UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

GILEADE PEREIRA FREITAS

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA DO TECIDO ÓSSEO TIPO IV A IMPLANTES
OSSEOINTEGRÁVEIS DE TITÂNIO COM DIFERENTES TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIE**

Ribeirão Preto

2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

GILEADE PEREIRA FREITAS

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA DO TECIDO ÓSSEO TIPO IV A IMPLANTES
OSSEOINTEGRÁVEIS DE TITÂNIO COM DIFERENTES TRATAMENTOS
DE SUPERFÍCIE**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia (Periodontia), área de
Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da
Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo, como requisito para a
obtenção do título de Mestre em
Odontologia.

Área de concentração: Cirurgia Buco-Maxilo-Facial

Orientador: Prof. Dr. Adalberto Luiz Rosa

Ribeirão Preto

2014

Autorizo a reprodução e a divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catlogação na Publicação

Serviço de Documentação Odontológica

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Freitas, Gileade Pereira

Avaliação da resposta do tecido ósseo tipo IV a implantes osseointegráveis de titânio com diferentes tratamentos de superfície. Ribeirão Preto, 2014.

50p. : il. ; 30cm

Dissertação apresentada ao Departamento de Cirurgia e Traumatologia Bucal-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Bucal-Maxilo-Facial.

Orientador: Rosa, Adalberto Luiz

1. Osseointegração 2. Formação óssea 3. Tratamento de superfície 4. Titânio

FOLHA DE APROVAÇÃO

FREITAS, Gileade Pereira

Avaliação da resposta do tecido ósseo tipo IV a implantes osseointegráveis de titânio com diferentes tratamentos de superfície

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Periodontia), área de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovada em ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

**Trabalho realizado nos Laboratório
de Histologia e LAB 3D BIO do
Departamento de Cirurgia Buco-
Maxilo-Facial e Periodontia da da
Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto – USP, com auxílio
financeiro do Conselho Nacional
de Desenvolvimento Científico e
Tecnológico.**

À Marcia, Marcos, Guilherme e Helena

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Dr. Adalberto Luiz Rosa, pela orientação, pela convivência amistosa e pela oportunidade de aprendizado que me proporcionou.

Ao Professor Dr. Marcio Mateus Beloti, pela amizade e conhecimentos transmitidos.

Aos Professores de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto: Waldemar M. R. Barros, Luis A. Salata, Cássio E. Sverzut, Samuel P. Xavier, Alexandre E. Trivellato, pelas oportunidades de trabalho oferecidas e pelo aprendizado transmitido.

Aos Professores Dr. Paulo G. Coelho e Dr. Nick M. Tovar da Universidade de Nova Iorque, Professor Dr. Alexander T. Sverzut da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela amizade e conhecimentos transmitidos.

Às queridas Dulce, Tatiana, Rosângela, Daniela, por estarem sempre dispostas a me ajudarem.

Aos funcionários e amigos Roger, Fabíola, Adriana, Milla, Sebastião, Sergio, Aldo e Aline pela paciência e dedicação, as quais foram muito importantes para a realização desse trabalho.

Aos colegas do curso de Mestrado e Doutorado em Cirurgia e Periodontia da FORP-USP: Rafael, Felipe, Eduardo, Marco Aurélio, Evandro, Larissa Castro, Lucas, Antonio, Thiago, Rogério Kato e Manu, pela amizade e por muitas conversas compartilhadas.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico,
pelo apoio financeiro durante a realização desse projeto.

Aos meus pais, Márcia e Marcos, meu querido irmão, Guilherme e
minha cunhada Roberta pelo incentivo e carinho. Sem vocês tudo seria mais
difícil.

À minha noiva, Helena. Pela amizade, carinho e horas me ajudando na
realização desse sonho.

Muito obrigado.

RESUMO

Avaliação da resposta do tecido ósseo tipo IV a implantes osseointegráveis de titânio com diferentes tratamentos de superfície.

FREITAS, GP. Dissertação (Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2014. 50f.

As alterações de superfície dos implantes de titânio (Ti) influenciam funções celulares e formação de tecido adjacente aos mesmos, mas é controverso se tais alterações trariam vantagens quando esses implantes fossem colocados em tecido ósseo de baixa qualidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta do tecido ósseo de baixa qualidade (tipo IV) a implantes de Ti com diferentes tratamentos de superfície. Para isso, implantes de Ti com superfície nanotexturizada (Ti-Nano), microtexturizada (Ti-Porous) e sem tratamento de superfície (Ti-Usinado) foram implantados em tíbias de coelhos. Após duas e seis semanas, o tecido ósseo formado ao redor dos implantes foi avaliado em cortes histológicos por desgaste e histomorfometricamente foram avaliados: a porcentagem de contato osso-implante (BIC), porcentagem de área de osso mineralizado formado entre as espiras do implante (BABT), porcentagem da área de osso formada na área espelho (BAMA). Vários outros parâmetros morfométricos foram avaliados a partir de imagens e reconstruções tridimensionais obtidos por microtomografia. Ao final de seis semanas, foi avaliado o torque de remoção. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com dois fatores de variação (tratamento de superfície e tempo de implantação) seguido do teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Apesar de algumas diferenças estatisticamente significantes para alguns dos parâmetros morfométricos, tais diferenças não são biologicamente importantes para que pudessem ser atribuídas aos tratamentos de superfície. Tanto que, histologicamente não se observou diferença nos padrões de formação óssea ou tipo de osso formado que pudesse ser associado aos tratamentos de superfície e o torque de remoção também não foi afetado pelos tratamentos. Em conclusão, esses resultados mostraram que os tratamentos de superfície, embora sejam na

escala micrométrica ou nanométrica, não induzem repostas do tecido ósseo tipo IV diferentes daquelas induzidas por superfícies sem tratamento.

Palavras-chave: Osseointegração; Formação óssea; Tratamento de superfície; Titânio.

ABSTRACT

Evaluation of type IV bone tissue response to titanium implants with different surface treatments. FREITAS, GP. Thesis (Master's Degree). Ribeirão Preto: School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo, 2012. 50f.

Some alterations in titanium (Ti) implant surfaces influence cell functions and tissue formation in areas adjacent to the implants, but it is controversial whether these changes would bring advantages when these implants were placed in bone of poor quality. The aim of this study was to evaluate the response of poor quality bone tissue (type IV) to Ti implants with different surface treatments. For this, Ti implants with nanotextured surface (Ti-Nano), microtextured (Ti-Porous) and without surface treatment (Ti-Machined) were implanted into tibias of rabbits. After two and six weeks, the bone tissue around the implants was assessed in undecalcified histological sections and histomorphometrical analysis to evaluate: the percentage of bone-implant contact (BIC), percentage of the area of mineralized bone formed between threads (BABT), the percentage area of bone formed in the mirror area (BAMA). Several other morphometric parameters were evaluated from images and three-dimensional reconstructions obtained by microtomography. At the end of six weeks the removal torque was evaluated. The results were subjected to analysis of variance (ANOVA) with two factors of variation (surface treatment and time) followed by Tukey test ($p \leq 0.05$). Despite some statistically significant differences for some of the morphometric parameters, such differences are not biologically important and they could not be attributed to the surface treatments. In keeping with this, histological analysis failed to show any difference in bone formation that could be associated to the surface treatments and removal torque was not affected by treatments either. In conclusion, these results showed that the surface treatments, irrespective of being on the micrometer or nanometer scale, do not induce responses of type IV bone tissue different from those induced by untreated surfaces.

