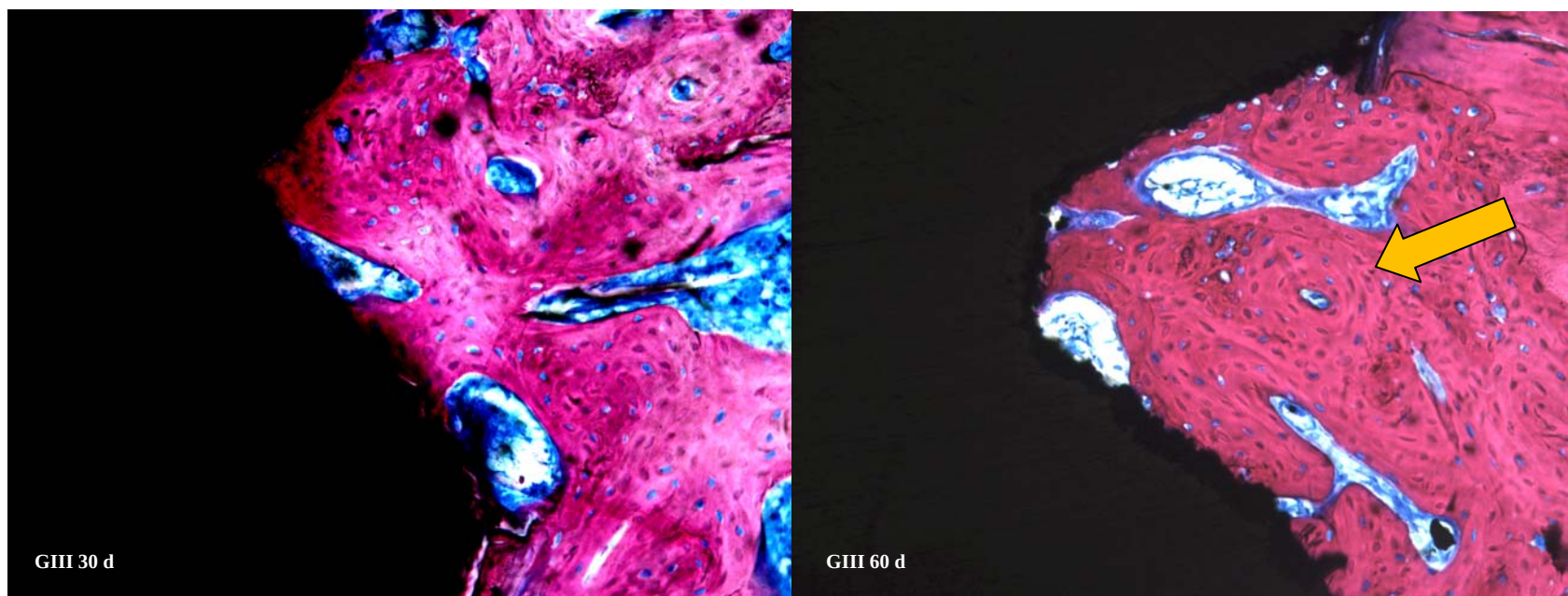


Figura 22: Microfotografias ilustrando cortes histológicos não-descalcificados da região cortical superior (azul de Estevenel e fucsina ácida, aumento de 200X) da interface osso/parafuso, notam-se em preto os implantes, em rosa a presença de tecido ósseo maduro, em azul tecido conjuntivo. No GIII 30 dias, nota-se grande presença de tecido ósseo. E no GIII 60 dias, nota-se presença de lamelas concêntricas, que representa maior maturidade óssea (seta laranja).

5. Discussão

A osseointegração é definida como contato direto, estrutural e funcional entre o osso ordenado e a superfície do implante, sob microscopia óptica.⁷ Apesar deste processo não estar claramente descrito na literatura, sabe-se que ele desencadeia mecanismos biológicos favoráveis ao sucesso do implante de titânio¹⁸. Após a inserção do metal uma série de etapas do reparo ósseo tecidual (modelagem e remodelagem) ocorrem na interface do osso com a superfície do implante usinado, ou seja livre de tratamento.¹⁸⁻²⁰ Apesar das altas taxas de sucesso com a superfície usinada, o longo período de espera de 3 a 6 meses (a depender do tipo de osso)³, assim como alguns insucessos dificultam as reabilitações por meio de implantes de titânio com superfície livre de tratamento. A superfície do titânio sempre causou interesse na comunidade científica,¹⁷ pois acredita-se que a alteração da sua topografia está diretamente relacionada com o tempo necessário para a osseointegração.

Modificações na superfície podem ser realizadas por vários métodos, a irradiação por LASER é um entre eles.^{6,7,8,9,10,11,15} Gyorgy *et al.* (2002)¹⁶ usaram LASER para alterar a superfície de titânio e a analisaram posteriormente com MEV, mostrando modificação na última camada do metal. Yue *et al.*¹⁷ estudaram a superfície da liga Ti₆Al₄V irradiados com LASER e avaliaram a resistência à corrosão, que apresentou um aumento, assim como uma alteração da superfície, ausência de fraturas e uma relativa maleabilidade, comprovando propriedade da superfície favoráveis à osseointegração. A ablação da superfície por LASER, ou seja, a irradiação é uma técnica simples, apresenta baixo custo, sendo um processo limpo e reprodutível. A fusão e a solidificação rápida produzem irregularidades uniformes no metal e podem ser controladas por vários fatores, tais como parâmetro de feixes de LASER e atmosfera durante a irradiação.^{58,59}

Concordando com a descrição de vários autores^{6,7,8,9,10,11,17}, o tratamento a LASER parece ser um método promissor para os implantes dentários, resultando em uma precoce osseointegração. Nota-se neste estudo que as superfícies de implante modificadas por LASER de alta intensidade (Yb pulsado) apresentaram irregularidades homogêneas que favoreceram a osseointegração. As zonas de fusão e solidificação rápida resultaram em estruturas similares a esferas em toda a superfície, ainda apresentando porosidade, rugosidade e uma morfologia mais homogênea, com estruturas em escala nanométrica. A influência das nanoestruturas sobre as atividades celulares foi demonstrada modulando a formação do tecido final, *in vitro*¹⁰⁵.

A nanotecnologia mostra um campo promissor e amplo para pesquisas sobre biocompatibilidade, e talvez seja uma resposta mais específica para o advento da osseointegração¹⁰⁶.

A escala em nanômetros (10^{-9} m) significa a faixa de 1-100 nm em dimensão¹⁰⁶⁻¹⁰⁷. Até 2004, a maioria dos implantes disponíveis no mercado possuía superfícies modificadas em escala micrométrica¹⁰⁸, no entanto, as pesquisas atuais têm apresentado especial atenção às investigações com implantes de superfície nanomodificadas¹⁰⁶.

Segundo Meirelles¹⁰⁹ para ser classificada como nanoestrutura, a estrutura deve ter pelo menos uma das três dimensões variando entre 1 a 100 nanômetros. O benefício da implementação de nanoestruturas ainda não é amplamente aceito na comunidade científica e vários fatores contribuem para isto, em especial a dificuldade de caracterização adequada da topografia em 3 dimensões na escala micrométrica e nanométrica.

O implante usinado apresenta uma topografia com estrias provenientes do processo de usinagem, uma superfície lisa e com restos de usinagem. Essa superfície é comumente apresentada na literatura científica como grupo controle das pesquisas em superfície de titânio¹⁰. A modificação da superfície pelo LASER apresentou estruturas

similares a esferas em toda a topografia, com uma superfície rugosa e homogênea. Corroborando com pesquisas já descritas na literatura^{6,7,8,9,10,11,17}. Por outro lado Matsuyama (2003)⁵¹ com o propósito de alterar a superfície de implantes de titânio, utilizou LASER de Er:YAG e não constatou mudanças significativas na morfologia e coloração da superfície, foi utilizado resfriamento com jatos de água. Este fato pode ser respondido pelo tipo de LASER utilizado no processo, assim como pelos parâmetros do equipamento.

Os principais componentes minerais do osso são cálcio e fósforo. A hidroxiapatita (fosfato de cálcio) é uma cerâmica ou biocerâmica de fosfato, com uma composição e estrutura semelhante à fase mineral do osso⁸⁰, o que caracteriza a biocompatibilidade desta. Existem algumas técnicas que depositam esses íons sobre a superfície do implante, como o *plasma spray* de HA, porém esta técnica apresenta um recobrimento com rachaduras devido à grande espessura e ausência de homogeneidade ao longo da superfície.^{55,57,73} Outro exemplo é o método biomimético, proposto por Abe *et al.*⁸³ consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética, denominada *Simulated Body Fluid – SBF*, de composição iônica e pH semelhantes ao do plasma sanguíneo, pelo período de 7 dias a 37°C. Este método permite recobrir praticamente qualquer substrato com uma camada uniforme de hidroxiapatita semelhante à apatita biológica. Desde a sua primeira formulação, o método e a solução biomimética sofreram significantes variações, visando acelerar o processo de deposição e alterar a cristalinidade do recobrimento, uma vez que esta apresenta uma direta relação com a solubilidade, incluindo pré-tratamentos ácidos, alcalinos e térmicos, e a utilização de soluções com composição e concentração variadas^{22,110-112} No presente estudo optou-se pela realização do método biomimético modificado por Aparecida *et al.*²³, por conciliar a bioatividade com as propriedades mecânicas semelhantes ao osso, menor tempo de recobrimento e formação de compostos de apatitas de maior interesse biológico.

A baixa cristalinidade da HA leva a uma instabilidade quando implantada. De acordo com literatura, fosfatos de cálcio amorfos, em especial o fosfato tetracálcico e fosfato tricalcício são mais solúveis do que a HA, levando a uma rápida desintegração, conhecida como reabsorção¹¹³. O atual experimento revelou picos de fosfato octacálcico, titânio e HA carbonatada, com picos bem definidos, caracterizando uma maior cristalinidade, resultante do tratamento térmico. O objetivo deste tratamento térmico utilizado no GIII (após a deposição de HA) foi aumentar a cristalinidade (comprovado pela análise DRX), e reduzir a solubilidade, melhorando a estabilidade da camada depositada¹¹³, porém por outro lado esta solubilidade pode ser um fator favorável à osseointegração do implante, uma vez que é conhecido o processo de remodelagem óssea e talvez essa solubilidade possa desencadear uma reabsorção seguida de uma deposição óssea sobre a superfície.

Proussaef⁴² analisou implantes de titânio recobertos com hidroxiapatita, em osso alveolar de humanos, após períodos de função entre 3,5 e 11 anos, concluiu que não houve absorção ou dissolução da hidroxiapatita, independentemente do período da função, e que isto provavelmente só ocorra quando há contato com os tecidos moles.

Geurs *et al.*⁴⁸ estudaram 3 tipos de superfícies de implantes de Ti: plasma *spray* de titânio (TPS), espiras recobertas com HA e cilíndrico recobertos com HA, durante o processo de osseointegração, em um total de 634 implantes. Os autores concluíram que o revestimento de HA tende a acelerar a taxa inicial de osseointegração.

Em um estudo sobre o crescimento celular utilizando osteoblastos e biomateriais, Ramires *et al.*¹¹⁴ mostraram que houve precoce agregação celular, diferenciação e mineralização celular em superfícies de TiO₂ revestidas com hidroxiapatita.

Balla *et al.*¹¹⁵ estudaram novas estruturas que foram feitas em combinação Ti-TiO₂ utilizando LASER Nd-YAG, com adição de cerâmica na composição de TiO₂, o que

aumentou significativamente a molhabilidade e a dureza, assim como o volume (30%) da superfície pela presença de porosidades.

Meirelles *et al.*¹⁰⁶ utilizaram dois tipos de implantes com a mesma topografia mas modificados quimicamente para estudo da superfície, do torque de remoção e da histologia não descalcificada em osseointegração, em coelhos, após 4 semanas. E concluíram que a modificação química foi capaz de produzir uma diferente nanotopografia e junto com a presença de íons na superfície dos implantes puderam explicar o aumento dos valores do torque reverso após o período de avaliação, assim como os maiores valores do COI quando comparados ao grupo controle.

Daugaard *et al.*¹¹⁶ avaliaram a fixação mecânica e distribuição de tecidos ao redor de implantes revestidos com três superfícies: plasma spray de HA, um fino revestimento de deposição eletroquímica com HA, e um revestimento fino idênticos com uma camada de colágeno mineralizado. Implantes de plasma spray de titânio (Ti-6Al-4V) serviram como controle negativo. A deposição eletroquímica foi realizada com método semelhante às condições fisiológicas. A histomorfometria dos revestimentos de HA mostrou um crescimento ósseo significativamente aumentado em comparação com o grupo controle de titânio.

Iezzi *et al.*¹¹⁷ apresentaram uma avaliação histomorfométrica periimplantar em osso humano com implantes recobertos por HA, removido após o pilar ser fraturado. O implante esteve em função por 15 anos. O percentual contato osso implante foi 77,6%, a porcentagem da superfície do implante coberto pelo revestimento de HA foi de 5,1%, a superfície metálica do implante foi essencialmente coberta por osso lamelar maduro compacto, não foram encontradas falhas, tecido conjuntivo fibroso, ou tecido de granulação na interface. A reabsorção quase total do revestimento de HA não parece ter interferido na osseointegração.

Futuros trabalhos desenvolvidos com biomateriais em escala nanométrica talvez possam modular a resposta tecidual e somar conhecimentos para uma melhor compreensão dos mecanismos da osseointegração.

A importância da molhabilidade e o potencial da energia da superfície tem sido objeto de muitos estudos ao longo dos anos. Iniciado por Baier *et al.*¹¹⁸ esta análise é facilmente reproduzida^{119, 112}, e apresenta uma importante forma de observar a capacidade de escoamento de um determinado líquido quando em contato com uma superfície. O molhamento pode ser melhorado com uma extensiva hidroxilação ou hidratação da camada de óxido do titânio. Ele está diretamente relacionado à energia de superfície e influencia no grau de contato, entre a superfície do implante e o meio fisiológico.¹²⁰⁻¹²¹ A tabela 3 mostrou média e desvio padrão igual a zero das superfícies GII e GIII quando comparado com a superfície GI ($74,3^\circ \pm 6,27$), ou seja, uma molhabilidade total, sugerindo um melhor escoamento do sangue sobre a superfície modificada, facilitando o processo de osseointegração^{7,8}.

Rupp¹¹² estudando a molhabilidade de superfícies de titânio sugeriu que as estruturas com topografias micromodificadas influenciam positivamente na dinâmica da molhabilidade da superfície durante o contato inicial com o hospedeiro, assim como na resposta biológica inicial da absorção das proteínas do plasma. A superfície com microestrutura, uma vez apresentando molhabilidade total, pode melhorar o contato inicial com o tecido depois de implantado, devido ao aumento da hidrofília.

Tavares *et al.*¹²² ao analisarem superfícies irradiadas por LASER e LASER + HA demonstraram que não houve contaminação após as modificações da superfície, mostrando ser um método limpo, o que está de acordo com os resultados do presente estudo quando as superfícies foram analisadas por EDX. Foram observados apenas picos de Ti para GI (fig. 14). GII, observou-se picos de Ti e oxigênio, pela oxidação do LASER. Enquanto no GIII observou-se picos de Ti, Ca, P, e O, comprovando a deposição de HA. Estas propriedades

físico-químicas e topográficas da superfície do implante têm uma função direta na osteogênese que ocorreu na interface osso/implante, influenciando uma série de eventos coordenados que incluíram a absorção de proteínas, a proliferação e diferenciação celular, assim como a deposição de matriz óssea.¹⁸

O teste de molhabilidade foi realizado com solução fisiológica por ser o plasma um componente do sistema sanguíneo, portanto parte-se do pressuposto de que onde há molhabilidade com solução fisiológica, haverá molhabilidade com o sangue.

Partindo do pressuposto de que a rugosidade média (R_m) pode ser definida como desvio da média aritmética¹²³ a tabela 1 apresenta um aumento significativo da rugosidade das superfícies modificadas quando comparadas com a superfície controle, como também foi demonstrado na microfotografia da fig.13 uma maior rugosidade para GII e GIII do que para GI. No presente estudo houve uma relação diretamente proporcional observada entre rugosidade superficial (tabela 1) e os valores obtidos pela análise biomecânica (tabela 4).

A análise biomecânica foi realizada por meio do torque reverso e é o tipo de estudo mais relatado em pesquisas sobre tempo de osseointegração¹⁰, contudo neste trabalho foi observado que não houve diferença entre GII e GIII aos 30 e aos 60 dias. Aos 30 dias, GI comparado com GII não apresentou diferenças estatísticas. Entretanto, na comparação do GI com o GIII, aos 30 dias, verificou-se uma diferença estatisticamente significativa, o que mostrou a melhor resposta dos grupos tratados.

Em um estudo comparativo com MEV e EDX, em fêmures de coelho, Petö *et al.*¹⁵ avaliaram irradiação de superfície de implantes de titânio usinado e implantes que receberam jateamento na superfície (Al_2O_3), utilizando LASERs de pulso (Nd: vidro) e, após 3 meses, comparou os resultados com os implantes de superfície apenas usinada. Os autores verificaram que o tratamento com LASER produziu uma topografia isomórfica e neoformação óssea, apresentando boa resistência de torque, 20% superior quando comparado aos implantes

usinados. Entretanto, no presente estudo, ao avaliar 4 semanas, foi obtido um aumento de aproximadamente 73% com torque de remoção dos implantes com superfície modificada por LASER quando comparadas ao GI.