Keywords : Osseointegration; Bone formation; Surface treatment; Titanium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Demonstração da análise histomorfométrica. A porcentagem de contato osso-implante (BIC), área de osso mineralizado formada entre as espiras do implante (BAPT) e área de osso formada na área espelho (BAMA). Imagem modificada de Sverzut et al., 2012.....26

Figura 2. Fotomicrografias das superfícies dos implantes obtidas por MEV. As linhas representam os implantes Ti-Usinado (A, B, C), Ti-Nano (D,E,F) e Ti-Porous (G,H,I). As colunas representam os diferentes aumentos da MEV: 150x (A,D,G), 1.000x (B,E,H), 100.000x (C,F,I). Barra: A,D,G = 500 μ m; B,E,H = 50 μ m; C,F,I = 500 nm.....29

Figura 3. Reconstruções 3D dos espécimes e dos implantes Ti-Usinado (A, B, C), Ti-Nano (D, E, F) e Ti-Porous (G, H, I), no período de avaliação de duas semanas. Notar a presença de trabéculas ósseas em direção aos implantes.....30

Figura 4. Reconstruções 3D dos espécimes e dos implantes Ti-Usinado (A, B, C), Ti-Nano (D, E, F) e Ti-Porous (G, H, I), no período de avaliação de seis semanas.31

Figura 5. Parâmetros morfométricos, volume ósseo (a) superfície óssea (b), superfície óssea específica (c), número de trabéculas (d), espessura trabecular (e) e a separação trabecular (f) obtidos a partir de imagens tridimensionais reconstruídas por microtomografia da formação de osso novo ao redor dos implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous, em duas e seis semanas (n=6). * Indica diferença estatisticamente significante ($p \leq 0,05$)....32

Figura 6. Secções méso-distais dos implantes Ti-Usinado (A,B), Ti-Nano (C,D) e Ti-Porous (E,F) em duas (A,C,E) e seis semanas (B,D,F) após a implantação. Trabéculas de osso lamelar e osso neoformado foram observados em contato íntimo em todos os grupos experimentais. Coloração: Vermelho de Alizarina e azul de Stevenel. Barra= 200 μ m.....34

Figura 7. Secções méso-distais dos implantes Ti-Usinado (A) e Ti-Nano (B) após duas e seis semanas de implantação, respectivamente. Cabeça de seta aponta osteoblastos ativos, indicando formação de matriz mineralizada (A). Seta indica presença de osteoclasto ativo, indicando presença de remodelação óssea (B). Coloração: Vermelho de Alizarina e azul de Stevenel. Barra= 100 μ m.....35

Figura 8. Porcentagem de contato osso-implante (BIC) para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous nos dois períodos avaliados. O BIC apresentou diferença estatística em relação ao tempo entre os implantes Ti-Usinado ($P=0,038$) e Ti-Nano ($P=0,018$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão (n=6). * Indica diferença estatisticamente significante ($p \leq 0,05$).....36

Figura 9. Porcentagem de área de osso mineralizado formada entre as espiras do implante (BABT) para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous nos dois períodos avaliados. O BABT apresentou diferença estatística em relação ao tempo nos implantes Ti-Usinado ($P= 0,038$) e Ti-Nano ($P=0,018$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$). * Indica diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).....37

Figura 10. Porcentagem da área de osso formada na área espelho (BAMA) para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous nos dois períodos avaliados. O BAMA não apresentou diferença estatística em relação ao tempo ($p=0,116$) e tratamento ($p=0,471$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$).....38

Figura 11. Torque de remoção nos diferentes tratamentos. Sem diferença estatística ($p=0,271$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$).....39

LISTAS DE SÍMBOLOS E SIGLAS

°C	grau(s) Celsius
cm	centímetro(s)
mm	milímetro(s)
µm	micrômetro(s)
nm	nanômetro(s)
mL	mililitro(s)
N.cm	Newton/centímetro
Kg	Kilograma (s)
kV	kilovoltagem
mg	miligrama (s)
%	porcentagem

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
2. PROPOSIÇÃO	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Implantes de Ti.....	22
3.2 Tratamento químico de superfícies de implantes de Ti	22
3.3 Caracterização das superfícies dos implantes de Ti	22
3.4 Procedimento Cirúrgico	23
3.5 Análise microtomográfica.....	24
3.6 Processamento histológico	25
3.7 Análises histológicas e histomorfométricas.....	26
3.8. Análise do torque de remoção.....	27
3.9 Análise estatística	27
4. RESULTADOS	28
4.1 Caracterização das superfícies dos implantes de Ti.....	28
4.2 Análise microtomográfica.....	29
4.3 Análises histológicas e histomorfométricas.....	33
4.4 Análise do Torque de Remoção.....	38
5. DISCUSSÃO	40
CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	44

1. INTRODUÇÃO

Reabilitação oral com implantes osseointegráveis vem se tornando cada vez mais comum na Odontologia, por ser uma opção de tratamento que apresenta resultados seguros, previsíveis e com altas taxas de sucesso, desde que adequadamente indicada e criteriosamente realizada (Wennerberg e Albrektsson, 2011; Papaspyridakos *et al.*, 2013).

O êxito no tratamento com implantes depende de uma série de parâmetros, tais como: biocompatibilidade do material utilizado para fabricar os implantes, características da superfície dos implantes, procedimento cirúrgico cuidadoso, condições gerais de saúde do paciente e a qualidade e quantidade ósseas locais (Albrektsson *et al.*, 1981; Albrektsson e Wennerberg, 2004).

A qualidade óssea é um termo comumente usado no tratamento com implantes. Lindh *et al.*, (2004) enfatizaram que a densidade óssea (densidade mineral óssea) e qualidade óssea não são sinônimos. A qualidade óssea engloba outros fatores além da densidade óssea, tais como o tamanho, arquitetura e orientação tridimensional das trabéculas. A qualidade e quantidade de osso disponível no local de instalação dos implantes são fatores locais que afetam a estabilidade primária, determinando o sucesso dos implantes dentários (Romanos, 2009).

Na literatura são encontradas diversas classificações para o tecido ósseo da maxila e mandíbula e essas são úteis para avaliação da qualidade óssea no planejamento de implantes. A classificação mais utilizada é a proposta por Lekholm e Zarb (1985), onde a qualidade óssea dos maxilares é baseada na macroestrutura, na qual a morfologia e a distribuição de osso cortical e esponjoso determinam sua qualidade. Os autores categorizaram a anatomia do tecido ósseo em quatro grupos, sendo: Tipo I – osso residual formado por osso cortical homogêneo; Tipo II – osso residual formado por uma camada espessa de osso cortical circundando osso esponjoso denso; Tipo III – osso residual formado por uma camada fina de osso cortical circundando osso esponjoso denso; Tipo IV – osso residual formado por uma camada fina de osso cortical circundando osso esponjoso de baixa densidade.

Sendo assim, o osso tipo IV desta classificação mostra-se menos adequado à instalação de implantes, por ser composto quase que totalmente de osso trabecular fino, o que é desvantajoso em relação à estabilidade primária. Portanto, são maiores as taxas de insucesso nos pacientes que possuem tipo ósseo com tais características (Herrmann *et al.*, 2005; Alsaadi *et al.*, 2007; Romanos, 2009).

Desde o final da década de sessenta do século passado, o material de escolha para a confecção dos implantes é o titânio (Ti), comercialmente puro (cpTi) ou associado a outros metais na forma de liga (Ti-6Al-4V), por ser um material com propriedades mecânicas que suportam a carga funcional da mastigação e, ao mesmo tempo, biocompatível com o tecido ósseo. Desta última propriedade resulta sua capacidade de osseointegração, definida por Brånemark *et al.* (1985) como “o contato direto, estrutural e funcional, entre o tecido ósseo, organizado e saudável, e a superfície do implante”, e atualizada por Zarb e Albrektsson (1991) como “o processo no qual há uma fixação rígida assintomática entre o material aloplástico e o tecido ósseo durante aplicação de carga”.

Nos primeiros anos da implantodontia, os implantes sem qualquer tratamento de superfície (usinados), foram considerados como o “padrão ouro”, com elevadas taxas de sucesso (Wennerberg e Albrektsson, 2011). Os implantes eram instalados na região anterior da mandíbula ou maxila, unidos para uma melhor distribuição das cargas mastigatórias e utilizados para reabilitações de pacientes edentados totais. A alta taxa de sucesso dessa modalidade de tratamento levou a uma extrapolação da técnica e a partir de certo momento, passou-se a utilizar implantes osseointegrados para reabilitações de pacientes edentados parciais através de próteses parciais fixas ou unitárias. Com isso passou-se a instalar implantes em regiões de pior qualidade óssea, como a região posterior de maxila (tipo IV). As altas taxas de sucesso descritas anteriormente com as superfícies usinadas, não foram observadas, sendo atribuídas, principalmente, à falhas na formação óssea durante o processo de osseointegração (Wennerberg e Albrektsson, 2011).

Jaffin *et al.*, (1991), em um estudo retrospectivo, observaram que 90% dos implantes de superfície lisa foram instalados em maxilares com osso tipo I, II e III, dos quais se perderam apenas 3% dos implantes. Em contraste, dos 10% dos

implantes colocados em processos alveolares com osso tipo IV, houve uma perda significativa de 35% dos elementos. Esses achados são corroborado por Stach *et al.*, 2003, que através de uma meta-análise examinando a sobrevivência clínica de implantes com superfície lisa e implantes com superfície rugosas instalados em pacientes com baixa qualidade óssea, concluíram que os implantes tratados mostraram uma melhor taxa de sobrevivência em osso de baixa qualidade. Entretanto, Aalam e Nowzari (2005) compararam implantes dentários com diferentes superfícies instalados em pacientes com osso de alta qualidade e pacientes com osso de baixa qualidade, e não encontraram diferença na taxa de sobrevivência desses implantes independentemente da superfície dos implantes e/ou da qualidade óssea do leito implantar.

Devido ao acima exposto, pesquisas relacionadas à morfologia, topografia, rugosidade, composição química e energia de superfície têm buscado ampliar a gama de aplicações possíveis de implantes dentários em pacientes que apresentam osso residual de baixa qualidade, como relatado em alguns artigos de revisão (Cooper, 2000; Albrektsson e Wennerberg, 2004; Novaes *et al.*, 2010).

Apesar dos inúmeros esforços na tentativa de se estabelecer uma correlação entre a microestrutura do implante de Ti e as respostas biológicas, esse ponto ainda não foi totalmente esclarecido. Em parte por não ter sido determinado ainda quais aspectos da topografia de superfície dos implantes são importantes para uma melhor resposta biológica. Modificações da rugosidade superficial podem apresentar vantagens de característica física, como melhores resultados em relação à força de ancoragem e travamento mecânico nos estágios iniciais da osseointegração (Wennerberg e Albrektsson, 2011; Zhang *et al.*, 2013). Sendo que Shalabi *et al.*, (2006) sugeriram que implantes com rugosidade entre 1 e 2 μm induzem melhor resposta do tecido ósseo do que implantes usinados, o que poderia explicar a maior taxa de sobrevivência desses implantes em áreas que possuem osso tipo IV (Shalabi *et al.*, 2006; Goiato *et al.*, 2014).

Diversos tratamentos de superfície de Ti têm sido propostos e podem ser classificados de acordo com a estratégia utilizada como sendo por meios físicos, químicos e bioquímicos (Puleo e Nanci, 1999). Entre os tipos de tratamento químico,

o tratamento por ácido pode ser utilizado para limpeza e descontaminação de superfícies de Ti e para alterar suas propriedades físico-químicas, resultando em rugosidade superficial na escala micrométrica (Carlsson *et al.*, 1988; Buser *et al.*, 1991; Cochran *et al.*, 1998). Os ácidos mais utilizados são ácido fluorídrico (HF), ácido clorídrico (HCL), ácido nítrico (HNO₃) e ácido sulfúrico (H₂SO₄) (Wennerberg e Albrektsson, 2009).

Diversos estudos têm ratificado os efeitos benéficos da rugosidade em microescala (Klokkevold *et al.*, 1997; Weng *et al.*, 2003; Bettinger *et al.*, 2009; Gittens *et al.*, 2011). A relação da rugosidade superficial dos implantes de Ti e a força necessária para sua remoção do leito receptor foi estabelecida por Klokkevold *et al.*, (1997), onde observaram que implantes com duplo ataque ácido necessitaram de força média de torque de remoção quatro vezes maior que os implantes usinados. Weng *et al.*, (2003) observaram que os valores de contato osso-implante (BIC) eram significativamente maiores nas regiões dos implantes com duplo ataque ácido, comparados com as regiões de implantes usinados.

Atualmente, vários grupos de pesquisa têm estudado a modificação da superfície dos metais na escala nanométrica. Entre as técnicas usadas destacam-se os tratamentos por imersão em soluções ácidas (Kato *et al.*, 2014), revestimento com fosfatos de cálcio (Yang *et al.*, 2009), oxidação anódica (Von Wilmowsky *et al.*, 2009; Ercan e Webster, 2010), deposições química e física a vapor (Eisenbarth *et al.*, 2007; Ogawa *et al.*, 2008).

Um método para a desoxidação/reoxidação controlada de superfícies de Ti com uma mistura de H₂SO₄ e H₂O₂ foi desenvolvido para eliminar contaminantes de superfície e criar uma camada superficial de óxido de Ti consistente e reproduzível, para posterior imobilização de moléculas bioativas (Nanci *et al.*, 1998). A análise dessas superfícies mostrou que esse tratamento, além de reduzir a presença de contaminantes, produz nanotexturização com uma topografia única apresentando “nanopits” com um tamanho médio de 22 nm e aumenta a espessura da camada de TiO₂ de ~5 nm para ~32-40 nm (Yi *et al.*, 2006).

Em trabalhos realizados pelo nosso grupo de pesquisa, a combinação de H₂SO₄ e H₂O₂ para a produção de superfícies nanotexturizadas em Ti, mostraram

que essas superfícies melhoram as respostas biológicas (De Oliveira *et al.*, 2007; Bueno Rde *et al.*, 2011). Inicialmente, foi demonstrado em experimentos *in vitro* que essas superfícies estimulam a produção de osteopontina e sialoproteína óssea, duas proteínas envolvidas no fenômeno da osteogênese (De Oliveira e Nanci, 2004) e que o evento final da osteogênese, a formação de matriz mineralizada, também foi estimulado em culturas de células osteoblásticas crescidas sobre essas superfícies (De Oliveira *et al.*, 2007). Além disso, essa superfície nanotexturizada favorece a diferenciação osteoblástica de células-tronco mesenquimais estimulando vias de sinalização celular mediadas por integrinas e proteínas ósseas morfogenéticas (Kato *et al.*, 2014; Rosa *et al.*, 2014). Por outro lado, a resposta do tecido ósseo a implantes com esse tratamento de superfície em modelos animais ainda não foram realizadas. Portanto, não se conhece se essa superfície nanotexturizada representaria uma vantagem em comparação aos tratamentos com ataques ácidos convencionais que produzem microtexturização e ainda se esses tratamentos poderiam ser vantajosos para implantação em tecido ósseo do tipo IV.