Hallgren *et al.*⁷² após 12 semanas mostraram em um estudo em tíbia de coelhos, histomorfometricamente que a quantidade de tecido calcificado depositado sobre a superfície de implantes irradiados foi maior neste grupo do que no grupo controle, com um percentual de contato osso-implante de 40% para os implantes modificados por LASER e 32% para os usinados. O torque de remoção apresentou um valor médio de 52N.cm para os implantes tratados com LASER e 35N.cm para os implantes usinados, no mesmo período de avaliação.

Cho e Jung⁷¹ analisaram superfícies irradiadas com LASER, em implantes inseridos em tíbias de coelhos, verificaram altos valores de torque de remoção 62,57N.cm contra 23,58N.cm sobre implantes usinados, após 8 semanas da avaliação. No entanto, neste estudo os valores de remoção de torque, em 4 semanas, foram estatisticamente significantes ($p < 0,05$) (GI: 23,6N.cm contra GII: 40,8N.cm) e (GI: 23,6N.cm contra GIII: 60N.cm) em contrapartida apesar dos valores serem maiores nos grupos testes, não houve diferença estatística significativa em 8 semanas, provavelmente por que neste período já tenha atingido maturação óssea em todos os grupos.

As análises em microscópio óptico demonstram o contato direto de osso ao implante e apresenta a melhor maneira de diferenciar entre o sucesso ou não da osteointegração¹¹⁹.

A extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante (COI) é claramente mostrada nas figuras 20 a 22, onde os três tipos de superfícies apresentaram osteointegração, porém o GII e o GIII apresentaram melhores resultados aos 30 dias. O COI revelou que, em 30 dias, o GII possuía um valor estatisticamente similar ao GIII, sendo ambos maiores do que GI. Porém, aos 60 dias o valor do COI no GI aumentou

significativamente na análise estatística, enquanto GII e GIII, os valores mantiveram alto. (Tabela 5)

O DRX do GIII demonstrou a presença de fosfato octacálcio, caracterizando alta cristalinidade da HA²², sugerindo que não houve reabsorção (solubilidade), apresentou ainda altos valores do COI aos 30 e 60 dias (tabela 5), e a manutenção dos altos valores de torque reverso do GIII aos 60 dias. Entretanto Iezzi *et al.*¹¹⁷, afirmaram que a reabsorção do recobrimento pode não interferir na osseointegração.

Meirelles *et al.*¹²⁴ analisando o COI em histologia não descalcificada de coelhos, notou a presença de quantidade de tecido ósseo semelhantes (48%) na interface osso implantes nos grupos estudados (superfície de nano-titânio e superfície de nano-HA), aos 30 dias. Em nosso estudo foi possível comprovar um melhor resultado, aos 30 dias, nos GII e GIII na interface osso/implante (COI), quando comparado com o GI.

Os grupos GI e GII apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) quando comparada a AO aos 30 e 60 dias, sendo diretamente proporcional o aumento do tempo com o aumento do de área óssea, entretanto o GIII não apresentou diferença estatística mantendo os altos valores da AO também aos 60 dias.

Segundo Carvalho *et al.*¹⁰, em um levantamento bibliográfico sobre tratamento de superfície os testes mais utilizados foram análise histométrica e de torque reverso. As últimas publicações enfatizaram o tratamento de superfície nanotexturizada. Os implantes mais utilizados nas pesquisas de análise de superfície foram os de titânio comercialmente puro, e o tipo de superfície mais pesquisada foi a usinada (geralmente utilizada como controle negativo de rugosidade).

Vale ressaltar que este trabalho usou como grupo controle negativo a superfície usinada e não utilizou a hidroxiapatita sobre a superfície usinada (como controle positivo) pela dificuldade de aderência da mesma com a superfície, entretanto esta aderência ocorre

quando a irradiação do LASER promove a formação de uma camada de óxidos, aumentando a resistência de união após a deposição química da HA, devido à alta afinidade entre os óxidos de titânio e HA¹²⁵. Ou seja, quando as superfícies irradiadas com feixe de LASER são expostas a uma solução similar aos fluidos corpóreos, os óxidos da superfície perdem prótons e os grupos de TiO negativos são formados, estes grupos atraem íons Ca_2^+ a partir da solução, que ligam-se à superfície. Por sua vez, sendo este ligeiramente positivo, atrai íons carregados negativamente P (fósforo), que também se ligam a superfície, formando uma fase metaestável de fosfato de cálcio. Esta camada é então cristalizada no interior do osso como HA²⁷.

Esta mesma camada ao ser analisada por secção vertical (discos GIII) mostrou a presença de uma camada “híbrida”, (fig.17f), contudo não foi possível distinguir a modificação por LASER da deposição química da HA.

Talvez a alteração nanotopográfica da superfície de Ti não desencadeie mecanismos significantes para acelerar a osseointegração, ao contrário das alterações físico-químicas da superfície como comprovadas neste estudo. Contudo a nanotecnologia parece ser mais um mecanismo comercial exploratório utilizado pelas indústrias atualmente.

O tratamento da superfície pela irradiação a LASER com e sem deposição de HA proporcionou propriedades físico-químicas que favorecem a osseointegração, com custos relativamente baixos, porém mais estudos em animais devem ser realizados, e posteriormente pesquisas em humanos, o que realmente caracterizará as vantagens destes tratamentos de superfícies.

7. Conclusão:

Implantes de titânio modificados por LASER, associados ou não à hidroxiapatita, apresentaram superfícies com propriedades físico-químicas e morfológicas que contribuem para uma precoce osseointegração quando comparado aos implantes com superfície usinada, em coelhos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Saadoun A P, Legall M L. Clinical results and guidelines on Steri-Oss Endosseous Implants. **Int J Periodont Rest Dent** 1992; 12: 487-99.
2. Albrektson T, *et al.* The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1996;1(1): 11-25.
3. Bränemark P I, Zarb G A, Albrektsson T. **Tissue Integrated Protheses: osseointegration in clinical dentistry**. Chicago: Quintessence, 1985.
4. Albrektsson T A, Multicenter report on osseointegrated oral implants. **J. Prosthet Dent** 1988; 60: 75-84.
5. Henry P J. The Applicability of osteointegrated implants in the treatment of partially edentulous patients: three-year results of a prospective multicenter study. **Quintessence Int**,v.24, p. 123-9, 1993.
6. Salomão M, *et.al.* A reabilitação com implantes osseointegradas: do planejamento à preservação.Consideração sobre uma amostra clínica. **Rev. Bras Implant** 1997;21-25.
7. Zarb G A, Albrektsson T. Osseointegration:a requieu for the periodontal ligament? **Periodont Restorative Dent** 1991;11:88-91.
8. Misch C E, Bidez M W. Fundamento científico lógico do Design do Implante dentário. **In: Implantes dentários contemporâneos**. 2 ed. São Paulo: editora Santos, 2000. p.329-343.
9. Sanz A, Oyarzun A, Farias D, Diaz I. Estudo experimental da resposta óssea a um novo tipo de tratamento de superfície de implantes de titânio. **The International Journal of Oral Implantology** 2001; 10 ano XX.
10. de Carvalho B M, Pellizzer E P, de Moraes S L D, Falcón-Antenucci R, Ferreira Júnior J S. Tratamentos de superfície nos implantes dentários **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.**, Camaragibe v.9, n.1, p. 123 - 130, jan./mar. 2009.
11. György E, Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza J L. Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG LASER irradiation. **Appl. Surface Sci.** 2003;1-8.
12. Sisti KE, Garcia Júnior IR, Guastaldi AC, Antonioli ACMB, de Rossi R, Brochado Neto AL. Analyse titanium surface irradiated with LASER, with and without deposited of durapatite **Acta cir. bras.**2006;21(supl.4):57-62.

13. Theodoro L H, *et al.* LASERs em Implantodontia. **Rev. Brasil. de Cir e Implant** 2002;9(33):74-78.
14. Cecchini S C M. **Estudo *in vitro* das aplicações do LASER de Holmio:YLF em esmalte e dentina, visando a realização de cirurgias de acesso endodôntico e preparo cavitário.** São Paulo,1995. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares-USP.
15. Pető G, Karacs A, Pászti Z, Guczi L, Divinyi T, Joób A. Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity LASER pulses. **Applied Surface Science**2002; 186:7-13.
16. György E, Mihailescu I N, Serra P, Pérez Del Pino A, Morenza J L. Single Pulse Nd:YAG LASER irradiation of titanium: influence of LASER intensity on surface morphology. **Surface and Coating Technology** 2002;154 : 63-67. Barcelona Spain. *a*
17. Lavisse L, Grevey D, Langlade C, Vannes B. The early stage of the LASER-induced oxidation of titanium substrates. **Appl. Surface Sci** 2002; 186:150-155.
18. Schneider GB, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Differentiation of preosteoblasts in affected by implant surface microtopographies. **J Biomed Mater Res A** 2004; 69(3): 462-8.
19. Kim HW, Koh YH, Li LH, Lee S, Kim HE. Kim HW. Hydroxyapatite coatings on titanium substrate with titania buffer layer processed by sol-gel method. **Biomaterial.** 2004; 25: 2533-38.
20. Stanford,C M. Surface Modification of Biomedical and Dental Implants and the Processes of Inflammation, Wound Healing and Bone Formation *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11, 354-369; doi:10.3390/ijms11010354.
21. Forsgren J, Svahn F, Jarmar T, Engkvist H. Formation and adhesion of biomimetic hydroxyapatite deposited on titanium substrates. **Acta Biomater** 2007; 3 (6):980-4.
22. Aparecida AH, Fook MVL, Santos ML, Guastaldi AC. Estudo da influência dos íons K⁺, Mg²⁺, SO₄²⁻ e CO₃²⁻ na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). **Química Nova** 2007; 30: 892-96.
23. Aparecida AH, Fook MV, Guastaldi AC. Biomimetic apatite formation on Ultra-High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. **J Mater Sci: Mater Med** 2009; 20 (6): 1215-22.
24. Lemons J E. Biomaterial condideration for dental implant titanium and cobalt base alloys. **Quimical Dentistry**, 1985; 5(49) ed. Philadelphia;

25. Williams D F. **Definitions in biomaterials**, Proceeding of a consensus conference of the european society for biomaterial, Chester, England, march 3-5. 1986. Ed. Elsevier, 1987.
26. Silva O L. **Avaliação da Biocompatibilidade do Nitreto de Titânio usado como revestimento para Biomateriais Metálicos**. [Tese- Livre Docente em Biomateriais] São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo; 1999.
27. Vasconcelos L, *et al.* Avaliação Clínica de implantes com diferentes superfícies, instalados em maxilas reconstruídas com enxerto ósseo. **Implant News** 2004;1(1):27-32.
28. Spiekermann H. **Atlas colorido de odontologia** : Implantodontia. Porto Alegre: ed. Artmed, 2000.
29. Lemons J E, Natiella J. **Biomaterials, biocompatibility, and peri-implant consideration**, ed dental clinics of north America – 30(1) Jan, 1986.
30. Carvalho P S P, Ponzoni D. Biologia da Osseointegração. **Implantes Osteointegráveis – Técnica e Arte**. São Paulo, 2002.
31. Wen H B, *et al.* Fast precipitation of calcium phosphate layers on titanium induced by simple chemical treatments, **Biomaterials** 1997; 18:1471-1478.
32. Norton M R. Marginal bone levels at single tooth implants with a conical fixture design. The influence of surface macro-and microstruture. **Clin. Oral Impl. Res.** 1998; 9:91-99.
33. Piliar R M. Overview of Surface Variability of Metallic Endosseous Dental Implants: Textured and Porus Surface-Strutred Designs. **Implant Dentistry** 1998; 7(04): 305-312.
34. Han C-H, Johansson C B, Wennerberg A, Albrektsson T. Quantitative and qualitative investigations of surface enlarged titanium and titanium alloy implants. **Clin Oral Impl Res.** 1998; 9-10.
35. Davis J E. Mechanisms of Endosseous Integration. **Int. J. Prosthodont** 1998; 11(05).
36. Orsini G, Assenza B, Scarano A, Piattelli M, Piattelli A. Surface Analysis of Machined Versus Sandblasted and Acid-Etched Titanium Implants. **J. Oral Maxillofac. Implants** 2000; 15:779-784.
37. Sykaras N, Lacopino A, Marker V A, Triplett R G. Woody, R.D.; Implant Materials, Designs, and surface Topographies: Their Effect on Osseointegration. A Literature Review. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants** 2000; 15:675-690.
38. Wennerberg A, Albrektsson T. Suggested Guidelines for the Topographic Evaluation of Implant Surfaces. **Intern. J. Oral & Maxillofac. Implants** 2000;15(03).
39. Hall J, Lausmaa J. Properties of a New Porous Oxide Surface on Titanium Implants. **Applied Osseointegration Research** 2000; 1(1).

40. Larsson C. The Interface between Bone and Implants with Different Surface Oxide Properties. **Appl. Osseointegration Research** 2000;1(1): 9-14.
41. Lazzara R J, Davis J E. Resposta óssea a superfície de implantes de titânio com ataque ácido duplo usinado. **31 Inovaion Journal** 2001; 5 (2): 16-24.
42. Proussaef P, Lozada J, Ojano M. Histologic Evoluotion of Threaded HA-Coated Root-Form Implants After 3.5 to 11 Years of Function: A Report of Three Cases. **Int J Periodont Rest Dent** 2001; 21(1):21-29.
43. Li D, Liu B, Wu J. Interface óssea de implantes citologicamente influenciada por uma superfície modificada por jato de areia: um estudo preliminar in vitro. **Internac. J. Oral Implantology** 2001; 10.
44. Lim Y J, Oshida Y, Andres C J, Barco M T. Surface Characterizations of Variously Treated Titanium Materials. **J. Oral Maxillofac. Implants** 2001; 16(03).
45. Abrahamsson I, Zitzmann N U, Berglundh T, Wennerberg, A. Bone and soft tissue integration to titanium implants with different surface topography: An Experimental Study in the Dog. **Intern. Jour. Oral & Maxillofac. Implants** 2001; 16 (3).
46. Hayakawa T, Kiba H, Yasuda S, Yamamoto H, Nemoto K. A histological and histomorphometrical evaluation of two types of retrieves human titanium implants. **Int J Periodont Rest Dent** 2002; 22(02):165-171.
47. Trisi P, Lazzara R, Rao W, Rebaudi A. Bone-implant Contact and Bone Contact on Machined and Osseotite implant Surfaces. **Jorn.Intern. Periodont. & Restorative Dentistry** 2002; 22(6).
48. Geurs N C, Jeffcoat R L, Mcglumphy E A, Reddy M S, Jeffcoat M K. Influence of Implant Geometry and Surface Characteristics on Progressive Osseointegration. **J. Oral Maxillofac. Implants** 2002; 17: 811-815.
49. Luklinska Z B, Schluckwerder H. *In vivo* respost to HA-polyhydroxybutyrate/polyhydroxyvalerate composite. **J. of Microscopy** 2003; 211(2):121-129.
50. Zechner W, *et al.* Osseous healing characteristics of three different implants types: A histological and histomorphometrical study in mini-pigs. **Clinical Oral Implants Research** 2003; 14(2):150-157.
51. Matsuyama T, Aoki A, Oda S, Yoneyama T, Ishikawa I. Effects of the Erg:YAG LASER Irradiation on Titanium Implant Materials and Contaminated Implant Abutment Surfaces. **J. of Clinical LASER Medicine & Surgery** 2003; 21(1):7-17.

52. Veis A A, *et al.* Osseointegration of Osseotite and Machined titanium implants in autogenous bone graft. A histologic and histomorphometric study in dog. **Clinic and Oral Implants Research**. 2004; 15:54-61.
53. Okazaki, *et al.* Corrosion resistance, mechanical properties, corrosion fatigue strength and cytocompatibility of new Ti alloys without Al and V. **Biomaterials** 1998;19: 1197-1215.
54. 1197-1215.
55. Van Noort, R., Review: Titanium-the implant material of today, **J. Mat. Sci** 1987; 22: 3801-3811.
56. Herman H. Plasma spray coatings, **Scientific American** 1998; 78-83.
57. Mangal R, Amit B, Susmita B. LASER Surface Modification of Electrophoretically Deposited Hydroxyapatite Coating on Titanium. **J. Am. Ceram. Soc.**, 91 [11] 3517–3521 (2008) DOI: 10.1111/j.1551-2916.2008.02698.xr 2008 The American Ceramic Society.
58. Alencar A C, De Souza P C R D, Melnikov P, Guastaldi A C. Analysis of the Surface of the Alloy Ti-6Al-4V treated by Plasma Spray Deposition for use as a Biomaterial **In: Second International Conference On Inorganic Materials**; 2000 Sept 13-16, Santa Barbara, California;1990. Santa Barbara: University California, USA,1990.
59. Faeda R S, Tavares H S, Sartori R, Guastaldi A C, Marcantonio Jr. E. Evaluation of titanium implants with surface modification by LASER beam. Biomechanical study in rabbit tibias **Braz. oral res.** vol.23 no.2 São Paulo Apr./June 2009 doi: 10.1590/S1806-83242009000200008.
60. Sisti K, Guastaldi A C, Brochado Antonioli A, Queiroz T P, Tavares H S, Souza F, *et al* (2010) Surface and biomechanical study of titanium implants modified by LASER with and without hydroxyapatite coating, in rabbits. **Journal of Oral Implantology** In-Press. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-10-00030
61. Srivastava D, Chang I T H. Loretto, M.H. The effect of process parameters and heat treatment on the micorstructure of direct LASER fabricated TiAl alloy samples. **Intermetallics**, 2001; 9: 1003-1013.
62. Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza J L. Coloring of titanium by pulsed LASER processing in air. **Thin Solid Films** 2002; 415 (201) a.
63. Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza J L. Oxidation of titamium through Nd:YAG LASER irradiation. **Appl. Surface Sci.** 2002; 887:197-198 b.
64. Selamat M S, Baker T N, Watson L M. Study of the surface layer formed by the LASER processing of Ti-6Al-4V alloy in a dilute nitrogen environment. **J. Mat. Proc. Tech** 2001;113: 509.