2. PROPOSIÇÃO

Avaliar a resposta do tecido ósseo do tipo IV a implantes de Ti com diferentes tratamentos de superfície após implantação em tíbia de coelhos. Para tanto, foram avaliados o tecido ósseo formado ao redor dos implantes, vários parâmetros morfométricos, baseados nas secções histológicas e microtomografia computadorizada, e o torque de remoção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de São Paulo (Nº 12.1.282.53.0) e financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (processo Nº 482392/2012-6).

3.1 Implantes de Ti

Nesse estudo foram utilizados cinquenta e quatro implantes de Ti rosqueáveis e com tamanho de 3,75 mm de diâmetro por 8,5 mm de comprimento. Dezoito implantes com superfície usinada (Ti-Usinado) (Conexão Sistemas de Prótese Ltda, Arujá, SP, Brasil), dezoito implantes de Ti com superfícies comerciais (Ti-Porous) preparadas através de ataque ácido com HNO_3 , HCL e H_2SO_4 (Porous®, Conexão Sistemas de Prótese Ltda) (Elias, 2010) e dezoito implantes de Ti com superfície nanotexturizada (Ti-Nano) preparados como descrito abaixo a partir de Ti-Usinado.

3.2 Tratamento químico de superfícies de implantes de Ti

Os implantes Ti-Nano foram preparados de acordo com o protocolo de Nanci *et al.* (1998) e de Oliveira e Nanci (2004). Os implantes foram quimicamente tratados à temperatura ambiente por 4h com uma solução de volumes iguais de H_2SO_4 à 10 N e H_2O_2 30 %. As amostras oxidadas foram lavadas com água bidestilada e secas ao ar. Todos os procedimentos foram feitos em capela de fluxo laminar para assegurar condições assépticas durante o tratamento químico.

Todos os implantes Ti-Nano foram individualmente acondicionados em suas respectivas embalagens e submetidos à esterilização por raios- γ (CBE, Cotia, SP, Brasil) antes de sua implantação *in vivo*.

3.3 Caracterização das superfícies dos implantes de Ti

As análises microscópicas das superfícies dos implantes de Ti foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura

(MEV), utilizando o microscópio modelo Inspect S50 (FEI Company, OR, EUA), operando em 25 Kv.

3.4 Procedimento Cirúrgico

Foram utilizados vinte e sete coelhos machos, adultos jovens, da raça Nova Zelândia, com peso variando entre 3,5 e 4,5 kg. Como pré-anestésico foi administrado por via intramuscular 1,0 mg/kg de acepromazina (Apromazin®, CentralVet, Vinhedo, SP, Brasil). A indução anestésica foi realizada através da via intramuscular, pela injeção de 25 mg/kg de quetamina (Dopalen®, Vetbrands Saúde Animal, Jacareí, SP, Brasil) e 5,0 mg/kg de xilazina (Rompun®, Bayer SA, São Paulo, SP, Brasil).

Após a anestesia, foi realizada tricotomia das patas traseiras, bilateralmente e antissepsia da região com solução alcoólica de polivinilpirrolidona iodo a 10% (Riodeine® tintura, Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil). O campo operatório foi isolado através da aposição de campos esterilizados descartáveis. Foi então realizada uma incisão de aproximadamente 4 cm na região medial da tíbia, próxima à epífise medial, usando lâmina de bisturi nº 15 montada em um cabo nº 3, envolvendo os planos pele e tecido subcutâneo, plano muscular e periósteo, o qual foi descolado e mantido afastado. O preparo das perfurações para instalação dos implantes foi realizado usando fresas cirúrgicas em ordem crescente de diâmetro, montadas em contra-ângulo redutor 16:1 (NSK E16R, Kakanishi Dental MFG Co, Japão), acoplado a um motor elétrico com mostrador de velocidade (BLM 500, VK Driller Equipamentos Elétricos, São Paulo, SP, Brasil). A velocidade utilizada foi de 900 rotações por minuto, e todas as perfurações foram realizadas sob abundante irrigação externa com solução de cloreto de sódio a 0,9%. Após a perfuração do leito implantar, um implante de Ti foi inserido evitando o contato da superfície do mesmo com contaminantes. Uma chave tipo catraca com torquímetro manual foi usada para instalar o mesmo até a inserção completa no osso.

Cada tíbia recebeu um implante, resultando em dois implantes por animal. Após finalização da colocação do implante e limpeza das feridas, os planos

teciduais musculares e cutâneos foram suturados em posição utilizando fio de sutura de nylon 4-0 (Shalon Fios Cirúrgicos Ltda., Goiânia, GO, Brasil).

No período pós-operatório, para controle da dor, os coelhos receberam doses diárias de cetoprofeno (Ketofen®, Merial, São Paulo, SP, Brasil) 3 mg/kg por 3 dias. Duas e seis semanas após a colocação dos implantes, de acordo com as análises programadas, os animais foram eutanasiados com sobredose anestésica de tiopental sódico (Thiopentax®, Cristal Pharma, Belo Horizonte, MG, Brasil). Após a eutanásia, os segmentos das tíbias foram removidos, dissecados e posteriormente reduzidos em blocos individuais e processados para análise microtomográfica, histológica ou avaliação do torque de remoção. Esse último apenas para os implantes que permaneceram por seis semanas.

3.5 Análise microtomográfica

Os exames microtomográficos foram realizados logo após os sacrifícios dos animais, com os espécimes fixados em formaldeído a 4% tamponado (pH=7). Para aquisição das imagens, foi adotada uma resolução espacial de 12µm com o microtomógrafo SkyScan® 1172 (SkyScan Ltda., Antuérpia, Bélgica), com ajuste de 50kV de voltagem.

Após aquisição e reconstrução tridimensional das imagens, o volume de interesse (VOI) foi determinado, sendo este correspondente à região peri-implantar estendendo-se por 2 mm. Para tal, foi adotada escala de cinza “threshold” de 130 (máximo) e 45 (mínimo) para avaliação do tecido ósseo e de 255 (máximo) e 130 (mínimo) para avaliação dos implantes de Ti. Os valores dos parâmetros obtidos com ajuste de escala de cinza para implantes foram subtraídos dos obtidos com ajuste de escala de cinza para tecido ósseo com a finalidade de se eliminar partes remanescentes dos implantes de Ti dentro do VOI e com isso obter-se o valor real do tecido ósseo ao redor dos mesmos.

Foram realizadas análises microtomográficas da microarquitetura tridimensional do osso ao redor dos implantes, utilizando-se os seguintes parâmetros:

- a) Volume ósseo;

- b) Superfície óssea;
- c) Superfície óssea específica;
- d) Número de trabéculas;
- e) Espessura trabecular;
- f) Separação trabecular.

Os programas DataViewer® versão 1.4.1 (SkyScan Ltda., Antuérpia, Bélgica) e CT Analyser® versão 1.11.8.0 (SkyScan Ltda.) foram utilizados para análise.

3.6 Processamento histológico

Após as análises microtomográficas, os espécimes foram desidratados em uma série crescente de álcoois (70%, 80%, 95% e 100%) e incluídos em resina acrílica (LR White® Hard Grade, Londres, Inglaterra). O processo de impregnação em resina se deu colocando-se as peças no vácuo e submetendo à agitação de 2 horas por dia, por 15 dias, efetuando-se a substituição da resina a cada 2 dias. Após o processo de impregnação, as peças foram colocadas em estufa a 60°C por 12 horas para que ocorresse a polimerização dos blocos. Depois de polimerizados, os implantes foram seccionados ao meio, no sentido mesio-distal, utilizando serra de precisão e desgastadas com lixas do sistema Exakt® de granulações 320, 800, 2500 e 4000, até a obtenção de superfície lisa. Os blocos lixados e polidos foram colados a uma lâmina acrílica por meio do sistema Exakt®. A superfície exposta da peça colada à lâmina foi novamente cortada, lixada e polida até a obtenção de espessura aproximada de 90 µm. Esta face foi então submetida à coloração utilizando a combinação de azul de Stevenel com vermelho de Alizarina.

3.7 Análises histológicas e histomorfométricas

A análise histomorfométrica foi realizada no terço superior dos implantes, avaliando bilateralmente as quatro rocas consecutivas a partir do colo cervical.

As seguintes medidas histomorfométricas (figura 1) foram realizadas:

1. Contato osso-implante (BIC), que é a medida do osso mineralizado formado em íntimo contato com o implante e expresso em porcentagem;
2. Área de osso mineralizado formada entre as espiras do implante (BAPT) expressa em porcentagem;
3. Área de osso formada na área espelho (BAMA) expresso como a porcentagem de osso mineralizado em uma área trapezoidal tangenciando as roscas dos implantes.

Figura 1. Demonstração da análise histomorfométrica. A porcentagem de contato osso-implante (BIC), área de osso mineralizado formada entre as espiras do implante (BAPT) e área de osso formada na área espelho (BAMA). Imagem modificada de Sverzut *et al.*, 2012.

Para as análises histológicas, foram utilizadas as ampliações de 10x e 40x. Para as análises histomorfométricas foi utilizada a ampliação de 2,5x. As avaliações foram realizadas em microscópio Leica DMLB-2® (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha) equipado com um sistema de micro vídeo para medidas morfométricas, por meio do software analisador de imagens Leica QWin (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha), sem acesso à identificação dos espécimes.

3.8. Análise do torque de remoção

Seis semanas após a colocação dos implantes, nove coelhos foram sacrificados. Os sítios dos implantes foram expostos e reduzidos em blocos. Subsequentemente, a força necessária para a remoção dos implantes foi mensurada através de um torquímetro digital (Instruthem TQ680, São Paulo, SP, Brasil). Os resultados foram registrados mensurando o torque máximo de remoção determinado pela movimentação do implante.

3.9 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com dois fatores de variação (tratamento de superfície e tempo de implantação) seguido do teste de Tukey, utilizando o software SigmaPlot (Systat Software Inc, São José, CA, EUA) . Em todos os testes foi adotado nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização das superfícies dos implantes de Ti

A topografia das superfícies dos implantes de Ti foi analisada a partir de fotomicrografias obtidas por MEV. Foram observadas diferenças na topografia das superfícies entre todos os grupos estudados.

O implante Ti-Usinado quando analisado em aumentos menores apresentou superfície regular (Figura 2A), mas em aumentos maiores notam-se pequenos sulcos rasos, que denotam ranhuras durante seu torneamento (Figura 2B e 2C).

O implante Ti-Nano quando analisado em aumentos menores apresentou superfície regular, similar ao grupo Ti-Usinado (Figura 2D), mas em aumentos maiores mostraram uma superfície caracterizada por uma rede de nanoporos (Figura 2E e 2F).

O implante Ti-Porous quando analisado em aumentos menores apresentou superfície irregular e homogênea em relação aos outros dois grupos (Figura 2G), mas em aumentos maiores mostraram numerosas concavidades e ondulações, que formam poros na sua superfície em nível de escala micrométrica (Figura 2H e 2I).

Figura 2. Fotomicrografias das superfícies dos implantes obtidas por MEV. As linhas representam os implantes Ti-Usinado (A, B, C), Ti-Nano (D,E,F) e Ti-Porous (G,H,I). As colunas representam os diferentes aumentos da MEV: 150x (A,D,G), 1.000x (B,E,H), 100.000x (C,F,I). Barra: A,D,G = 500 μ m; B,E,H = 50 μ m; C,F,I = 500 nm.

4.2 Análise microtomográfica

As reconstruções tridimensionais obtidas a partir das microtomografias mostram formação óssea em íntimo contato com as superfícies dos implantes, aparentemente sem qualquer diferença importante tanto em relação aos tratamentos quanto aos períodos de implantação (Figura. 3 e 4). É interessante observar que nas reconstruções em que os implantes foram eliminados, observa-se claramente as ranhuras deixadas pelos mesmos e que várias trabéculas ósseas, aparentemente originadas das corticais vizinhas, parecem se dirigir às superfícies dos implantes.

Figura 3. Reconstruções 3D dos espécimes e dos implantes Ti-Usinado (A, B, C), Ti-Nano (D, E, F) e Ti-Porous (G, H, I), no período de avaliação de duas semanas. Notar a presença de trabéculas ósseas em direção aos implantes.

Figura 4. Reconstruções 3D dos espécimes e dos implantes Ti-Usinado (A, B, C), Ti-Nano (D, E, F) e Ti-Porous (G, H, I), no período de avaliação de seis semanas.

Com relação aos parâmetros microtomográficos avaliados, o volume ósseo, a superfície óssea, o número de trabéculas e a separação trabecular não foram afetados pelos tratamentos de superfície ($p=0,380$; $0,251$; $0,308$ e $0,079$; respectivamente) e nem pelo tempo de implantação ($p=0,064$; $0,748$; $0,904$ e $0,458$; respectivamente). Enquanto os parâmetros superfície óssea específica e espessura trabecular não foram afetados pelo tratamento ($p=0,323$ e $0,293$; respectivamente), mas foram afetadas pelo tempo somente para os tratamentos Ti-Nano e Ti-Porous, sendo que a superfície óssea específica diminui ($p=0,001$) enquanto a espessura trabecular aumentou ($p=0,001$) de duas para seis semanas. Todos esses dados são mostrados na Figura 5.

Figura 5. Parâmetros morfométricos, volume ósseo (a) superfície óssea (b), superfície óssea específica (c), número de trabéculas (d), espessura trabecular (e) e a separação trabecular (f) obtidos a partir de imagens tridimensionais reconstruídas por microtomografia da formação de osso novo ao redor dos implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous, em duas e seis semanas (n=6). * Indica diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

4.3 Análises histológicas e histomorfométricas

Em duas e seis semanas, os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous estavam histologicamente osseointegrados e nenhum sinal de inflamação ou capsula fibrosa foi observada adjacente à superfície dos implantes.

Nas interfaces de contato osso-implante foi observada matriz óssea mineralizada em íntimo contato com as superfícies dos implantes em todos os grupos experimentais, sendo maior no período de duas semanas em relação ao período de seis semanas (Figura 6).

Figura 6. Secções méso-distais dos implantes Ti-Usinado (A,B), Ti-Nano (C,D) e Ti-Porous (E,F) em duas (A,C,E) e seis semanas (B,D,F) após a implantação. Trabéculas de osso lamelar e osso neoformado foram observados em contato íntimo em todos os grupos experimentais. Coloração: Vermelho de Alizarina e azul de Stevenel. Barra= 200 µm.