65. György E, Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza J L. Growth of surface structures on titanium through pulsed Nd:YAG LASER irradiation in vacuum. **Appl. Surface Sci.** 2002; 197-196 c.
66. Garcia I, de la Fuente J, Damborenea J J. (Ti,Al)/(Ti,Al)N coating produced by LASER surface alloying. **Materials Letters** 2002; 53(44).
67. György E, Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza J L. Surface nitridation of titanium by pulsed Nd:YAG LASER irradiation. **Appl. Surface Sci.** 2002;186:130-134 b.
68. Moritz N, Jokinen M, Peltola T, Areva S, Yli-Urpo A. Local induction of calcium phosphate formation on TiO₂ coating on titanium via surface treatment with a CO₂ LASER. **Journal Biomedical Materials Research** 2003; 1(65) 9.
69. Courant B, Hantzpergue J J, Benayoun S. Surface tratmente of titamium by LASER irradiation to improve resistance to dry-sliding friction. **WEAR** 1999; 236 (39).
70. Jiang P, He X L, Li X X, Yu L G, Wang H M. Wear resistance of a LASER surface alloyed Ti-6Al-4V alloy. **Surface and Coatings Tech** 2000;130 (24).
71. Yue T M, Yu J K, Mei Z, Man H C. Excimer LASER surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement. **Materials Letters** 2002; 52: 206-212.
72. Cho S A, Jung S K. A removal torque of the LASER-treated titanium implants in rabbit tibia. **Biomaterials** 2003; 24: 4859-4863.
73. Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J, Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by LASER micromachining. **Biomaterials** 2003; 24:701.
74. De Giancomo A, Shakhatov V A, Senesi G S, De Pascale O, Prudenzeno F. Plasma-assisted pulsed LASER deposition for the improvement of the film growth process. **Applied Surface Science** 2002; 186: 533-537.
75. Storz O, Gasthuber H, Woydt M. Tribological properties of thermal-sprayed Magnéli-type coatings with different stoichiometries (Ti_nO_{2n-1}). **Surface & coatings technology** 2001; 140: 76-81.
76. Gross K A, Berndt C C, Goldschlag D D, Lacono V. *In vitro* changes of hydroxyapatite coatings. **International journal of oral & maxillofacial implants** 1997; 12(5): 589-597.
77. Vallet-Regí, M. Ceramics for medical applications. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, p. 97-108, 2001.
78. Viswanath, B.; Ravishankar, N. Interfacial reactions in hydroxyapatite / alumina nanocomposites. **Scripta Materialia**, 55, p. 863-866, 2006.

79. Kalita, s. J.; bhardwaj, a.; bhatt, n. A. Nanocrystalline calcium phosphate in biomedical ceramics. **Mater. Sci. Eng.**, C27, p. 441-449, 2007.
80. Salinas, A. J.; Vallet-Regí, M. Evolution of ceramics with medical applications. **Z. Anorg. Chem.**, p. 1762-1773, 2007.
81. Kawachi E Y, Bertran C A, Dos Reis R R. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova** Campinas 2000; 23(4):518-522.
82. Nakazawa T. **Inorganic Phosphate materials**. Tokyo: Elsevier, 1989; 2:15-17.
83. Zeng H, Lacefeld W R. XPS, EDX and FTIR analysis of pulsed LASER deposited calcium phosphate bioceramic coatings: the effects of various process parameters. **Biomaterials** 2000; 21: 23-30.
84. Abe Y, Kokubo T, Yamamuro T. Apatite coatings on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. **Journal of materials science-materials in medicine** 1990; 1: 536-40.
85. Barreré F, Layrolle P, Van Blitterswijk C A, De Groot K. **Biomimetic calcium phosphate coatings on Ti6Al4V: A crystal growth study of octacalcium phosphate and inhibition by Mg²⁺ and HCO₃⁻**. **Bone**, v.25, 2, p. 107s-111s, 1999.
86. Vossen J L, Kern W. **Thin Film Processes**, Academic Press, Inc., 1990.
87. Tanahashi M, Yao T, Kokubo T, Minoda M, Nakamura T, Yamamuro T. Apatite Coating on Organic Polymers by a Biomimetic Process **Journal of American Ceramic Society** 1994; 77(11):2805-2808.
88. Thomas K A, Jay J F, Cook S D. The effect of surface macrotexture and hydroxylapatite coating on the mechanical strengths and histologic profiles of titanium implant materials. **Journal of Biomedical Materials Research** 1987; 21(12): 1395-1414, San Diego.
89. Le Geros R Z, Myers H M. **Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine Monographs in Oral Science** 1991;15.
90. Meffert R M, Block M S, Kent J N. What is Osseintegration?, International **Journal of Periodontics & Restorative Dentistry** 1987; 4.
91. Kokubo T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. **Acta Mater.** V.46, 7, p. 2519-2527, 1998.
92. Rigo E C S, Oliveira L C, Boschi, A O. Uma Breve Revisão sobre Recobrimento de Substrato Metálicos com Materiais Bioativos. In:Anais do 12º **Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências de Materiais (CBECIMAT)**, 1996. Águas de Lindóia, 350-353.

93. Miyaji F, Kim H, Handa S, Kokubo T, Nakamura T. Bonelike apatite coating on organic polymers: novel nucleation process using sodium silicate solution. **Biomaterials** 1999; 20: 913-919.
94. Feng Q L, Cui F Z, Wang H, Kim T N, Kim J O. Influence of solution conditions on deposition of calcium phosphate on titanium by NaOH-treatment. **J. Crystal Growth** 2000; 210:735-740.
95. Pham M T, Maitz M F, Matz W, Reuther H, Richter H, Steiner G. Promoted Hydroxyapatite Nucleation on Titanium Ion-Implanted with Sodium, **Thin Solid Films** 2000; 379(1-2):50-56.
96. Kanekos S, *et al.* In vivo evaluation of bone-bonding of titanium metal chemically treated with a hydrogen peroxide solution containing tantalum chloride, **Biomaterials** 2001;22: 875 - 881.
97. Coradazzi LF, Garcia IR Jr, Manfrin TM. Evaluation of autogenous bone grafts, particulate or collected during osteotomy with implant burs: histologic and histomorphometric analysis in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 2007 Mar-Apr;22(2):201-7.
98. Lourenço, E. J. V. "Avaliação da osteogênese com proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs): análise em defeitos na calvária e ao redor de implantes de titânio em coelhos". 2002. 174 f. Tese (Doutorado em Odontologia) -Faculdade de Odontologia de Bauru , Bauru, 2002.
99. Margonar R, Sakakura C E, Holzhausen M, Pepato M T, Cândia A R Jr., Marcantonio E Jr. The Influence of Diabetes Mellitus and Insulin Therapy on Biomechanical Retention Around Dental Implants: A Study in Rabbits. **Implant Dentistry** December 2003 - Volume 12 - Issue 4 - pp 333-339.
100. Cortez, A. L. V. Influência de diferentes tipos de implantes endósseos de titânio sob o processo de osteointegração. Análise histológica e histométrica em tíbia de coelho. 2002. 100 f. (Dissertação - Mestre em clinica odontologia) . Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba, 2002.
101. Cullity B.D. (1978) Elements of X-ray Diffraction, 2nd edn, Addison-Wesley.
102. Kennedy S B, Washburn N R ,Simon Jr. C G, Amis E J. Combinatorial screen of the effect of surface energy on fibronectin-mediated osteoblast adhesion, spreading and proliferation. **Biomaterials** Volume 27, Issue 20, July 2006, pages 3817-3824.
103. Rupp F, Scheideler L, Rehbein D, Axmann D, Geis-Gerstorfer J. Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. **Biomaterials** Volume 25, Issues 7-8, March-April 2004, Pages 1429-1438.

104. Silva RA, Fagundes DJ, Silva ACMBA, Sisti KE, Carvalho TMMB, Silva DN. Effect of anti-inflammatory agents on the integration of autogenous bone graft and bovine bone devitalized matrix in rats. **Acta cir. bras.** 2008;23(2):140-148.
105. Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AAS. BioEstat. **Aplicações estatísticas das Ciências Bio-médicas** [programa de computador]. Versão 5.0. Belém (PA): Sociedade Mamirauá; 2007.
106. Curtis A, Wilkinson C. New depths in cell behaviour: Reactions of cells to nanotopography. **Biochem Soc Symp** 1999;65:15-26.
107. Luiz Meirelles, Fredrik Currie, Magnus Jacobsson, Tomas Albrektsson, Ann Wennerberg. The Effect of Chemical and Nanotopographical Modifications on the Early Stages of Osseointegration. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, Volume 23, Number 4, 2008.
108. Mendonça, G.; Mendonça, D.B.; Simoes, L.G.; Araujo, A.L.; Leite, E.R.; Duarte, W.R.; Aragao, F.J.; Cooper, L.F. The effects of implant surface nanoscale features on osteoblast-specific gene expression. **Biomaterials** 2009, 30, 4053–4062.
109. Albrektsson, T. & Wennerberg, A. Oral implant surfaces: part 1 – review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. **International Journal of Prosthodontics** 17: 536–543. 2004
110. Luiz Meirelles. Nanoestruturas e a resposta óssea. Uma alternativa segura para a reabilitação com implantes osseointegráveis? **Implantnews**. v7-n.2 março-abril 2010.
111. Barrere, F.; Layrolle, P.; Blitterswijk, C. A. V.; Groot, K.; **Bone** 1999, 25, 107S.
112. Barrere, F.; Blitterswijk, C. A. V.; Groot, K.; Layrolle, P.; **Biomaterials** 2002, 23, 1921.
113. I. Mayer, R. Schlam, F.D.B. Featherstone, **J. of Inorg. Bioch** 66 (1997) 1.
114. Assis CM, Vercik LCO, Santos ML, Fook MVL, Guastaldi AC. Comparison of crystallinity between natural hydroxyapatite and synthetic cp-Ti /HA coatings. **Mat. Res.** São Carlos, v.8, n. 2, June 2005.
115. Ramires PA, Giuffrida A, Milella E. Three-dimensional reconstruction of confocal LASER microscopy images to study the behaviour of osteoblastic cell grown on biomaterials. **Biomaterials**. 2002;23: 397-406.
116. Balla VK, DeVasConCellos PD, Xue W, Bose S, Bandyopadhyay A. Fabrication of compositionally and structurally graded Ti –TiO₂ structures using LASER engineered net shaping (LENS). **Acta Biomaterialia**. 2009;5:1831–1837.

117. Daugaard H, Elmengaard B, Bechtold J E, Jensen T, Soballe K. The effect on bone growth enhancement of implant coatings with hydroxyapatite and collagen deposited electrochemically and by plasma spray. 2009 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/jbm.a.32303.
118. Iezzi G, Orlandi S, Pecora G, Piattelli A. Histologic and Histomorphometric Evaluation of the Bone Response Around a Hydroxyapatite-Coated Implant Retrieved After 15 Years. **Int J Periodontics Restorative Dent** 2009;29:99–105.
119. Baier RE, Meyer AE, Natiella JR, Carter JM. Surface properties determine bioadhesive outcomes: methods and results. **J Biomed Mater Res** 1984;18:337–355.
120. T Albrektsson. Hard tissue implant interface. **Australian Dental Journal** 2008;(1 Suppl): S34–S38; doi: 10.1111/j.1834-7819.2008.00039.x 53
121. Bornstein M M, Valderrama P, Jones AA, Wilson TG, Seibl R, et al. Bone apposition around two different sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces:a histomorphometric study in canine mandibles. **Clin Oral Implants Res.** 2008;19:233-41.
122. Textor M, Sittig C, Frauchiger V, Tosatti S, Brunette DM. Properties and biological significance of natural oxide films on titanium and its alloys. In: Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P, editors. **Titanium in Medicine**. Berlin: Springer; 2001. p 171-230.
123. Tavares H S, Almeida Filho E Faeda R, Sartori, R, Guastaldi A C, Guastaldi F S, Marcantônio Jr E. Avaliação de implantes modificados por feixe de LASER Nd: YAG e implantes de superfície usinada empregando-se MEV e torque reverso / Evaluation of implants modified by LASER beam Nd: YAG and machined surface implants employing SEM and reverse torque test **ImplantNews** 6(4):381-385, 2009.
124. Wennerberg A, Albrektsson T. Structural influence from calcium phosphate coatings and its possible effect on enhanced bone integration. **Acta Odontol Scand** 2009; 67: 333-40.
125. Meirelles L, Melin L, Peltola T, Kjellin P, Kangasniemi I, Currie F, Andersson M, Albrektsson T, Wennerberg A. Effect of Hydroxyapatite and Titania Nanostructures on Early In Vivo Bone Response. **Clinical Implant Dentistry and Related Research 2008 Volume 10, Number 4** DOI 10.1111/j.1708-8208.2008.00089.x
126. Forsgren J., Svahn F., Jarmar T., Engkvist H. (2007) Formation and adhesion of biomimetic hydroxyapatite deposited on titanium substrates. **Acta Biomaterialia** 3: 980-4.

ANEXOS

QuadroV: Valores do torque - reverso no período de 30 e 60 dias pós-operatório.

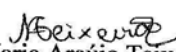
	GI	GII	GIII
30dias	23	54	65
	20	35	60
	10	35	70
	45	40	45
	20	40	60
60 dias	30	77	60
	62	62	67
	30	62	76
	68	48	73
	30	53	50



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº. 121/2006 da Doutoranda **Karin Ellen Sisti**, sob a Orientação do Prof. Rafael de Rossi, referente ao projeto de pesquisa "**Avaliação histológica e biomecânica da osseointegração do implante de titânio sob ação do laser**", de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião de 27 de julho de 2006.

Campo Grande (MS), 27 de julho de 2006.


Profª Maria Araújo Teixeira
Presidente da CEUA



PRÊMIO SUGUNDO LUGAR POSTER

- Your Submission

29/7/2010

[Responder](#) ▾[Journal of Oral Implantology](#)

Journal of Oral Implantology

joi@peertrack.net

Para Karin E Sisti

De: **em.aaaid-joi.0.1cab9c.b7136694@editorialmanager.com** em nome de **Journal of Oral Implantology** (joi@peertrack.net)

quinta-feira, 29 de julho de 2010 5:10:32

Enviada:

Karin E Sisti (karinellensisti@hotmail.com)

Para:

Ref.: Ms. No. AAID-JOI-D-10-00030R1

SURFACE AND BIOMECHANICAL STUDY OF TITANIUM IMPLANTS MODIFIED BY LASER WITH AND WITHOUT HYDROXYAPATITE COATING, IN RABBITS.
Journal of Oral Implantology

Dear Mrs Karin Sisti,

I am pleased to tell you that your work has been accepted for publication in Journal of Oral Implantology.

It was accepted on 07/29/2010

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,

Jim Rutkowski, DMD, PhD
Editor-in-Chief
Journal of Oral Implantology

ImplantNews

O universo científico da nova Implantodontia

São Paulo, 16 de novembro de 2010

COATC – 151

À Doutora
Karin E. Sisti

Ref.: aprovação de trabalho científico – IN-2010-094

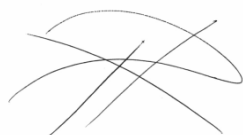
Prezada Professora,

Ficamos felizes em informar que o trabalho de sua autoria e Antonio C Guastaldi; Andreia M Brochado Antonioli; Thallita P Queiroz, Idelmo R Garcia Jr, Francisley Avila Souza, Adriano Piattelli; Hewerson Santos Tavares, Elcio Marcantonio Jr., Elenir Rose Jardim Cury Pontes, Rafael de Rossi “**Implantes nanotopograficamente modificados pela ação do laser Yb-YAG**” foi **aprovado com louvor** e será publicado em uma das edições futuras deste veículo.

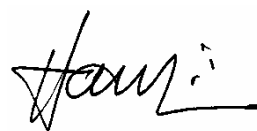
Solicitamos que aguarde novo contato informando a publicação do mesmo.

Obrigado pelo apoio e parceria.

Cordialmente,



Paulo Rossetti
Editor Científico



Haroldo Vieira
Editor Executivo

• European Journal of Oral Sciences - EOS-4995-MAN-11

11/2/2011

[Responder](#) ▾

_oral.sciences@odontologi.gu.se

- oral.sciences@odontologi.gu.se
- Para karinellensisti@hotmail.com

De: **onbehalf of +oral.sciences+odontologi.gu.se@manuscriptcentral.com** em nome de **oral.sciences@odontologi.gu.se**

Enviada: sexta-feira, 11 de fevereiro de 2011 16:20:41

Para: karinellensisti@hotmail.com

11-Feb-2011

Dear Dr. sisti:

Thank you for submitting your manuscript entitled "NONDECALCIFIED HISTOLOGICAL STUDY OF BONE RESPONSE TO TITANIUM IMPLANTS NANOTOPOGRAPHICALLY MODIFIED BY LASER WITH AND WITHOUT HYDROXYAPATITE COATING" to the European Journal of Oral Sciences. It has been successfully submitted online and is presently being given full consideration.

Your manuscript ID number is EOS-4995-MAN-11.

Please refer to the above manuscript ID in all future correspondence or when contacting the Editorial Office for questions. If there are any changes in your mailing address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/eos> and edit your user information as appropriate.

We will contact you again as soon as we have the necessary information for an editorial decision. You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/eos> .

Sincerely,

Editorial Office
European Journal of Oral Sciences

• bone-tec 2009 Abstract publication in TE Journal

7/7/2010

[Responder](#) ▾

[bone-tec](#) [Adicionar a contatos](#)

Para congress@bone-tec.com

De: **bone-tec** (schuckert@bone-tec.com)

Enviada: quarta-feira, 7 de julho de 2010 3:17:14

Para: congress@bone-tec.com

Dear bone-tec 2009 presenting author,

I am particularly pleased to inform you today that all free abstracts of lectures and posters presented during the bone-tec 2009 congress will be published in the August ONLINE issue of Tissue Engineering Part A,

It would be a great pleasure for me to host you again during bone-tec 2010, 7 to 10 October, in Hannover, Germany.

For detailed information please do not hesitate to contact me or please have a look at www.bone-tec.com.

I hope to see you in Hannover in October.

With my best wishes,

Karl-Heinz Schuckert

Chairman bone-tec

INDENTE

Institute of Innovative Oral Surgery and Medicine

Centre for Tissue Engineering

Ellernstr. 23, D-30175 Hannover, Germany

phone +49 511 850 62 32 fax +49 511 28 17 57

info@indente.de www.indente.de

www.bone-tec.com

- EAO 2010 – Poster Abstract acceptance

Glasgow – Scotland -UK

18/5/2010

eao2010@clq-group.com

- eao2010@clq-group.com
- Para karinellensisti@hotmail.com

De: **eao2010@clq-group.com**

Enviada: terça-feira, 18 de maio de 2010 9:44:43

Para: karinellensisti@hotmail.com

Dear Mrs SISTI,

On behalf of the Abstract Committee, we would like to thank you for your submission for the 19th Annual EAO Meeting, which will be held on October 6-9 2010, in Glasgow.

It is our pleasure to announce that your abstract entitled:

- **Study of titanium implants modified by laser - hydroxyapatite.**
KARIN E. SISTI(1, 2) ^{F P} ANTONIO CARLOS GUASTALDI(2) IDELMO RANGEL GARCIA Jr.(3)
 THALITA P. QUEIROZ(3) RAFAEL DE ROSSI(1) ADRIANO PIATTELLI(4) ANDREIA BROCHADO
 ANTONIOLLI(1) RICARDO AYDOS(1)
 (1) UFMS, CAMPO GRANDE, Brazil(2) UNESP, ARARAQUARA, Brazil(3) UNESP, ARAÇATUBA,
 Brazil(4) UNICH, CHIETI, Italy
 (P = Presenting author F = First author)

Abstract preliminary Number : **282**

Was selected for presentation as a **poster**, according to the indications below.

Set-up: Thursday, October 7th, from 09:00 to 11:00

Display timeframe: all the duration of the Meeting

Dismantling: Saturday, October 9th, from 14:00

Dimensions of the board: width 90 cms x height 160 cms (**MAXIMUM SIZE!**)

Please note that Call4Posters® - Provided by Marathon International - will be made available for you to submit your poster.

Apresentação Oral :

BONE-TEC Hannover - Germany

Dear Ms. Sisti,

Your abstract to bone-tec 2009, titled
' BIOMECHANICAL AND HISTOLOGICAL STUDY OF BONE RESPONSE TITANIUM IMPLANTS
TOPOGRAPHICALLY MODIFIED BY LASER Nd-YAG, WITH AND WITHOUT COATED
HYDROXYAPATITE, IN RABBIT TIBIA.'

has been accepted for oral presentation.

The oral presentations are scheduled for a 30 minute talk followed by a 15 minute discussion. Please prepare Microsoft PowerPoint slides.

We would like to remind you that the presenting author must register online (www.bone-tec.com/information/registration.htm) for the Congress and present her/his paper personally. Accepted abstracts without the fee paid will neither be considered for presentation nor published in the congress book or the TE Journal.

Online registration of presenting authors with receipt of payment must be effected by 31 July, 2009.

(Note: Although the congress office will be closed for summer holidays from 10 July to 2 August, 2009, the registration office will be opened throughout the whole term.)

A preliminary programme of bone-tec 2009 will be available online after completion of author registration, i.e. by mid-August.

If you require any further information, please do not hesitate to contact us.

With my very best wishes,

Dr. Karl-Heinz Schuckert
bone-tec 2009 Chair

- **Symposium IBI - Rostock Germany**

3rd Symposium "Interface Biology of Implants"

Dear Dr. Sisti,

I am pleased to inform you that your abstract titled "AN IN VIVO HISTOLOGICAL AND BIOMECHANICAL STUDY OF BONE RESPONSE TITANIUM IMPLANTS TOPOGRAPHICALLY MODIFIED BY LASER Nd-YAG" has been selected for a poster presentation.

Odd-numbered posters will be presented by the authors May 14 between 13.30 and 15.00 h and even-numbered posters May 15 between 13.30 and 15.00 h (Poster numbers will be shown in the printed program).

We ask the authors to adhere to these presentation times and are prepared to give a summarizing comment of 2 min before a jury.

All posters can be set up May 13 between 16.00 and 19.00 h and have to be dismantled May 15, 18.30 h.

Instructions for preparing your poster are available online at www.uni-rostock.de/ibi.

Because of the limited time for the oral presentations, about 10% of the abstracts could be selected for a talk.

We look forward to seeing you in Rostock-Warnemünde

Joachim Rychly

10/4/2009

[Responder](#) ▾

CCT Faenza Italy

CCT Faenza

cctfaenza@alice.it

Para KARIN SISTI

De: **CCT Faenza** (cctfaenza@alice.it)

Enviada: sexta-feira, 10 de abril de 2009 6:28:40

Para: KARIN SISTI (karinellensisti@hotmail.com)

Dear dr. Karin E. SISTI,

Thank you for your appreciated request to participate to our twelve edition of " Ceramics, Cells and Tissues" at which 116 Contribution was proposed from speakers coming from 30 countries. The Final program is already in print, and I can still insert it as POSTER, if you send me a short abstract of your interesting contribution, as soon as possible, but not later than Tuesday 14 april. Thank you for your attention, hoping to see you in Faenza with our friend Adriano Piattelli. Our Scientific secretariat could help you for your accomodation in Faenza (Rossella tel. +39- 347-0766986--mail:cctfaenza@alice.it). Best regards.

Ravaglioli Antonio --12 CCT Chairman

Title: SURFACE AND BIOMECHANICAL STUDY OF TITANIUM IMPLANTS MODIFIED BY LASER WITH AND WITHOUT HYDROXYAPATITE COATING, IN RABBITS.

Short Title: SURFACE BIOMECHANICAL TITANIUM IMPLANTS MODIFIED LASER HYDROXYAPATITE RABBITS

Article Type: Research

Keywords: lasers; titanium; dental implants; durapatite; rabbits.

Corresponding Author: Mrs karin e sisti, PhD

Corresponding Author's Institution: UFMS

First Author: karin e sisti, fellow PhD

Order of Authors: karin e sisti, fellow PhD; Rafael de Rossi, PhD; Antonio C Guastaldi, PhD; Adriano Piattelli, PhD; Idelmo R Garcia Jr., PhD; Andreia M Brochado Antonioli, PhD; Thalita P Queiroz, fellow Ph D; Ricardo D Aydos, PhD; Hewerson S Tavares, fellow PhD

Abstract: PURPOSE: Surface and biomechanical analysis of titanium implant surfaces modified by laser

beam with and without hydroxyapatite. METHODS: Titanium implants whit 3 different surfaces were inserted in the tibia of 30 rabbits. Group I (GI) machined surface (control group), group II irradiated with laser (GII), and group III laser beam and hydroxyapatite(HA) coating - biomimetic method (GIII).

Topographical analysis with SEM was done before surgery in the tibia. These rabbits were distributed

into 2 periods: 4 and 8 weeks post-surgery. After observation periods, biomechanical analysis (removal torque) was done. Statistic analysis: Student-Newman-Keuls Method. RESULTS: Surface showed roughness in GII and GIII. Biomechanical analysis demonstrated values with significant differences in GII and GIII. CONCLUSION: Titanium implants modified by laser irradiation can increase

osseointegration during the initial phase.

INTRODUCTION: Titanium has proven its suitability as an implant material in surgery over many years.

Excellent biocompatibility and corrosion resistance are outstanding features.¹ Osseointegration is the direct structural and functional contact between organized bone and the implant's surface.² Biologically, there is no evidence of direct contact between the bone and the implant, what can be determined is a high or low quantity of fibrous tissue. "Osseointegration is the process by which stable and asymptomatic fixation of an aloplastic material in the bone is obtained and maintained during function".³ With the objective of improving or even accelerating this process, especially in areas with poor quality bone, various studies about the modification of the surface of titanium implants have been undertaken in the last few decades, some of which have shown that coating with hydroxyapatite improves bone rigidity and implant/bone interface.⁴ Other examples of methods used to modify the titanium implant surface include titanium and hydroxyapatite plasma-spray, blasting with different particles (sand, glass, aluminum oxide), acid etching, anodization, and irradiation with high intensity laser.^{5,6,7,8,9} The oxidation and nitration of a titanium surface with laser ablation is important because it increases the surface area, and also because titanium oxide and titanium nitrate are biocompatible.^{6,7,8,9} Titanium nitration increases the wettability of implants and is considered bio-inert by the Food and Drugs Administration (FDA).^{6,7,8,9} In 2002, titanium implant surfaces were irradiated, at varying high temperatures, with laser, which changed the original morphologic surface.¹⁰ Laser was used on titanium samples and indicated that adjusting

parameters such as potency and length of exposure influenced the melted surface.¹¹ In studies of oxidation by laser on titanium surfaces, Lavisse¹² concluded that the thickness of the melted layer depends on the amount of emission on the same local surface. There are few studies about laser-treated titanium implants associated with hydroxyapatite. Based on this, our study was conducted.

PURPOSE: surface and biomechanical analysis of titanium implant surface modified by laser beam with and without a subsequent hydroxyapatite coating.

MATERIALS AND METHODS: Titanium implants 3.75 X 10.00 mm were inserted by Branemark's method into the tibia of 30 male rabbits (New Zeland- *albinus*) at 6 months age, between 3 and 4Kg. The animals received 3 types of different titanium implant surface: machined (control group - GI), laser beam (GII), and laser beam + hydroxyapatite (GIII). The rabbits were divided into 2 periods of observation: 4 and 8 weeks post-surgery.

Modification of implant surface: in **GII** and **GIII**, the implants were irradiated with high intensity laser (Group of Biomaterials Institute of Chemistry UNESP Araraquara-SP-Brazil) with potency pre-determined⁶. Following laser etching **GIII** received a coating of hydroxyapatite by biomimetic method.⁶

SEM (scanning electron microscope): all implant surfaces were analyzed using SEM - Institute of Chemistry - UNESP Araraquara-SP, before being inserted into the rabbits. (fig.1,2,3) **Surgery:** The animals were anaesthetized with Ketamine (50mg/Kg) injected intra-muscularly (Vetaset- Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brazil) and xilazine chloridrate (5mg/Kg, Dopaser – Laboratório Calier do Brasil Ltda – Osasco, São Paulo, Brazil) and received local anaesthesia, mepivacaine chloridrate, (0.3ml/Kg, Scandicaine 2% with adrenaline 1:100.000, Septodont, France) to induce hemostasis. The animals also received antibiotic Pentabiotic (0,1mL/Kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brazil) intra-muscularly post-surgery and Dipirona Sodic (1mg/kg, Ariston Indústrias Químicas and Farmaceuticas Ltda, São Paulo, Brazil) as analgesic. The animals did not receive anti-inflammatory because it would interfere with bone response.¹³ Polvidine was used as antiseptic, the dieresis and the bone perforation was carried out by Brånemark method (round drill, twist drill 2mm, pilot 2/3, and twist drill 3mm, with physiological solution irrigation). The implants

were inserted bi-cortically into each proximal tibial metaphase.¹⁴ Following the observation periods (4 and 8 weeks) the animals received overdose of anesthesia to euthanize them at the conclusion of each period.

Removal Torque: after 4 weeks half of the implants were re-opened, the bone and soft tissue covering the implants were removed, the mount implants were connected to the torque machine -ATG24CN Tohnich Tokio – Japan, and an anti-clockwise movement was performed to remove the implant. The maximal torque value for breakage of bone-implant interaction was measured in Newton centimeters (N cm) and the values sent for statistic analysis. No forces were applied in a vertical direction so as to avoid alterations in the data.⁹ After 8 weeks the remaining implants received the same process.

Statistic analysis: Student-Newman-Keuls method.

RESULTS: In GII and GIII the surface analysis showed a morphology affected by melt and quick solidification zones following laser irradiation, resulting in sphere-like structures on the entire surface. In short the laser treatment yielded a homogenized, porous surface, which increased surface area and volume. The biomechanical analysis at 4 weeks, of GI, showed less force at torque removal when compared with GII and GIII. At 8 weeks there were no significant statistical differences among the 3 groups.

DISCUSSION: The surface of implants always causes concern and interest in scientific communities,¹⁵ because the surface has a close relationship with the time required for osseointegration. Consequently, delay between surgery and prosthesis installation over implants troubles patients and professionals alike as implant surface micro-topography deeply affects bone healing. As a result, research topics like implant surface and the bone-implant interface have gained significant importance in modern implant dentistry. Surface modification can be realized by various methods, laser irradiation is one of them. There are studies using laser to alter the surface of implants^{6,7,8,9,10,11,15}. In 2002, Gyorgy, *et al*¹¹ used high intensity lasers to change the titanium surface of implant surfaces, and post analysis with SEM, displayed good modification in the last layer of titanium. Yue's¹⁶ study of the alloy Ti₆Al₄V surface irradiated with laser to decrease corrosion and increase resistance, presented a reduction of corrosion on the alloy and alteration to the surface without fractures and with relative malleability. In a comparative study using SEM and XPS (photoelectron spectroscopic excited by X-ray), on rabbit femurs, Pető and col¹⁰ irradiated the surface of titanium implants that had been machined and implants that had received

surface blasting (Al_2O_3) using pulse lasers (Nd:glass), and compared after 3 months the results with implants having a machined surface only, to show that treatment with laser made an isomorphic topography and the new bone around presented a good resistance with torque, 20% more when compared to implants with a machined surface only. At 4 weeks, our study achieved an increase of 73% using removal torque on implants with a surface modified by laser. Hallgren¹⁷ after 12 weeks, showed histomorphometrically the quantity of calcified tissue deposited on the surface of irradiated implants was greater than the control group, having a bone-implant contact percentage of 40% for the laser-modified implants and 32% for the machined ones and the removal torque test showed a mean value of 52 Ncm for the laser-treated implants and 35 Ncm for the machined implants. Cho and Jung¹⁸ analyzed surfaces irradiated with laser, in endosseous implants, that revealed high values with removal torque 62,57 N.cm against 23,58 N.cm on machined implants, after 8 weeks of surgery, in rabbit tibias. However, in our study the removal torque values at 4 weeks were significant statistically (GI:23,6 N.cm against GII:40,8 N.cm) whereas there were no statistically significant values at 8 weeks. The process of modifying the titanium surface of implants by laser ablation is viable, clean and easy to administer, the melt and quick solidification produce uniform irregularities in the metal and can be controlled by various factors, such as parameters of the lasers sheaves and atmosphere during irradiation. As described by different studies, laser treatment seems to be a promising method for dental implant, resulting in a better and earlier onset of osseointegration. We noted that modified implant surfaces, produced using high intensity lasers, have homogenous irregularities that can improve osseointegration of this material. The micrograph GII ([fig.2](#)) displays a typical morphology with melt and quick solidification zones that are produced by laser irradiation. The treatment yields a homogenized porous surface that increases surface area and volume, additionally it presents deeper and bigger linear defects that significantly increase contact surface when compared with GI. GII and GIII ([fig.2,3](#)) display a greater roughness than GI ([fig1](#)). These homogeneous defects on the surface are important characteristics in endosseous implants, because they optimize osseointegration. It was found that operating the laser in a normal room atmosphere and temperature produced a titanium surface with the physical and chemical proprieties desirable.⁹ Hydroxyapatite deserves merit because it is the principal mineral component of bone tissue. Hydroxyapatite is a ceramic phosphate or bioceramic, with a composition and structure similar to the mineral phase of bone and tooth.¹⁹ Proussaef's²⁰ analysis of implants and hydroxyapatite, after periods of function between 3.5 and 11 years, concluded that hydroxyapatite did not present absorption or dissolution regardless of the period of function, and that this probably only occurs when there is contact with soft tissue. Geurs *et al*²¹ analysed geometrical and surface characteristics of 3 types of implant: threaded titanium plasma-

sprayed (TPS), threaded hydroxyapatite-coated (HA), and cylindric HA-coated during the process of osseointegration on a total of 634 implants and showed that HA coating tends to accelerate the initial rate of osseointegration. In a study on cellular growth using osteoblasts and biomaterials, Ramires²² showed that there was precocious cellular aggregation, cellular differentiation and cellular mineralization on TiO₂ surfaces coated with hydroxyapatite. Balla *et al*²³ studied novel structures that were successfully made in Ti-TiO₂ combination using laser engineered net shaping. The addition of fully dense, compositionally graded TiO₂ ceramic on porous Ti significantly increased the surface wettability and hardness. Ti-TiO₂ surface, modified by laser Nd-YAG to create approximately 30 vol % porosity, achieved stable long-term fixation due to bone cell in-growth through interconnected porosity. In our study, the sample GIII showed a greater surface roughness and more isomorphic characteristics when compared with GI and GII as a consequence of the presence of hydroxyapatite on the sphere-like structures. Modification of the surface of laser irradiated implants, using hydroxyapatite, yielded an increase in surface area contact and decreased the period of osseointegration. Nevertheless, despite GIII presenting higher torque values than GII, statistical analysis indicated no significant difference.