Em duas semanas, implantes de todos os grupos experimentais estavam circundados por trabéculas de osso lamelar antigo com a presença de osteoblastos e raros osteoclastos, sugerindo uma ativa formação óssea (Figura 7A).

Apesar de não haver alterações na arquitetura óssea em seis semanas e os implantes continuarem rodeados por trabéculas ósseas, aparentemente isso ocorreu em quantidade menor em relação ao período de duas semanas. Além disso, em algumas áreas foram encontrados células multinucleadas similares à osteoclastos, sugerindo a ocorrência de remodelação óssea (Figura 7B).

Figura 7. Secções méso-distais dos implantes Ti-Usinado (A) e Ti-Nano (B) após duas e seis semanas de implantação, respectivamente. Cabeça de seta aponta osteoblastos ativos, indicando formação de matriz mineralizada (A). Seta indica presença de osteoclasto ativo, indicando presença de remodelação óssea (B). Coloração: Vermelho de Alizarina e azul de Stevenel. Barra= 100 μ m.

A porcentagem do BIC não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos tratamentos de superfície ($p=0,116$). Entretanto apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao tempo de implantação ($p=0,002$). Para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous, a porcentagem do BIC foi, respectivamente, $41,97 \pm 9,93$; $45,16 \pm 6,73$ e $46,77 \pm 11,54$ em duas semanas e $30,41 \pm 5,44$; $32,69 \pm 7,33$ e $41,04 \pm 3,75$ em seis semanas (Figura 8).

Figura 8. Porcentagem de contato osso-implante (BIC) para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous nos dois períodos avaliados. O BIC apresentou diferença estatística em relação ao tempo entre os implantes Ti-Usinado ($P=0,038$) e Ti-Nano ($P=0,018$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$). * Indica diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

A porcentagem do BAPT não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos tratamentos de superfície ($p=0,894$). Entretanto apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao tempo de implantação ($p=0,005$). Para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous, a porcentagem do BAPT foi, respectivamente, $43,18 \pm 12,60$; $51,48 \pm 8,78$ e $50,75 \pm 2,56$ em duas semanas e $64,43 \pm 5,87$; $58,86 \pm 8,15$ e $55,39 \pm 14,98$ em seis semanas (Figura 9).

Figura 9. Porcentagem de área de osso mineralizado formada entre as espiras do implante (BAPT) para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous nos dois períodos avaliados. O BAPT apresentou diferença estatística em relação ao tempo nos implantes Ti-Usinado ($P= 0,038$) e Ti-Nano ($P=0,018$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$). * Indica diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$).

A porcentagem do BAMA não apresentou diferenças estatisticamente significantes em relação aos tratamentos de superfície ($p=0,471$) e em relação ao tempo de implantação ($p=0,116$). Para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous, a porcentagem do BAMA foi, respectivamente, $31,07 \pm 16,19$; $38,79 \pm 7,65$ e $34,76 \pm 9,77$ em duas semanas e $30,57 \pm 11,42$; $20,17 \pm 10,27$ e $36,13 \pm 11,75$ em seis semanas (Figura 10).

Figura 10. Porcentagem da área de osso formada na área espelho (BAMA) para os implantes Ti-Usinado, Ti-Nano e Ti-Porous nos dois períodos avaliados. O BAMA não apresentou diferença estatística em relação ao tempo ($p=0,116$) e tratamento ($p=0,471$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$).

4.4 Análise do Torque de Remoção

Seis semanas após a instalação dos implantes, a média do torque de remoção foi de $25,86 \pm 9,12\text{N.cm}$ para os implantes Ti-Usinado, $30,72 \pm 15,13\text{N.cm}$ para Ti-Nano e $35,75 \pm 11,34\text{N.cm}$ para Ti-Porous. Os valores do torque de remoção são mostrados na figura 11. A mensuração do torque de remoção não foi estatisticamente significativa entre os tratamentos de superfície ($p=0,271$).

Figura 11. Torque de remoção nos diferentes tratamentos. Sem diferença estatística ($p=0,271$). Os dados são apresentados em média $\pm$ desvio padrão ($n=6$).

5. DISCUSSÃO

Diversas modificações de superfície de Ti têm sido propostas para aumentar e/ou acelerar o processo de osseointegração dos implantes dentários (Albrektsson e Wennerberg, 2004). Tais modificações são de especial interesse quando da instalação de implantes em osso tipo IV, principalmente encontrado na região posterior de maxila, que apresenta menor taxa de sucesso comparada à outras áreas maxilares (Jaffin e Berman, 1991). No presente estudo, foi avaliada a resposta do tecido ósseo a implantes de Ti com diferentes tratamentos de superfícies utilizando um modelo animal que mimetiza osso do tipo IV. Os resultados mostraram que houve formação óssea em contato próximo com as superfícies de todos os implantes independentemente dos tratamentos realizados. O tecido ósseo não apresentou diferenças morfológicas ou morfométricas que pudessem ser relacionadas aos tratamentos das superfícies dos implantes, o que foi confirmado pelo fato de que eles necessitaram de aproximadamente o mesmo torque para serem removidos.

Modificações químicas nas superfícies de implantes de Ti têm sido aplicadas para alterar sua rugosidade e composição, aumentando a molhabilidade e energia de superfície, além de produzir uma superfície sem contaminantes (Bagno e Di Bello, 2004). Também tem sido mostrado, como revisado por Novaes *et al.* (2010), que modificações no padrão topográfico da superfície dos implantes de Ti, não só aumentam o contato osso-implante, como também estimulam a diferenciação, crescimento e adesão celular nos primeiros momentos de implantação, contribuindo para uma melhor estabilidade primária e, conseqüentemente, aumentando as taxas de sucesso desses implantes em leitos ósseos de baixa qualidade.

Na análise por MEV foi possível avaliar as diferentes características das superfícies dos implantes. As superfícies do Ti-Usinado apresentaram pequenos sulcos rasos, provavelmente, como resultado do processo de fabricação desses implantes. As superfícies do Ti-Nano apresentaram-se irregulares com numerosas concavidades melhor observadas em escala nanométrica, com aspectos

topográficos semelhante aos descritos por de Oliveira e Nanci (2004). As superfícies do Ti-Porous também apresentaram irregulares com numerosas concavidades e ondulações distribuídas aleatoriamente na sua superfície, mas observadas em escala micrométrica, resultado semelhante ao descrito por Cho e Park (2003), que analisaram a superfície de implantes submetidos a duplo ataque ácido.

Nesse estudo, os implantes foram colocados em tíbias de coelho porque ela é semelhante ao osso presente na região posterior de maxila, ou seja, tipo IV (Sennerby *et al.*, 1992; Mapara *et al.*, 2012). Outras características desse modelo animal que o tornam atraente para avaliar implantes de Ti são: facilidade de manuseio, tamanho, rápida maturidade sexual e que ao final de seis semanas ocorre o processo de osseointegração (Ivanoff *et al.*, 1996; Himanshu *et al.*, 2011).

Parâmetros histomorfométricos baseados em cortes histológicos por desgaste, como BIC, BABT e BAMA são amplamente utilizados para quantificar o osso formado ao redor dos implantes de Ti (Huang *et al.*, 2005; Rosa *et al.*, 2006; Tavares *et al.*, 2007; Suzuki *et al.*, 2010; Sverzut, Crippa, *et al.*, 2012). A análise histomorfométrica também pode ser feita por meio de microtomografias, que permitem análises mais rápidas, de menor custo e tridimensionais, que, em geral, apresentam boa correspondência com as análises baseadas em cortes histológicos (Sennerby *et al.*, 2001; Vandeweghe *et al.*, 2013). No presente estudo, as respostas do tecido ósseo aos diferentes tratamentos de superfície foram analisadas pelos dois métodos. Outro parâmetro utilizado foi o torque de remoção, que foi introduzido como um método para avaliar as propriedades mecânicas da interface osso/implante (Carlsson *et al.*, 1988).

A despeito de algumas diferenças estatisticamente significantes para alguns dos parâmetros utilizados, tanto aqueles baseados em cortes histológicos como aqueles microtomográficos, de maneira geral, tais diferenças não são biologicamente importantes para que pudessem ser atribuídas aos tratamentos de superfície. Tanto que, a análise histológica não mostrou qualquer diferença nos padrões de formação óssea ou tipo de osso formado que pudesse ser associado aos tratamentos de superfície. No entanto, o tempo de implantação influenciou

alguns dos parâmetros, tanto que foi observado que o BIC diminuiu de duas para seis semanas para todos os implantes, embora somente para o Ti-Usinado e Ti-Nano tenha havido diferença estatística. Por outro lado, BABT e a espessura das trabéculas aumentaram ao longo do período de implantação, embora nem sempre tais diferenças tenham sido estatisticamente significantes. Aparentemente, com base nos achados histológicos, após duas semanas havia predominância de formação óssea e ao final de seis semanas já ocorria a remodelação óssea. Isso está em acordo com relatos anteriores de que nesse modelo animal a osseointegração de implantes se dá até seis semanas após a implantação (Ivanoff *et al.*, 1996; Himanshu *et al.*, 2011).

Principalmente em relação ao BIC, nossos resultados estão em desacordo com aqueles de Weng *et al.*, (2003) e Tavares *et al.*, (2007), que relataram valores maiores de BIC para superfícies tratadas por duplo ataque ácido e H_2SO_4/H_2O_2 , respectivamente. No entanto, embora os primeiros autores tenham afirmado terem utilizado modelo de osso de baixa densidade, ambos os estudos foram feitos com implantes colocados em mandíbula de cães, considerado o modelo ótimo para se estudar a osseointegração (Novaes *et al.*, 2010).

Em concordância com os resultados histomorfométricos, também para o torque de remoção não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos, a despeito de uma tendência das superfícies Ti-Porous e Ti-Nano apresentarem valores de torque maiores. Utilizando um desenho experimental similar a esse, Cho e Park (2003) encontraram que implantes tratados por duplo ataque ácido necessitaram de maior torque de remoção do que implantes não tratados, mas eles realizaram essa avaliação após 12 semanas de implantação.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que os tratamentos de superfície, sejam na escala micrométrica, como o Ti-Porous, ou nanométrica, como o Ti-Nano, não induzem repostas do tecido ósseo tipo IV diferentes daquelas induzidas por superfícies sem tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALBREKTSSON T., JOHANSSON C. Quantified bone tissue reactions to various metallic materials with reference to the so-called osseointegration concept. In: Davies JE. The Bone-Biomaterial Interface. Buffalo: University of Toronto Press.1991:357-363.

BRÅNEMARK P.I., ZARB G.A., ALBREKTSSON T. Tissue-Integrated Prostheses. Osseointegration in clinical dentistry. Chicago, USA. Quintessence Publishing Co Inc. 1985.

ZARB G. A., ALBREKTSSON T. Osseointegration: a requiem for the periodontal ligament?. Int J Periodont Rest Dent. 1991;11:88-91.

AALAM, A. A.; NOWZARI, H. Clinical evaluation of dental implants with surfaces roughened by anodic oxidation, dual acid-etched implants, and machined implants. The International journal of oral & maxillofacial implants, v. 20, n. 5, p. 793-8, Sep-Oct 2005. ISSN 0882-2786

ALBREKTSSON, T. et al. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta orthopaedica Scandinavica, v. 52, n. 2, p. 155-70, 1981. ISSN 0001-6470

ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A. Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. The International journal of prosthodontics, v. 17, n. 5, p. 536-43, Sep-Oct 2004. ISSN 0893-2174

ALSAADI, G. et al. Impact of local and systemic factors on the incidence of oral implant failures, up to abutment connection. Journal of clinical periodontology, v. 34, n. 7, p. 610-617, 2007. ISSN 1600-051X.

BAGNO, A.; DI BELLO, C. Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials. Journal of materials science. Materials in medicine, v. 15, n. 9, p. 935-49, Sep 2004. ISSN 0957-4530

BETTINGER, C. J.; LANGER, R.; BORENSTEIN, J. T. Engineering substrate topography at the micro- and nanoscale to control cell function. *Angewandte Chemie*, v. 48, n. 30, p. 5406-15, 2009. ISSN 1521-3773

BUENO RDE, B. et al. Oxidative nanopatterning of titanium surfaces promotes production and extracellular accumulation of osteopontin. *Brazilian dental journal*, v. 22, n. 3, p. 179-84, 2011. ISSN 1806-4760

BUSER, D. et al. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal of biomedical materials research*, v. 25, n. 7, p. 889-902, Jul 1991. ISSN 0021-9304

CARLSSON, L. et al. Removal torques for polished and rough titanium implants. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, v. 3, n. 1, p. 21-4, Spring 1988. ISSN 0882-2786

CHO, S. A.; PARK, K. T. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials*, v. 24, n. 20, p. 3611-7, Sep 2003. ISSN 0142-9612

COCHRAN, D. L. et al. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *Journal of biomedical materials research*, v. 40, n. 1, p. 1-11, Apr 1998. ISSN 0021-9304

COOPER, L. F. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. *The Journal of prosthetic dentistry*, v. 84, n. 5, p. 522-34, Nov 2000. ISSN 0022-

DE OLIVEIRA, P. T.; NANJI, A. Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells. *Biomaterials*, v. 25, n. 3, p. 403-13, Feb 2004. ISSN 0142-9612

DE OLIVEIRA, P. T. et al. Enhancement of in vitro osteogenesis on titanium by chemically produced nanotopography. *Journal of biomedical materials research. Part A*, v. 80, n. 3, p. 554-64, Mar 1 2007. ISSN 1549-3296

EISENBARTH, E.; VELTEN, D.; BREME, J. Biomimetic implant coatings. Biomolecular Engineering, v. 24, n. 1, p. 27-32, Feb 2007. ISSN 1389-0344.

ELIAS, C. N. Titanium dental implant surfaces. Revista Matéria, v. 15, n. 2, p. 138–142, 2010. ISSN 1517-7076.

ERCAN, B.; WEBSTER, T. J. The effect of biphasic electrical stimulation on osteoblast function at anodized nanotubular titanium surfaces. Biomaterials, v. 31, n. 13, p. 3684-93, May 2010. ISSN 1878-5905

GITTENS, R. A. et al. The effects of combined micron-/submicron-scale surface roughness and nanoscale features on cell proliferation and differentiation. Biomaterials, v. 32, n. 13, p. 3395-403, May 2011. ISSN 1878-5905

GOIATO, M. C. et al. Longevity of dental implants in type IV bone: a systematic review. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Mar 26 2014. ISSN 1399-0020

HERRMANN, I. et al. Evaluation of patient and implant characteristics as potential prognostic factors for oral implant failures. The International journal of oral & maxillofacial implants, v. 20, n. 2, p. 220-30, Mar-Apr 2005. ISSN 0882-2786

HIMANSHU, A.; ANIL, N.; ANUP, K. Rabbits as Animal Models in Contemporary Implant Biomaterial Research. World Journal of Dentistry, v. 2, n. 2, p. 129-134, April-June 2011.