CONCLUSION: Titanium implants modified by laser irradiation can increase osseointegration during the initial phase.

REFERENCES:

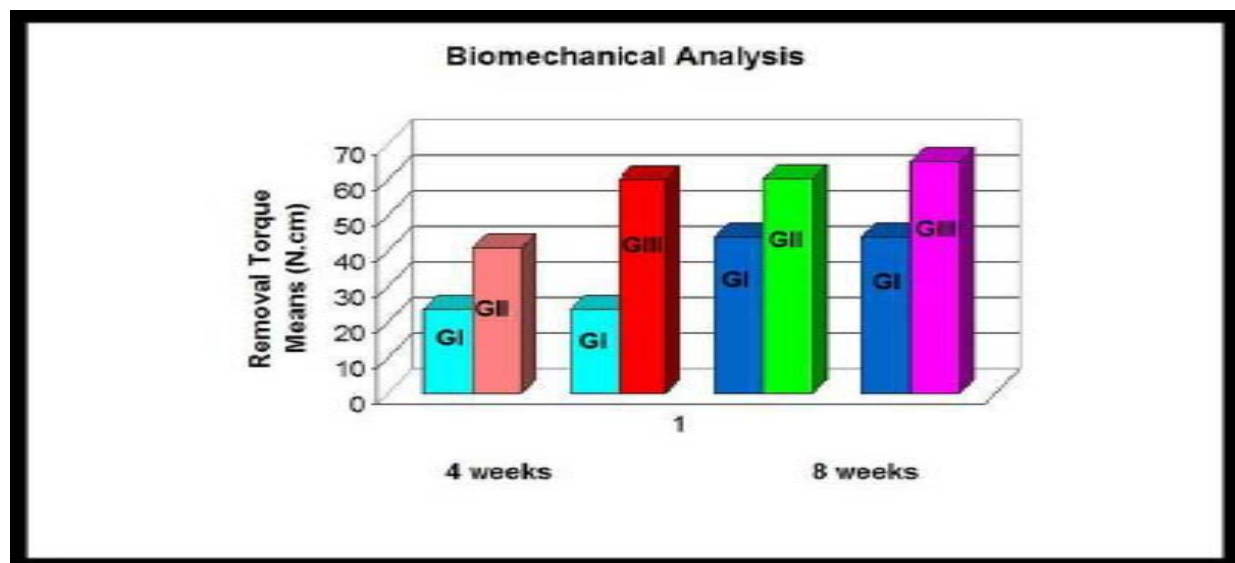
1. Taddei EB, Henriques VAR, Silva CRM, Cairo CAA. Production of new titanium alloy for orthopedic implants. *Materials Science and Engineering*. 2004; 24: 683-687.
2. Bränemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. *Tissue Integrated Prostheses: osseointegration in clinical dentistry*. Chicago: Quintessence; 1985.
3. Zarb GA, Albrektsson T. Osseointegration: a required for the periodontal ligament? *Periodont Rest Dent*. 1991;11:88-91.
4. Sanz A, Oyarzun A, Farias D, Diaz I. Experimental study of bone response to a new surface treatment of endosseous titanium implants. *Implant Dentistry*. 2001;10:126-131.
5. György E, Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza JL. Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG laser irradiation. *Applied Surface Science*. 2004;222:415-422.
6. Sisti KE, Garcia Júnior IR, Guastaldi AC, Antonioli ACMB, de Rossi R, Brochado Neto AL. Analyse titanium surface irradiated with laser, with and without deposited of durapatite Acta cir. bras. 2006;21(supl.4):57-62.

7. Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J, Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. *Biomaterials*. 2003;24:701-710.
8. Traini T, Mangano C, Sammons R, Mangano F, Macchi A, Piattelli A. Direct laser metal sintering as a new approach to fabrication of an isoelastic functionally graded material. *Dental Materials*. 2008; 24:1525-1533.
9. Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio Jr. E. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias. *Braz. oral res*. 2009;23(2):137-143. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242009000200008&lng=en. doi: 10.1590/S1806-83242009000200008.
10. Pető G, Karacs A, Pászti Z, Guczi L, Divinyi T, Joób A. Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity laser pulses. *Appl Surface Sci*. 2002;186:7-13.
11. György E, Mihailescu IN, Serra P, Pérez Del Pino A, Morenza JL. Single Pulse Nd:YAG laser irradiation of titanium: influence of laser intensity on surface morphology. *Surface Coating Technol*. 2002;154:63-7.
12. Lavissee L, Grevey D, Langlade C, Vannes B. The early stage of the laser-induced oxidation of titanium substrates. *Appl Surface Sci*. 2002;186:150-155.
13. Silva RA, Fagundes DJ, Silva ACMBA, Sisti KE, Carvalho TMMB, Silva DN. Effect of anti-inflammatory agents on the integration of autogenous bone graft and bovine bone devitalized matrix in rats. *Acta cir. bras*. 2008;23(2):140-148.
14. Scarano A, Carinci F, Mangano C, Quaranta A, Piattelli A. Removal torque values of titanium implants inserted into bone defects filled with hydroxyapatite: a histologic and histomorphometric analysis in rabbit. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2007;20:49-53.
15. de Carvalho BM, Pellizzer EP, de Moraes SLD, Falcón-Antenucci RM, Ferreira Jr JS. *Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac., Camaragibe*. 2009;9:123 – 130.
16. Yue TM, Yu JK, Mei Z, Man HC. Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement. *Mat Letters*. 2002;52:206-12.
17. Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J, Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. *Biomaterials*. 2003; 24:701.
18. Cho SA, Jung SK. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials*. 2003;24:4859-63.
19. Kawachi EY, Bertran CA, Dos Reis RR. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. *Química Nova*. 2000; 23(4):518-22.
20. Proussaef 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 Restorativa Dent*. 2001;21(1):21-9.
21. Geurs NC, Jeffcoat RL, Mcglumphy EA, Reddy MS, Jeffcoat MK. Influence of Implant Geometry and Surface Characteristics on Progressive Osseointegration. *J Oral Maxillofac Implants*. 2002;17: 811-15.
22. Ramires PA, Giuffrida A, Milella E. Three-dimensional reconstruction of confocal laser microscopy images to study the behaviour of osteoblastic cell grown on biomaterials. *Biomaterials*. 2002;23: 397-406.
23. Balla VK, DeVasConcellos PD, Xue W, Bose S, Bandyopadhyay A. Fabrication of compositionally and structurally graded Ti –TiO₂ structures using laser engineered net shaping (LENS). *Acta Biomaterialia*. 2009;5:1831–1837.

Figure 1: SEM GI: machined titanium implant surface.

Figure 2: SEM GII: titanium implant surface modified by laser beam.

Figure 3: SEM GIII: titanium implant surface modified by laser beam + hydroxyapatite.



IMPLANTES NANOTOPOGRAFICAMENTE MODIFICADOS PELA AÇÃO DO LASER Yb-YAG

Karin E. Sisti^{1,2}; Antonio C Guastaldi²; Andreia M Brochado Antoniolli¹; Thallita P Queiroz^{2,3}; Idelmo R Garcia Jr³; Francisley Avila Souza^{2,3}; Adriano Piattelli⁴; Hewerson Santos Tavares²; Elcio Marcantonio Jr.⁵; Elenir Rose Jardim Cury Pontes⁶; Rafael de Rossi⁷;

¹ Departamento de Clínica Cirúrgica – Faculdade de Medicina Dr. Hélio Mandeta – UFMS, Campo Grande-MS.

² Grupo de Biomateriais – Instituto de Química – UNESP Araraquara-SP.

³ Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada. Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

⁴ Departamento de Cirurgia. Faculdade de Odontologia e Medicina- UNICH - Chieti – Itália.

⁵ Departamento de Periodontia. Faculdade de Odontologia de Araraquara. UNESP- Brasil.

⁶ Departamento de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - UFMS, Campo Grande-MS.

⁷ Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UFMS, Campo Grande-MS.

RESUMO

O Titânio como biomaterial apresenta excelente biocompatibilidade e resistência à corrosão. Vários estudos foram realizados nas últimas décadas sobre modificação da superfície dos implantes de titânio, a fim de otimizar do processo da osteointegração, o uso laser é um dentre eles. OBJETIVO: o propósito deste estudo foi avaliar implantes de titânio modificados por feixe de laser de alta intensidade, comparando-os com os implantes usinados, por meio de análise topográfica e histométrica. MÉTODOS: Implantes de titânio com duas superfícies diferentes foram inseridas em tíbia de 30 coelhos, (um de cada lado, escolhidos de forma aleatória). Grupo I (GI) superfície usinada (grupo controle) e Grupo II (GII) superfície irradiada com laser Yb-YAG (*Pulsed Ytterbium Fiber Laser*). A caracterização das superfícies foi realizada por meio de MEV-EDS, ângulo de contato e rugosidade média (Ra). Após 30 e 60 dias pós-operatórios os animais foram submetidos à eutanásia e os implantes foram removidos para análise histológica da interface osso/implante. RESULTADOS: a microtografia do GII mostrou uma superfície rugosa e homogênea, com molhabilidade total e rugosidade maior do que o GI. A análise histológica da extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante (ELCOI) revelou melhores resultados no GII aos 30 dias ($39,26 \pm 18,23$ e $68,41 \pm 13,68$, para GI e GII, respectivamente). CONCLUSÃO: Os implantes de titânio modificados por laser mostraram importantes características superficiais que favoreceram uma precoce osseointegração.

Palavras-chave: lasers; titânio, implantes dentários, osseointegração, coelhos.

ABSTRACT: Titanium has proven its suitability as an implant material in surgery over many years. Excellent biocompatibility and corrosion resistance are outstanding features. The surface of implants always causes concern and interest in scientific communities, because the surface has a close relationship with the time required for osseointegration. Surface modification can be realized by various methods, laser irradiation is one of them. PURPOSE: Surface analysis of titanium implant surfaces modified by laser beam. METHODS: Titanium implants with 2 different surfaces were inserted in rabbits. Group I (GI) machined surface (control group), group II irradiated with laser (GII). The period post-surgery was 30 and 60 after surgery. Surface's analysis using SEM-EDS, contact angle, roughness (Ra) and after observation periods, histological analyses using EXAKT was done. RESULTS: In GII the surface analysis showed a nanomorphology affected by melt and quick solidification zones following laser irradiation (SEM), as well a total wettability and a R_a significantly. In short, the laser treatment yielded a homogenized, porous surface, which increased surface area and volume. Histological analysis of Bone implant contact showed better results in GII at 30 days ($39,26 \pm 18,23$ and $68,41 \pm 13,68$, GI and GII, respectively). CONCLUSION: Titanium implants modified by laser irradiation showed important features that may accelerate early osseointegration.

Keywords: lasers; titanium; dental implants, osseointegration, rabbits.

INTRODUÇÃO: Sabe-se que a rugosidade da superfície do titânio influencia as respostas teciduais e celulares, uma vez que é foco de muitas pesquisas,¹⁻³ esse metal tem mostrado uma boa opção como biomaterial apresenta excelente biocompatibilidade e resistência à corrosão.⁴ Dentre os exemplos de modificação de superfície do implante de titânio estão hidroxapatita plasma *spray*, jateamento com diferentes partículas (areia, vidro, óxido de alumínio), o ataque ácido, anodização e irradiação com alta intensidade de laser.^{5,6,7,8,9} A oxidação e nitretação da superfície de titânio por ablação a laser apresenta grande interesse por aumentar a superfície e sem alterar a biocompatibilidade.^{6,7,8,9} A nitretação de titânio aumenta a molhabilidade de implantes e são considerados bio-inerte pelo *Food and Drugs Administration* (FDA)^{7,8,9} Em 2002, superfícies de implantes de titânio foram irradiados, em diferentes temperaturas elevadas, o que alterou a morfologia original da superfície.¹⁰ O laser foi usado em amostras de titânio e indicou que os parâmetros de regulação, tais como a potência e a duração da exposição influenciaram o derretimento desta superfície.¹¹ Nos estudos de oxidação por laser em superfícies de titânio, Lavisse¹² concluiu que a espessura da camada derretida depende da quantidade de emissões na superfície do mesmo local. Os mecanismos que explicam as razões para uma precoce osseointegração, assim como o sucesso ou fracasso dos implantes não são totalmente compreendidos. O surgimento da nanotecnologia pode ser um caminho de sucesso para somar conhecimentos no fenômeno osseointegração, tanto na interface tecido-implante, como na superfície do metal.¹³ Pesquisas recentes em escala nanométrica tendem a apresentar resultados positivos para superfície modificadas de titânio¹³⁻¹⁵ com base nisso, achou-se pertinente a condução deste estudo.

OBJETIVO: Avaliar implantes de titânio com superfícies modificadas por feixe de laser de alta intensidade, comparando-os com os implantes usinados, por meio de análise topográfica e histométrica.

MATERIAIS E MÉTODOS: De acordo com os aspectos éticos e legais este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em animais da UFMS, sob o protocolo n.121-2006.

Modificação da superfície do implante: no GII os implantes foram irradiados com laser de alta intensidade Yb-YAG - *Pulsed Ytterbium Fiber Laser* (Grupo de Biomateriais do Instituto de Química UNESP Araraquara-SP-Brasil), com potência pré-determinada¹⁵.

Caracterização da superfície:

Análise da rugosidade: a média de rugosidade (Ra) de cada tipo de superfície foi avaliada usando um rugosímetro - equipamento Mitutoyo SJ-400, pertencente à FOAr - UNESP.

MEV – EDS (MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA e ESPECTROMETRIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X): todas as superfícies dos implantes foram analisadas utilizando MEV - Instituto de Química - UNESP Araraquara-SP, antes de ser inserido nos coelhos.

Ângulo de contato: Análise do ângulo foi realizada com vídeo baseada em equipamento de medição óptico (dataphysics, modelo OCA-15, controlado por software. Todos os dados foram registrados em temperatura ambiente, 75% de umidade relativa do ar e utilizando água destilada como umectantes. O ângulo de contato foi determinado empregando três amostras de cada grupo para obter uma média.¹⁶

Procedimento cirúrgico: Implantes de titânio 3,75 X 10,00 mm (Titaniumfix- São José dos Campos-SP, Brasil) foram inseridos pelo método de Branemark, respeitando os princípios da técnica asséptica, nas metáfises tibiais direita e esquerda (escolhidas de forma aleatória) de 30 coelhos brancos (*Oryctolagus cuniculus*), raça nova Zelândia, variação *albinus*, com idade de 5 meses, machos, de peso entre 3 e 4 Kg, Cada animal recebeu 2 diferentes tipos de superfície de implantes de titânio: grupo controle usinado (GI), e grupo tratado por feixe laser, (GII). Os animais passaram por um período de observação pós- cirúrgico de 30 e 60 dias.

Análise histométrica: Após cada período de observação os animais sofreram eutanásia e as amostras teciduais contendo os implantes, foram imersas em formol neutro a 4% tamponado e processadas para a secção de acordo com o método descrito por Donath (1982)¹⁷. Os blocos contendo os implantes e o fragmento ósseo

foram desidratados em série crescente de etanol (60-100%) e, posteriormente, infiltrada e polimerizado em resina fotopolimerizável (Technovit 7200 VLC, Kultzer Heraeus GmbH & Co., Wehrheim, Alemanha). Em seguida foram cortados em uma seção central por uma unidade de corte de moagem (Exakt Apparatebau, Hamburgo, Alemanha). As seções finais foram de aproximadamente 45 μ m de espessura e corados com fuccina ácida e azul de Stevenel *plus*. As análises histométricas foram realizadas por meio do software de análise de imagens IMAGELAB 2000, versão 2.4. Foram calculadas, em porcentagem, a extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante (ELCOI) entre as 3 espiras mais coronárias, localizadas em osso cortical em cada lado do implante.

Análise estatística: Os valores de ELCOI foram comparados nos períodos pós-cirúrgicos de 30 e 60 dias, em cada grupo, através do teste *t*. A comparação entre os dois grupos (G1 X G2) em cada período pós-cirúrgico, para os valores de ELCOI, foi realizada pelo teste *t*. A normalidade da distribuição foi analisada pelo Teste *Shapiro-Wilk*, o nível de significância adotado foi de 5%, programa estatístico utilizado foi o *Bio Estat* versão 5.0.¹⁸

RESULTADOS

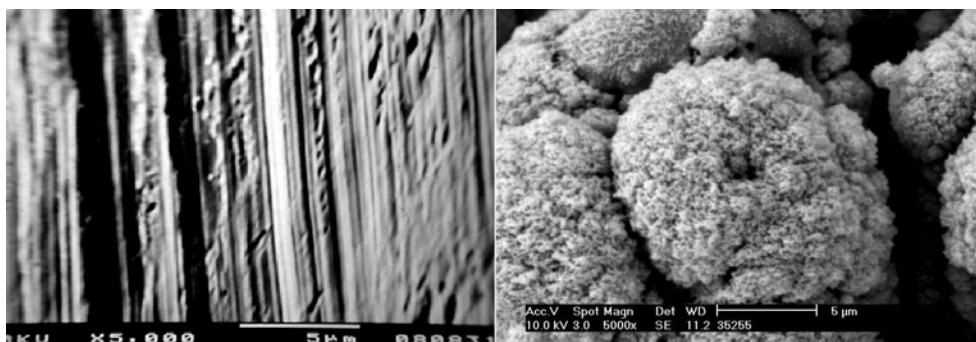


Figura 1: Fotomicrografia em MEV em aumento de 5.000X GI e GII.

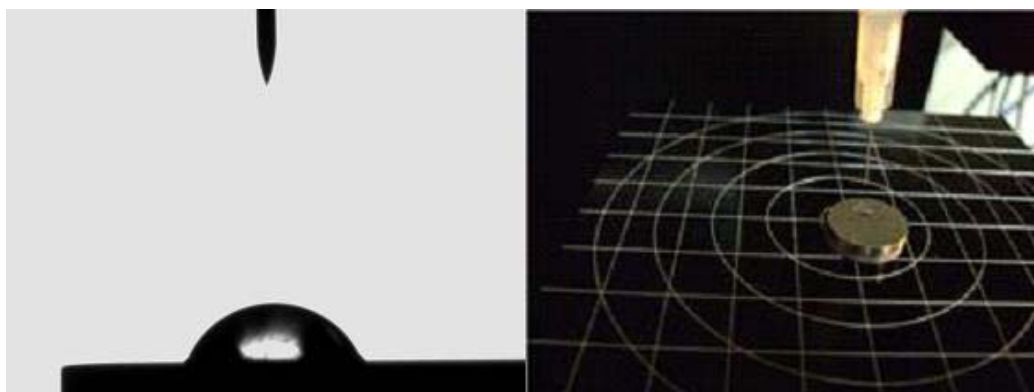


Figura 2: Mensuração do ângulo de contato mostrando a molhabilidade (hidrofilia).

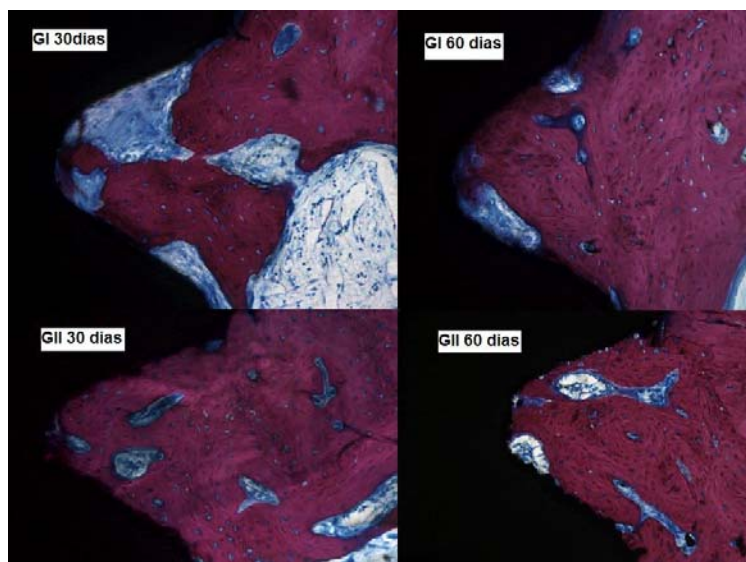


Figura 3: microfotografia da interface osso implante grupo usinado GI 30dias(a), usinado GI 60 dias (b), grupo laser GII 30 dias (c), laser GII 60 dias (d), nota-se em preto o implante seccionado transversalmente, em rosa (fuccina ácida) presença de tecido ósseo mineralizado, em azul (Stevenel) ausência de tecido ósseo mineralizado.

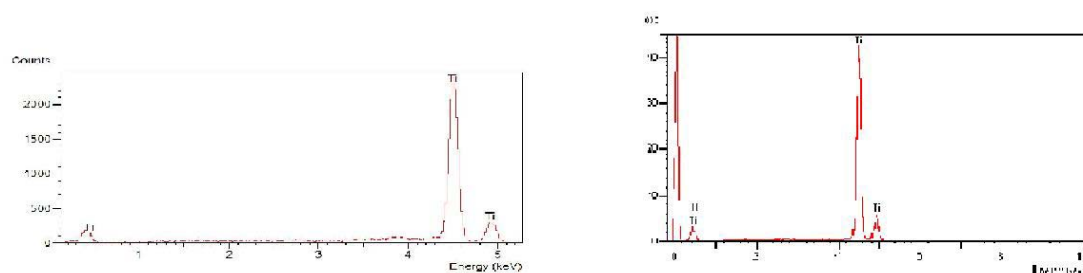


Figura 4: EDS mostrando que não houve contaminação das duas superfícies. No GI apresentou apenas picos de Ti, enquanto que no GII apresentou picos de Ti e óxidos.

Quadro 1. Ângulo de contato para analisar a molhabilidade (hidrofilia) .

SUPERFÍCIE	ÂNGULO DE CONTATO
Usinado	72.73°
Laser	0°

Tabela 1: Média da rugosidade (R_a) do GI e GII.

SUPERFÍCIE	R_a μm
GI (usinado)	0.252
GII (Laser)	10.096

Tabela 2 – Média e desvio padrão dos valores do ELCOI dos grupos experimentais: usinado (G1) e laser (G2).

Período	G1	G2	p
30 dias	39,26 ± 18,23	68,41 ± 13,68	$p < 0,001$
60 dias	52,37 ± 15,43	70,89 ± 10,47	$p < 0,001$
p	0,006	0,536	-

Nota: se $p \leq 0,05$ – diferença estatisticamente significativa. Teste *t*.

DISCUSSÃO: Apesar de não estar claramente descrito na literatura processo de osseointegração sabe-se que ele desencadeia mecanismos biológicos favoráveis ao sucesso do implante¹⁹. Após a inserção do metal uma série de etapas de modelagem e remodelagem óssea ocorrem na interface osso com a superfície do implante.¹⁹ Esta superfície sempre causou preocupação e interesse nas comunidades científicas,²⁰ pela estreita relação com o tempo necessário para a osseointegração. Modificação da superfície pode ser realizada por vários métodos, a irradiação do laser é um dentre eles. Já é descrito na literatura grande número de pesquisas que usam o laser para modificar a superfície do titânio^{6,7,8,9,10,11,15}. Em 2002, Gyorgy, *et al*¹¹ usaram lasers de alta intensidade para alterar a superfície de titânio, e a analisaram posteriormente com MEV, mostrando modificação na última camada do metal. Yue's²⁰ estudou a superfície da liga Ti6Al4V irradiados com laser avaliando a resistência à corrosão, o que apresentou redução na corrosão, assim como uma alteração da superfície, ausência de fraturas e uma relativa maleabilidade, comprovando uma característica positiva na superfície. A ablação da superfície por laser é fácil de administrar, apresenta baixo custo, é um processo limpo e reproduzível, o derretimento e a solidificação rápida produz irregularidades uniformes no metal e podem ser controladas por vários fatores, tais como parâmetro de feixes de laser e atmosfera durante irradiação, concordando com a descrição de vários autores^{6,8,9,10,11,20}. O tratamento a laser parece ser um método promissor para os implantes dentários, resultando em uma precoce osseointegração. Por meio de EDS notamos que não houve contaminação nos dois grupos, apenas picos de titânio no GI e picos de titânio e óxidos no GII o que comprova a oxidação do processo de ablação.(fig.4) Observamos que as superfícies de implante modificado por laser apresentam irregularidades homogêneas que podem favorecer a osseointegração, as zonas de derretimento e solidificação rápida resultaram em estruturas similares a esferas em toda a superfície, em escala nanométrica (fig.1), que sugere um aumento da área e o volume. Entretanto as microfotografias das amostras usinadas revelaram uma topografia lisa com estrias relacionadas com o processo de usinagem. (fig.1) Partindo do pressuposto que a rugosidade média (R_a) pode ser definida como desvio da média aritmética²¹ a tabela 1 apresenta um aumento significativo da superfície teste quando comparada com a superfície controle, como também foi demonstrado na microfotografia do GII (fig.1). As amostras irradiadas apresentaram uma superfície rugosa com sulcos paralelos e estruturas proeminentes semelhantes a couve-flor provavelmente devido à varredura do feixe de laser sobre a superfície, estas ainda apresentaram características de nanoestruturas, sendo esta outra forma de manipular a resposta biológica sobre a superfície de titânio, a criação de superfície com características topográficas em escala nanométrica. A escala em nanômetros (10^{-9} m) significa a faixa de 1-100 nm, em dimensão,^{13,23} a nanotecnologia mostra um campo promissor e amplo para pesquisas sobre interação dos biomateriais, e talvez seja uma resposta mais específica para o advento da osseointegração. A hidrofília ou molhabilidade está diretamente relacionada com o potencial da energia da superfície, tem sido objeto de muitos estudos ao longo dos anos e é facilmente estabelecida (fig. 2).²² A superfície usinada apresentou uma molhabilidade parcial, enquanto que a superfície laser apresentou uma total molhabilidade, o que sugere a facilidade de escoamento do sangue sobre a superfície modificada, facilitando o processo de osseointegração^{7,8}. A extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante (ELCOI) é

claramente mostrada na figura 3, onde os dois tipos de superfícies apresentaram osseointegração, porém o grupo laser favoreceu maior presença de células ósseas na interface, tanto em 30 dias quanto em 60 dias, assim como um osso mais maduro com presença de lamelas. Meirelles *et al* 2010¹³ analisando o ELCOI em histologia não descalcificada de coelhos pode notar a presença de maior quantidade de tecido ósseo na interface osso implantes no grupo tratado (superfície nanométrica) , em 30 dias. Em nosso estudo também foi possível comprovar uma melhora em tanto em 30 dias no grupo teste quanto em 60 dias quando comparados aos grupos controle (tab.2). Com isso é possível relatar que a formação óssea foi mais rápida e com maior contato osso-implante nos grupos modificados a laser (fig.3), esse reparo ósseo precoce caracteriza a superfície modificada como material em excelência quanto ao quesito biocompatibilidade, pois um biomaterial deve apresentar não somente compatibilidade mas também biofuncionabilidade. Contudo o desenvolvimento de biomateriais com dimensões nanométricas pode ser uma forma de modular a resposta óssea e somar conhecimentos para uma melhor compreensão sobre mecanismos da osseointegração.

CONCLUSÃO: Os implantes de titânio modificados por feixes de laser de alta intensidade apresentaram características importantes, favorecendo uma osseointegração precoce.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Cooper LF. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. J Prost Dent 2000; 84: 522-34.
2. Shalabi MM, Gortemaker A, Van't Hof MA, Jansen JA, Creugers NH. Implant surface roughness and bone healing: a systematic review. J Dent Res 2006; 85: 496-500.
3. Le Gue'hennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. Dent Mater 2007; 23: 844-54.
4. Taddei EB, Henriques VAR, Silva CRM, Cairo CAA. Production of new titanium alloy for orthopedic implants. Materials Science and Engineering. 2004; 24: 683-687.
5. György E, Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza JL. Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG laser irradiation. Applied Surface Science. 2004; 222: 415-422.
6. Sisti KE, Garcia Júnior IR, Guastaldi AC, Antonioli ACMB, de Rossi R, Brochado Neto AL. Analyse titanium surface irradiated with laser, with and without deposited of durapatite Acta cir. bras. 2006; 21(supl.4):57-62.
7. Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J, Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. Biomaterials. 2003; 24: 701-710.
8. Traini T, Mangano C, Sammons R, Mangano F, Macchi A, Piattelli A. Direct laser metal sintering as a new approach to fabrication of an isoelastic functionally graded material. Dental Materials. 2008; 24: 1525-1533.
9. Faeda RS, Tavares HS, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio Jr. E. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias. Braz. oral res. 2009; 23(2): 137-143. doi: 10.1590/S1806-83242009000200008.
10. György E, Mihailescu IN, Serra P, Pérez Del Pino A, Morenza JL. Single Pulse Nd:YAG laser irradiation of titanium: influence of laser intensity on surface morphology. Surface Coating Technol. 2002; 154: 63-7.
11. Lavis L, Grevey D, Langlade C, Vannes B. The early stage of the laser-induced oxidation of titanium substrates. Appl Surface Sci. 2002; 186: 150-155.

12. Luiz Meirelles, Fredrik Currie, Magnus Jacobsson, Tomas Albrektsson, Ann Wennerberg. The Effect of Chemical and Nanotopographical Modifications on the Early Stages of Osseointegration. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, Volume 23, Number 4, 2008.
13. Albrektsson, T. & Wennerberg, A. (2004) Oral implant surfaces: part 1 – review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *International Journal of Prosthodontics* 17: 536–543.
14. Karin Sisti, Antonio Guastaldi, Andreia Brochado Antonioli, Thallita Queiroz, Hewerson Tavares, Francisley Souza, Idelmo Garcia Jr., Adriano Piattelli, Ricardo Aydos, Rafael de Rossi (2010) Surface and biomechanical study of titanium implants modified by laser with and without hydroxyapatite coating, in rabbits. *Journal of Oral Implantology* In-Press. **doi:** 10.1563/AAID-JOI-D-10-00030
15. Stanford C M. Surface Modification of Biomedical and Dental Implants and the Processes of Inflammation, Wound Healing and Bone Formation. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11*, 354-369; doi:10.3390/ijms11010354.
16. Park J, Lakes RS. Biomaterials. An introduction. New York: Springer Surface.64.Properties and adhesion 3 ed, 2007 p. 72-75.
17. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982 Aug;11(4):318-26.
18. Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AAS. BioEstat. Aplicações estatísticas das Ciências Bio-médicas [programa de computador]. Versão 5.0. Belém (PA): Sociedade Mamirauá; 2007.
19. Yue TM, Yu JK, Mei Z, Man HC. Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement. *Mat Letters*. 2002;52:206-12.
20. Wennerberg A, Albrektsson T. Structural influence from calcium phosphate coatings and its possible effect on enhanced bone integration. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 333-40.
21. T Albrektsson. Hard tissue implant interface. *Australian Dental Journal* 2008; 53:(1 Suppl): S34–S38.
22. Mendonca, G.; Mendonca, D.B.; Simoes, L.G.; Araujo, A.L.; Leite, E.R.; Duarte, W.R.; Aragao, F.J.; Cooper, L.F. The effects of implant surface nanoscale features on osteoblast-specific gene expression. *Biomaterials* 2009, *30*, 4053–4062.

NONDECALCIFIED HISTOLOGICAL STUDY OF BONE RESPONSE TO TITANIUM IMPLANTS TOPOGRAPHICALLY MODIFIED BY LASER WITH AND WITHOUT HYDROXYAPATITE COATING.

Karin E Sisti fellow PhD (UFMS Campo Grande – MS Brazil)

Adriano Piattelli PhD (UNICH Chieti – Italy)

Antonio C Guastaldi PhD (UNESP Araraquara – SP Brazil)

Thallita P Queiroz Ph D (UNIARA Araraquara – SP Brazil)

Rafael de Rossi PhD (UFMS Campo Grande – MS Brazil)

Corresponding Author: Mrs Karin E Sisti, fellow PhD

Address: R. José Anotnio Pereira, 2200 sl 06 Campo Grande –MS Brazil zip cod:79010190

phone: 55-67-8424-9071

55-67-2109-8343

karinellensisti@hotmail.com

ABSTRACT: Nondecalcified Histological analysis of titanium implant modified by laser with and without hydroxyapatite. 3 surfaces were inserted into rabbits. Group I - machined surface, group II irradiated with laser, and group III - irradiated with laser and coated with hydroxyapatite by biomimetic method. Bone Implant Contact showed no statistically difference in GII, at 30 and 60 days. Bone Area showed no statistically significant difference in GIII at 30 and 60 days. GII and GIII presented a higher average roughness. SEM of GII

and GIII revealed a rough surface. Titanium implants modified by laser can increase osseointegration during the initial phase.