HUANG, Y. H. et al. Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite) oral implants in type IV bone. Clinical oral implants research, v. 16, n. 1, p. 105-11, Feb 2005. ISSN 0905-7161

IVANOFF, C. J.; SENNERBY, L.; LEKHOLM, U. Influence of mono- and bicortical anchorage on the integration of titanium implants. A study in the rabbit tibia. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, v. 25, n. 3, p. 229-35, Jun 1996. ISSN 0901-5027

JAFFIN, R. A.; BERMAN, C. L. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. Journal of periodontology, v. 62, n. 1, p. 2-4, Jan 1991. ISSN 0022-3492

KATO, R. B. et al. Nanotopography Directs Mesenchymal Stem Cells to Osteoblast Lineage Through Regulation of microRNA-SMAD-BMP-2 Circuit. Journal of cellular physiology, Mar 12 2014. ISSN 1097-4652

KLOKKEVOLD, P. R. et al. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. Clinical oral implants research, v. 8, n. 6, p. 442-7, Dec 1997. ISSN 0905-7161

LEKHOLM, U.; ZARB, G. A. Patient selection and preparation. In: BRÅNEMARK, P.-I. Z. G. A. T. E. A. (Ed.). Tissue integrated prostheses: Osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence Publ Co, 1985. p.199-209.

LINDH, C.; OBRANT, K.; PETERSSON, A. Maxillary bone mineral density and its relationship to the bone mineral density of the lumbar spine and hip. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, v. 98, n. 1, p. 102-9, Jul 2004. ISSN 1079-2104

MAPARA, M.; THOMAS, B.; BHAT, K. Rabbit as an animal model for experimental research. Dental Research Journal, v. 9, n. 1, p. 111-118, Jan-Mar 2012.

NANCI, A. et al. Chemical modification of titanium surfaces for covalent attachment of biological molecules. Journal of biomedical materials research, v. 40, n. 2, p. 324-35, May 1998. ISSN 0021-9304

NOVAES, A. B., JR. et al. Influence of implant surfaces on osseointegration. Brazilian dental journal, v. 21, n. 6, p. 471-81, 2010. ISSN 1806-4760

OGAWA, T. et al. Ti Nano-nodular Structuring for Bone Integration and Regeneration. Journal of dental research, v. 87, n. 8, p. 751-756, August 1, 2008 2008.

PAPASPYRIDAKOS, P. et al. Implant and Prosthodontic Survival Rates with Implant Fixed Complete Dental Prostheses in the Edentulous Mandible after at Least

5 Years: A Systematic Review. Clinical implant dentistry and related research, p. n/a-n/a, 2013. ISSN 1708-8208.

PULEO, D. A.; NANJI, A. Understanding and controlling the bone-implant interface. Biomaterials, v. 20, n. 23-24, p. 2311-21, Dec 1999. ISSN 0142-9612

ROMANOS, G. E. Bone quality and the immediate loading of implants-critical aspects based on literature, research, and clinical experience. Implant dentistry, v. 18, n. 3, p. 203-9, Jun 2009. ISSN 1538-2982

ROSA, A. L. et al. Effect of microcapsules containing TAK-778 on bone formation around osseointegrated implants: histomorphometric analysis in dogs. Implant dentistry, v. 15, n. 1, p. 97-103, Mar 2006. ISSN 1056-6163

ROSA, A. L. et al. Nanotopography Drives Stem Cell Fate Toward Osteoblast Differentiation Through $\alpha 1 \beta 1$ Integrin Signaling Pathway. Journal of cellular biochemistry, v. 115, n. 3, p. 540-8, Mar 2014. ISSN 1097-4644

SENNERBY, L.; THOMSEN, P.; ERICSON, L. E. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. The International journal of oral & maxillofacial implants, v. 7, n. 1, p. 62-71, Spring 1992. ISSN 0882-2786

SENNERBY, L.; WENNERBERG, A.; PASOP, F. A new microtomographic technique for non-invasive evaluation of the bone structure around implants. Clinical oral implants research, v. 12, n. 1, p. 91-4, Feb 2001. ISSN 0905-

SHALABI, M. M. et al. Implant surface roughness and bone healing: a systematic review. Journal of dental research, v. 85, n. 6, p. 496-500, Jun 2006. ISSN 0022-0345

STACH, R. M.; KOHLES, S. S. A meta-analysis examining the clinical survivability of machined-surfaced and osseotite implants in poor-quality bone. Implant dentistry, v. 12, n. 1, p. 87-96, 2003. ISSN 1056-6163

SUZUKI, M. et al. Effect of Surface Modifications on Early Bone Healing Around Plateau Root Form Implants: An Experimental Study in Rabbits. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 68, n. 7, p. 1631-1638, 2010. ISSN 0278-2391.

SVERZUT, A. T. et al. Effects of type I collagen coating on titanium osseointegration: histomorphometric, cellular and molecular analyses. *Biomedical materials*, v. 7, n. 3, p. 035007, Jun 2012. ISSN 1748-605X

SVERZUT, A. T. et al. Bone tissue, cellular, and molecular responses to titanium implants treated by anodic spark deposition. *Journal of biomedical materials research. Part A*, v. 100, n. 11, p. 3092-8, Nov 2012. ISSN 1552-4965

TAVARES, M. G. et al. Treatment of a commercial, machined surface titanium implant with H₂SO₄/H₂O₂ enhances contact osteogenesis. *Clinical oral implants research*, v. 18, n. 4, p. 452-8, Aug 2007. ISSN 0905-7161

VANDEWEGHE, S. et al. Utilizing micro-computed tomography to evaluate bone structure surrounding dental implants: a comparison with histomorphometry. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, v. 101, n. 7, p. 1259-66, Oct 2013. ISSN 1552-4981

VON WILMOWSKY, C. et al. In vivo evaluation of anodic TiO₂ nanotubes: an experimental study in the pig. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, v. 89, n. 1, p. 165-71, Apr 2009. ISSN 1552-4981

WENG, D. et al. Osseotite vs. machined surface in poor bone quality. A study in dogs. *Clinical oral implants research*, v. 14, n. 6, p. 703-8, Dec 2003. ISSN 0905-7161

WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clinical oral implants research*, v. 20 Suppl 4, p. 172-84, Sep 2009. ISSN 1600-0501

WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T. Current challenges in successful rehabilitation with oral implants. *Journal of oral rehabilitation*, v. 38, n. 4, p. 286-94, Apr 2011. ISSN 1365-2842

YANG, G. L. et al. Effects of biomimetically and electrochemically deposited nano-hydroxyapatite coatings on osseointegration of porous titanium implants. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, v. 107, n. 6, p. 782-9, Jun 2009. ISSN 1528-395X

YI, J.-H. et al. Characterization of a bioactive nanotextured surface created by controlled chemical oxidation of titanium. Surface Science, v. 600, n. 19, p. 4613-4621, 2006. ISSN 0039-6028.

ZHANG, W. et al. The synergistic effect of hierarchical micro/nano-topography and bioactive ions for enhanced osseointegration. Biomaterials, v. 34, n. 13, p. 3184-95, Apr 2013. ISSN 1878-5905

¹ De acordo com o Estilo ABNT.