KEYWORDS: lasers; titanium; dental implants; durapatite; rabbits.

INTRODUCTION: Several reviews published during the past 10 years have concluded that implant surface roughness on a micrometer level influences cell response time¹⁻⁴. Diverse chemical and physical modifications are implemented to address specific tissue responses. Blasting with different particles (sand, glass, aluminum oxide), acid etching, anodization, irradiation with high intensity laser⁵⁻⁹ and other moderately roughened oral implants show a stronger bone response than turned or plasma-sprayed devices¹⁰. The relationship between a biological medium and the surface of titanium biomaterial presents conditions that favor proliferation, nutrition, and bioadhesion, in which cells with an osteoblastic phenotype may undergo transformation improving their physical, chemical, and mechanical properties⁴. The oxidation and nitration of a titanium surface with laser ablation is biocompatible and is deemed bio-inert by the Food and Drugs Administration (FDA), moreover, it increases the surface area and its wettability.⁶⁻⁹ In 2002, titanium implant surfaces were irradiated, at varying high temperatures, with laser, which changed the original morphological surface.¹¹ Laser was used on titanium samples and indicated that adjusting parameters such as potency and length of exposure influenced the melted surface.¹² Coatings on biomedical devices are used to modify surface chemistry and morphology to improve biocompatibility and the interaction of tissue–materials. The chemical and crystallographic properties of hydroxyapatite (HA) are similar to natural bone, consequently, it is the most widely studied bioceramic for coating of metallic implants to improve bioactivity.¹³⁻¹⁵ Further, HA promotes osseointegration of an implant, stabilizes it, and prevents motion-induced damage and enhances in- vivo lifetime.¹⁴ A significantly improved healing capacity associated with CaP-coated implants is often reported, but individual importance of the several modes of surface changes introduced, deliberately or not, is usually very difficult to interpret. Several studies claim this difference is due to altered chemistry but, in many, the result may equally be dependent on the surface topography.¹⁶ The biomimetic¹⁷ method consists of immersing the substrate to be coated in a synthetic solution (SBF - Simulated body fluid), with a chemical composition and pH similar to that of blood plasma and a temperature similar to that of the human body. Further, the HA obtained using this method is similar to biological HA. Many studies show positive results for HA and titanium^{6,17,18}, however there are few studies on laser-treated titanium implants associated with HA. Based on this, our study was conducted. **PURPOSE:** Surface and histological analysis of titanium implant surface modified by laser beam with and without a subsequent HA coating. **MATERIALS AND METHODS:** Having received prior approval from the local

animal ethics committee at the UFMS (Federal University of Mato Grosso do Sul), 30 male New Zealand White rabbits, received two implants in each tibia, of which only one implant per tibia was included in this study. The titanium implants 3.75 X 10.00mm were inserted by Branemark's method. Three study groups, each consisting of 10 rabbits were created (GI, GII and GIII). The rabbits of each group received a titanium implant with a specific surface: machined - control group (GI), laser irradiated (GII), and laser irradiated + HA (GIII). Each group was further sub-divided into 2 periods of observation: 30 and 60 days post-surgery (subsets).

Modification of implant surface: in **GII** and **GIII**, the implants were submitted to multi-pulse Yb:YAG laser irradiation from an OmniMark. All samples were prepared by the same operator in a normal environmental atmosphere.^{6,19} Following laser etching **GIII** received a coating of HA by biomimetic method.¹⁸ After the deposition method, the samples were subjected to heat treatment, at 600°C for one hour, in a kiln (EDG 3P-S 1800, EDG Equipment).

Sample surface characterization of each type: The roughness average (Ra) was evaluated using Mitutoyo SJ-400 equipment. **X-ray Diffraction Analysis (XR-D)** (Rigaku Co. 1200/PC).

Contact angle measurement was performed using Dataphysics, model OCA-15, controlled by software. **SEM (scanning electron microscope)** analyzed before being inserted into the rabbits. The all implants were wrapped and sterilized by gamma radiation.

Surgery: The animals were anaesthetized and received antibiotic, did not receive anti-inflammatory because it would interfere with bone response.²⁰ The implants were inserted bi-cortically into each proximal tibial metaphase.²¹

Nondecalfied Histomorphometric Analysis: samples with implants were prepared using (Exakt Apparatebau, Hamburg, Germany), were coloured by Estevenel's blue and fucsin acid. Histological specimens showed the presence or absence of bone. After bone healing, two measurements were recorded from the first 3 threads of the implant taken from the top cortica of the tibia: the percentage of bone to implant contact (BIC) (fig 6) and, the percentage of bone area (BA) (fig 7).

Statistical analysis: Histometry: The values of BIC were compared at 30 and 60 days post-surgery, by test *t*, and the values of BA were conducted by Mann Whitney test. Comparison of the 3 groups at each period of post-surgery was made for the value of BIC by ANOVA test followed by Test of Tukey, and for the values of BA by Kruskal Wallis Test followed by Student-Newman-Keuls Test. The normality of distribution was analysed by Shapiro-Wilk Test. The level of significance used was 5%.

RESULTS AND DISCUSSION: Titanium has proven its suitability as an implant material in surgery over many years. Excellent biocompatibility and corrosion resistance are outstanding features.²² The surface of implants always causes concern and interest in scientific communities, because it has a close relationship with the time required for osseointegration. Surface modification can be realized by various methods, laser irradiation is one of them. Studies exist based on the use of laser irradiation to

alter the surface of Ti implants^{6-9,11-12}. In 2002, Gyorgy, *et al*¹² used high intensity lasers to modify the surface of titanium implants, and post analysis with SEM, displayed good modification in the upper layer of titanium. Yue's²³ study on implants composed of the alloy Ti₆Al₄V, with surfaces irradiated by laser to decrease corrosion and increase resistance, presented a reduction of corrosion on the alloy and an alteration to the surface without fractures and with relative malleability. The process of modifying the titanium surface of implants by laser ablation is viable, clean and easy to administer. Further, the melt and quick solidification produce uniform irregularities in the metal and can be controlled by various factors, such as the parameters of the lasers sheaves and the atmosphere during irradiation. As described in different studies, laser treatment seems to be a promising method for dental implant, resulting in a better and earlier onset of osseointegration. In this study we noted that modified implant surfaces, produced using high intensity lasers, have homogenous irregularities that can improve osseointegration of this material. Scanning electron microscopy observation of the machined samples revealed striations related to the machining process (fig 1A). The laser irradiated samples presented a rough surface with parallel grooves likely due to the lateral scanning of the laser beam over the surface (fig 1B). In GII and GIII the surface analysis showed a morphology affected by melt and quick solidification zones following laser irradiation, resulting in sphere-like structures, resembling that of a cauliflower, on the entire surface (fig 1B). Additionally, this process presents deeper and bigger linear defects that significantly increase contact surface when compared with GI. GII and GIII (fig 1B, 1C) display a greater roughness than GI (fig 1A). These cauliflower structures also presented nanostructured features revealing a further profile of depth and roughness to their surface topography. In turn, SEM visualization of the HA samples showed the expected HA film over the rough GIII surface (fig 1C). The other direction for manipulating biological responses is to create topographical surface features at the nanoscale level on the titanium oxide surface. Relevant nanometer (10^{-9} m) scale features typically means in the range of 1–100 nm in dimension. The interest in this area of research is that the conventional Newtonian properties of materials are very different for a nanomaterial (e.g., increased number of atoms at the surface, surface grain boundaries, enhanced surface energy and surface area, and electron delocalization).⁴ On the assumption that mean roughness (R_a) may be defined as the deviation of the arithmetic mean of a profile, consisting of a stable and robust descriptive parameter¹⁶, in this study GII and GIII presented a significantly greater R_a than GI, as shown in table 2. The laser treatment yielded a homogenized, porous surface, which increased surface area and volume. These homogeneous defects on the surface are important characteristics in endosseous implants, because they optimize osseointegration. It was found that operating the laser in a normal environmental atmosphere and temperature produced a titanium surface with the physical and

chemical proprieties desirable,⁹ as was confirmed by XR-D of the different surfaces tested (fig 2). GI (machined) only showed peaks of metallic titanium. In GII (laser) XR-D characterization provided evidence that oxidation occurred on laser treated surfaces, and showed peaks corresponding to TiO_2 and other titanium oxides resulting from the interaction of the surface with air. GIII exhibited high peaks of octacalcium phosphate, titanium and carbonated HA. These high levels of the crystallinity (octacalcium phosphate) increase insolubility and therefore enhance osseointegration. HA ceramics have been used in medical implants for many years because of their direct and rapid bonding to living bone tissue. Poor technical properties have limited their application in load bearing implant construction. Therefore, HA is usually coated onto alloys, such as Ti-6Al-4V , to obtain a bioactive implant with adequate mechanical properties. Several advantages arise from this methodology such as rapid osteoblast recruitment, firm attachment, reduced healing time, and increased tolerance to surgical error.¹⁰ HA deserves merit because it is the principal mineral component of bone tissue.²⁴ The method of HA application used in this study was by means of a chemical deposition namely, the Biomimetic method, which mimics the biological process of hard tissue formation in the body. Initially proposed by Abe et al. the biomimetic method uses a solution called Simulated Body Fluid (SBF), which has a chemical composition, temperature and pH similar to that of blood plasma. The main advantages of this technique includes the possibility of controlling the thickness of the deposited layer, the increase in bond to the metal substrate and the surface topography that increases the host's response to the implant, favoring osseointegration in shorter periods of time. In this study, the biomimetic method modified by Aparecida 2009 was conducted allowing an adequate conciliation between bone-like mechanical properties and bioactivity¹⁸. Low crystallinity of the phases in the coating leads to instabilities when implanted. According to literature²⁵, amorphous calcium phosphates and mostly, the tetracalcium phosphate and tricalcium phosphate phases are more soluble than HA, leading to rapid disintegration of the coating, known as reabsorption. Fig 2 GIII revealed peaks of titanium and carbonated HA, with an acute and well defined peak of octacalcium phosphate, characteristic of greater crystallinity resulting from heat treatment. The purpose of heat treatment used on the GIII (after deposition of HA) was to remove the presence of water, increase crystallinity and reduce solubility, thereby increasing the stability of the deposition layer²⁵. The XR-D of GIII showed a presence of octacalcium phosphate(low crystallinity), it was proved with the high value in BIC at 30 and 60 days (table1), however, Iezzi, *et al* 2009²⁶ claim that absorption (high crystallinity) does not interfere with osseointegration. Proussaef's²⁷ analysis of implants and HA, after periods of function between 3.5 and 11 years, concluded that HA did not present absorption or dissolution regardless of the period of function, and that this probably only occurs when there is contact with soft tissue. Geurs *et al*²⁸

analysed geometrical and surface characteristics of 3 types of implant: threaded titanium plasma-sprayed (TPS), threaded HA-coated (HA), and cylindric HA-coated during the process of osseointegration on a total of 634 implants and showed that HA coating tends to accelerate the initial rate of osseointegration. In a study on cellular growth using osteoblasts and biomaterials, Ramires²⁹ showed that there was precocious cellular aggregation, cellular differentiation and cellular mineralization on TiO₂ surfaces coated with HA. In contrast, Meirelles *et al*, in 2008³⁰, used 2 types of implants to study osseointegration in a rabbit model. The study did not support enhanced bone formation to nano-HA compared to nano-titania coated implants. The implants used ensured that the bone response was due to the nano-size structures added as well as on the surface chemistry. After 4 weeks of healing, a tendency of enhanced bone formation to nano-titania was observed compared to nano-HA modified implants. The beneficial chemical effect of HA seems to be of limited or no relevance in the present model. Dugaard *et al*, 2009³¹, evaluated the mechanical fixation and tissue distribution surrounding implants coated with three surfaces: plasma-sprayed HA coating, a thin coating of electrochemical-assisted deposition of HA, and an identical thin coating with a top layer of mineralized collagen. Uncoated plasma-sprayed titanium (Ti-6Al-4V) served as a control. The electrochemical-assisted deposition was performed near physiological conditions. Histomorphometrically, all HA coatings showed significantly increased bone ongrowth compared to the titanium control. However, Iezzi, *et al* 2009²⁶ presented a histological and histomorphometric human evaluation of the peri-implant bone around an HA-coated implant that was retrieved after the abutment fractured, following a 15-year loading period. The BIC percentage was 77.6%, the percentage of the implant surface covered by the HA coating was 5.1%, the metal surface of the implant was mainly covered by mature lamellar compact bone. No gaps, fibrous connective tissue, or granulation tissues were present at the interface. Although there was an almost complete reabsorption of the HA coating, it did not appear to have interfered with osseointegration. The importance of hydrophilia and high surface energy of implants have been addressed in many studies over the years. Increased surface energy as well as hydrophilicity of implants is easy to establish with different techniques.³² Balla *et al*³³ studied novel structures that were successfully made using a Ti-TiO₂ combination by laser engineered net shaping. The addition of fully dense, compositionally graded TiO₂ ceramic on porous Ti significantly increased the surface wettability and hardness. Table 3 shows a great wettability in analysis of contact angle of surface modified by laser and modified by laser + Ha, when compared with machined surface. Ti-TiO₂ surface, modified by laser Nd-YAG to create approximately 30 vol % porosity, achieved stable long-term fixation due to bone cell in-growth through interconnected porosity³³. In our study, the sample GIII showed a greater surface roughness and more isomorphic characteristics when compared with GI and GII as a

consequence of the presence of HA on the sphere-like structures.(fig 1C) Modification of the surface of laser irradiated implants, using HA, yielded an increase in surface area contact and decreased the period of osseointegration.¹⁹ The bone implant contact (BIC) analysis revealed that at 30 days GII possessed a statistical BIC value similar to group GIII, both being greater than GI. Further, at 60 days the BIC value of GI had risen, while in GII and GIII retained its high BIC value (tab 1). When analysed BIC, mandibular implants have demonstrated >75% of BIC on an average compared to >50% of BIC for maxillary implants if calculations are based on all implant threads. 100% of BIC has not been observed in any case and soft tissue is always present at the interface. Yet, it must still be regarded as unknown if implants with greater BIC are more clinically successful than those with lesser BIC. Although, when there is more than 50 per cent hard tissue attachment (BIC) some studies have proposed that there is evidence of osseointegration. In this present study, bone area (BA) was analyzed only on the first 3 threads of implants at 30 and 60 days (fig 3,4,5). Bone area analysis of GIII implants at 30 days showed no statistical difference ($p < 0.05$) when compared to the BA of GIII at 60 days, but all other groups showed statistical differences in BA. At 30 days, bone tissue was present between the threads of the implants of GII and GIII in the cortical region. Both a regular and more homogeneous collagen fiber and concentric lamellae were present, characteristic of bone tissue during maturation. Moreover, there was significant contact interface established between these surfaces and bone (fig 4,5). Also present in GII and GIII were small areas of immature tissue, and the presence of osteoblasts arranged in a palisade, suggesting that they were in the process of synthesizing bone matrix (fig 4,5). In this study, a control group of only a machined surface was used and not machined +HA, because with the unmodified physical-chemical properties of the machined surface (cp-Ti) there is no adherence of HA. Future development of biomaterials with specific features and dimensions (nano-scale) may certainly modulate tissue response and further our understanding of the process of osseointegration. **CONCLUSION:** Titanium implants modified by laser irradiation can increase osseointegration during the initial phase.

REFERENCES:

1. Cooper LF. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *J Prosth Dentistry* 2000; 84:522-34.
2. Shalabi MM, Gortemaker A, Van't Hof MA, Jansen JA, Creugers NH. Implant surface roughness and bone healing: a systematic review. *J Dent Res* 2006; 85:496-500.

3. Le Gue'Hennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 2007; 23:844-54.
4. Stanford C M. Surface Modification of Biomedical and Dental Implants and the Processes of Inflammation, Wound Healing and Bone Formation. *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11: 354-369; doi:10.3390/ijms11010354
5. György E, Pérez Del Pino A, Serra P, Morenza JL. Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG laser irradiation. *Applied Surface Science*.2004; 222:415-422.
6. Sisti KE, Garcia Júnior IR, Guastaldi AC, Antonioli ACMB, De Rossi R, Brochado Neto AL. Analyse titanium surface irradiated with laser, with and without deposited of durapatite *Acta cir. bras.*2006; 21(supl.4):57-62.
7. Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, Gold J , Wennerberg A. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. *Biomaterials.* 2003; 24:701-710.
8. Direct laser metal sintering as a new approach to fabrication of an isoelastic functionally graded material. *Dental Materials.* 2008; 24:1525-1533.
9. Faeda RS, Tavares H S, Sartori R, Guastaldi AC, Marcantonio Jr. E. Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias. *Braz. Oral Res.* 2009; 23(2):137-143. Available at: www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242009000200008&lng=en. doi: 10.1590/S1806-83242009000200008.
10. Albrektsson, T. & Wennerberg, A. Oral implant surfaces: part 1 – review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *International Journal of Prosthodontics* 2004; 17: 536–543.
11. Pető G, Karaacs A, Pászti Z, Guczi L, Divinyi T, Joób A. Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity laser pulses. *Appl Surface Sci.* 2002; 186:7-13.
12. György E, Mihailescu IN, Serra P, Pérez Del Pino A, Morenza JL. Single Pulse Nd:YAG laser irradiation of titanium: influence of laser intensity on surface morphology. *Surface Coating Technol.* 2002; 154:63-7.
13. R. Barbuçi. *Integrated Biomaterials Science*. Berlin: Springer, 2002; 217.
14. Rocca M, Fini M, Giavaresi G, Aldini NN, Giardino R. “Osteointegration of Hydroxyapatite-Coated and Uncoated Titanium Screws in Long Term Ovariectomized Sheep,” *Biomaterial* 2002; 23: [4] 1017–23
15. Dumbleton J, Manley MT. “Hydroxyapatite-Coated Prosthesis in Total Hip and Knee Arthroplasty,” *J. Bone. Joint Surg. Am.* 2004; 86: (11) 2526–40.
16. Wennerberg A, Albrektsson T. Structural influence from calcium phosphate coatings and its possible effect on enhanced bone integration. *Acta Odontol Scand* 2009; 67: 333-40.
17. Abe Y, Kokubo T, Yamamuro T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. *Journal Materials Science: Materials in Medicine* 1990; 1(4):233-238.
18. Aparecida AH, Fook MV, Guastaldi AC. Biomimetic apatite formation on Ultra-High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. *J Mater Sci: Mater Med* 2009; 20 (6): 1215-22.
19. Sisti K, Guastaldi AC, Brochado Antonioli A, Queiroz TP, Tavares HS, Souza F, et al. Surface and biomechanical study of titanium implants modified by laser with and without hydroxyapatite coating, in rabbits. *Journal of Oral Implantology* 2010; In-Press. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-10-00030.
20. Silva RA, Fagundes DJ, Silva ACMB, Sisti KE, Carvalho TMMB, Silva DN. Effect of anti-inflammatory agents on the integration of autogenous bone graft and bovine bone devitalized matrix in rats. *Acta Cir. Bras.*2008; 23(2):140-148.
21. Scarano A, Carinci F, Mangano C, Quaranta A, Piattelli A. Removal torque values of titanium implants inserted into bone defects filled with hydroxyapatite: a histologic and histomorphometric analysis in rabbit. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2007;20:49-53.
22. Geesink RGT. Hydroxyapatite-coated total hip prosthesis: a ten year follow-up study. *Clin Orthop Rel Res* 1990;261:39–58.
23. Yue TM, YU JK, Mei Z, Man HC. Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement. *Mat Letters* 2002; 52:206-12.
24. Kawachi EY, Bertran CA, Dos Reis RR. *Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar*. São Paulo: Química Nova, 2000; 518-22.
25. Assis CM, Vercik LCO, Santos ML, Fook MVL, Guastaldi AC. Comparison of crystallinity between natural hydroxyapatite and synthetic cp-Ti /HA coatings. *Mat. Res.* 2005; 8:2 Available from www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-14392005000200022&lng=en&nrm=iso.
26. Iezzi G, Orlandi S, Pecora G, Piattelli A. Histologic and Histomorphometric Evaluation of the Bone Response Around a Hydroxyapatite-Coated Implant Retrieved After 15 Years. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009; 29:99–105.
27. Proussaef 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 Restorativa Dent* 2001; 21(1):21-9.
28. Geurs NC, Jeffcoat RL, Mcglumphy EA, Reddy MS, Jeffcoat MK. Influence of Implant Geometry and Surface Characteristics on Progressive Osseointegration. *J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 811-15.

29. Ramires PA, Giuffrida A, Milella E. Three-dimensional reconstruction of confocal laser microscopy images to study the behaviour of osteoblastic cell grown on biomaterials. *Biomaterials* 2002; 23: 397-406.
30. Meirelles L, Melin L, Peltola T, Kjellin P, Kangasniemi I, Currie F, Andersson M, Albrektsson T, Wennerberg A. Effect of Hydroxyapatite and Titania Nanostructures on Early In Vivo Bone Response. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2008; 10:(4) 245 -254.
31. Dagaard H, Elmengaard B, Bechtold J E, Jensen T, Soballe K. The effect on bone growth enhancement of implant coatings with hydroxyapatite and collagen deposited electrochemically and by plasma spray. *Wiley InterScience* 2009; in press .DOI: 10.1002/jbm.a.32303.
32. T Albrektsson. Hard tissue implant interface. *Australian Dental Journal* 2008; 53:(1 Suppl): S34–S38.
33. Balla VK, Devasconcellos PD, Xue W, Bose S, Bandyopadhyay A. Fabrication of compositionally and structurally graded Ti –TiO₂ structures using laser engineered net shaping (LENS). *Acta Biomaterialia* 2009; 5:1831–1837.

Table 1 – Mean and standard deviation of (BIC) and (BA) values - (G1), (G2) and (G3).

Period	G1	G2	G3	p
		BIC		ANOVA followed by Tukey
30 days	39,26 ± 18,23	68,41 ± 13,68	62,14 ± 16,76	$p < 0,001$ (G1 ≠ G2 = G3)
60 days	52,37 ± 15,43	70,89 ± 10,47	67,40 ± 10,16	$p < 0,001$ (G1 ≠ G2 = G3)
p test t	0,006	0,536	0,192	
		BA		Kruskal Wallis followed by Student-Newman-Keuls
30 days	64,17 ± 16,81	78,98 ± 12,86	72,69 ± 14,07	0,004 (G2 ≠ G1 = G3)
60 days	74,22 ± 11,92	87,89 ± 57,45	78,58 ± 8,78	$p < 0,001$ (G2 ≠ G1 = G3)
p Mann Whitney	0,015	0,010	0,268	

Nb: if $p \leq 0,05$ – significant statistical difference.

Table 2 – The roughness average (R_a) and standard deviation (DP) of GI – GIII was calculated and is shown.

SURFACE	ROUGHNESS	
	(R_a)	DP
GI	0.252 μm	$\pm 0,037 \mu\text{m}$
GII	10.096 μm	$\pm 1,024 \mu\text{m}$
GIII	10.068 μm	$\pm 1,109 \mu\text{m}$

Table 3 – Mean and Standard Deviation of contact angle of surface measurements.

SURFACE	CONTACT ANGLE			
	1 ^a evaluation	2 ^a evaluation	3 ^a evaluation	Mean and SD
GI	68,9°	81,2°	72,9°	74,3°± 6,27
GII	0	0	0	0
GIII	0	0	0	0

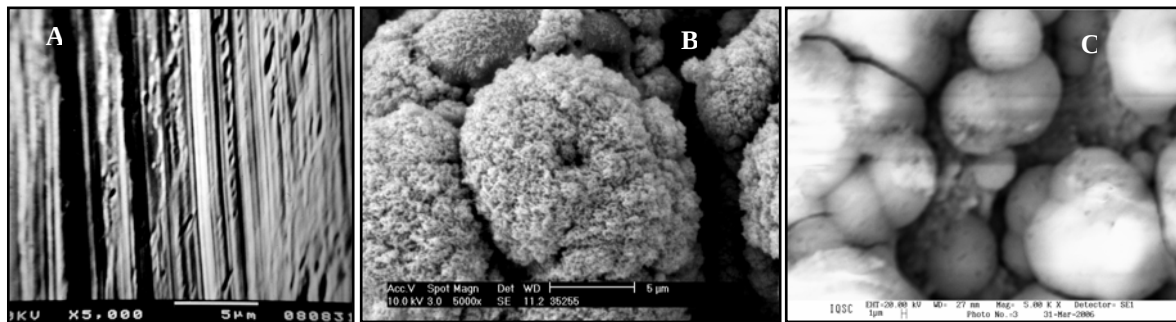


Figure 1: Fotomicrographics of machined titanium implant surface (a), titanium implant surface modified by laser beam (b), titanium implant surface modified by laser beam + hydroxyapatite (c), 5.000X using SEM.

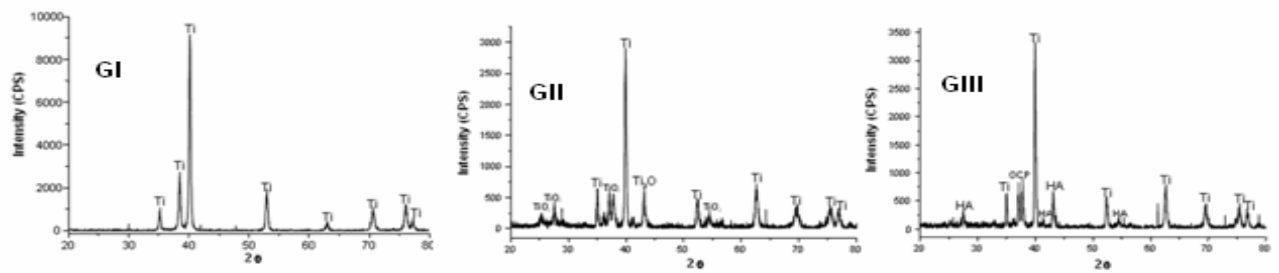


Figure 2: XR-D – Graphic of evaluation of GI, GII and GIII, note GI showed titanium peaks, GII showed titanium oxides of laser irradiation and GIII showed OCP and HA provin high crystallinity.

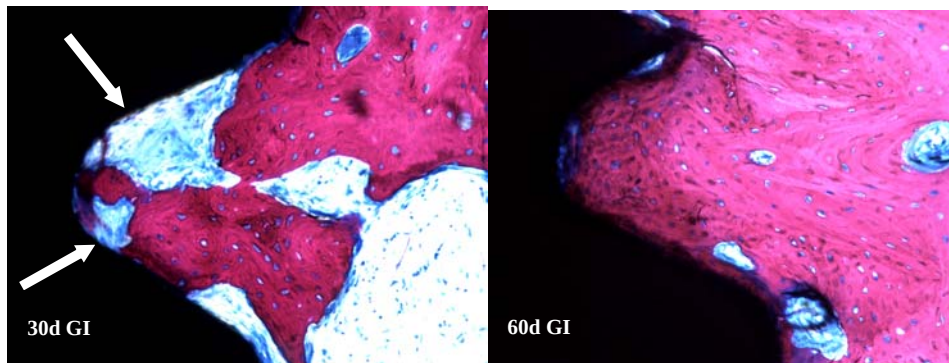


Figure 3: Photomicrographics of nondecalcified histology of cortical bone (stained blue Estevanel and acid fuchsin, 200X) of bone-implant interface, Black are implants, pink showed mature bone tissue, blue absence of mature bone tissue, at 30 days GI showed lot presence of imature bone collored with stained blue Estevanel (White arrow). At 60 days GI showed mature bone tissue.

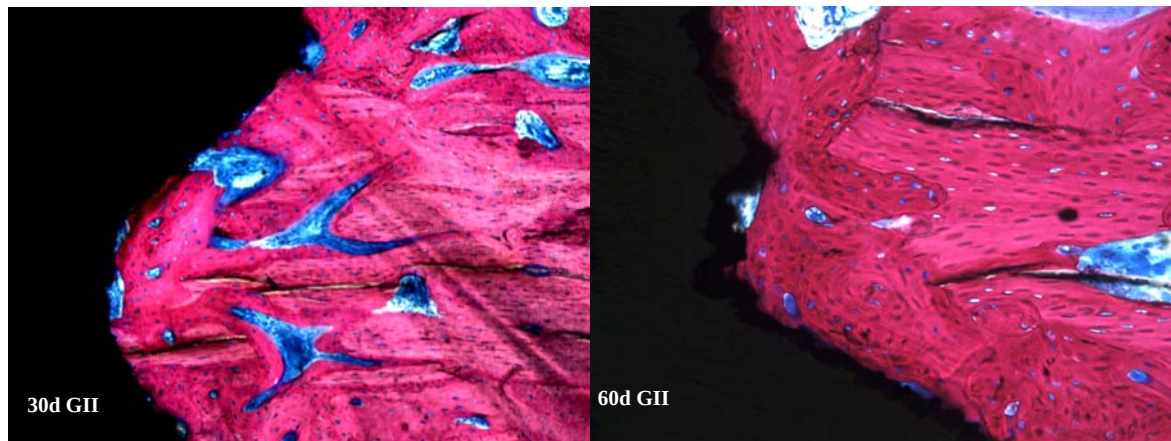


Figure 4: Photomicrographics of nondecalcified histology of cortical bone (stained blue Estevenel and acid fucsin, 200X) of bone-implant interface, Black are implants, pink showed mature bone tissue, blue absence of mature bone tissue, at 30 and 60 days GII showed lot presence of mature bone (pink).

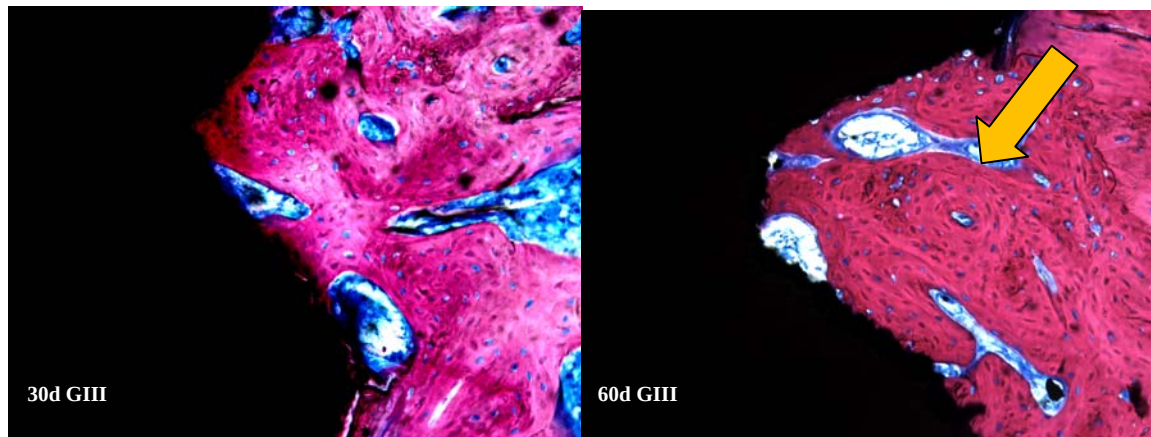


Figure 5: Photomicrographics of nondecalcified histology of cortical bone (stained blue Estevenel and acid fucsin, 200X) of bone-implant interface, Black are implants, pink showed mature bone tissue, blue absence of mature bone tissue, at 30 days GIII showed lot presence of bone (pink), at 60days showed concentric lamellae that prove mature bone (arrow).

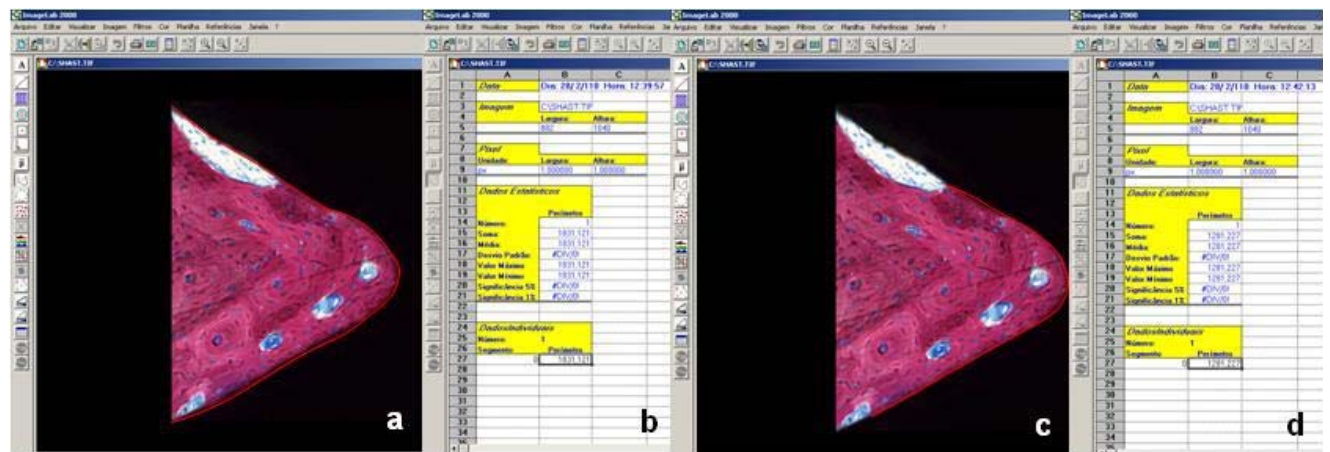


Figure 6: Histometric analysis of Bone Implant Contact (BIC) percentage. a,b: total area of spire of implant. c,d: BIC.

between the spires. d, e, f: BA between the spires of implants.