Fernando Pozzi Semeghini Guastaldi

Caracterização química e morfológica de implantes Ti-Mo com
superfícies usinadas e modificadas por feixe de laser.

Análises biomecânica, histológica e histométrica em coelhos.

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia do Campus de Araçatuba –
UNESP, para obtenção do Título de “Mestre
em Odontologia” – Área de Concentração em
Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Hochuli Vieira

Araçatuba - SP

2010

Dados Curriculares

Fernando Pozzi Semeghini Guastaldi

NASCIMENTO: 22/03/1982 – São Carlos/SP

FILIAÇÃO: Antônio Carlos Guastaldi

Norma Pozzi Semeghini

2003/2006: Curso de Graduação

Faculdade de Odontologia – Universidade de
Ribeirão Preto – UNAERP

2007/2007: Estágio no Departamento de Diagnóstico
Oral – Área de Cirurgia Bucomaxilofacial da
FOP – UNICAMP

2008/2010: Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e
Traumatologia Buco-Maxilo-Facial na
Faculdade de Odontologia de Araçatuba –
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – nível Mestrado.

Dedico
este
trabalho...

Aos meus pais, *Norma e Antônio Carlos,*

pelo amor, carinho, paciência, dedicação e por todas as vezes em que abdicaram de seus sonhos para a realização dos meus. Admiro muito vocês por serem pais tão maravilhosos, que souberam me educar com amor, apoio e com grandes atitudes.

Vocês são exemplos de vida para mim e espero que eu possa retribuir pelo menos parte de todo o amor que dedicaram e que continuam dedicando a mim.

Tenho muito orgulho de ser filho de vocês! Amo muito vocês!

Aos meus avós, *Adelina (in memoriam) e Moacir Guastaldi (in memoriam), Haydée e Antônio Semeghini,*

pelo amor, carinho, incentivo e dedicação que sempre tiveram comigo. Vocês são exemplos de caráter, honestidade e simplicidade. Sinto muita falta de vocês, da minha infância, da nossa convivência. Muito obrigado por tudo que sempre fizeram e que ainda fazem por mim! Amo muito vocês!

*Agradecimentos
especiais...*

Ao meu orientador, **Professor Dr. Eduardo Hochuli Vieira**, grande exemplo de competência, dedicação e dignidade. Obrigado pela oportunidade oferecida, pelos preciosos ensinamentos, paciência, incentivo constante, por ter acreditado em mim e me proporcionado à realização de um grande sonho. Tenho plena confiança no Senhor. Procuro sempre manter a serenidade e sabedoria que me transmite. Obrigado por tudo!

Ao **Professor Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior**, pelo profissional dedicado, seguro e competente. Pela disposição em sempre nos ensinar, direcionar e incentivar. Você é e será sempre um grande exemplo de competência, amor e dedicação à profissão. Obrigado pela paciência que sempre demonstrou diante de minhas dúvidas, questionamentos e angústias. Muito Obrigado!

Ao **Professor Dr. Osvaldo Magro Filho**, pela competência e preciosos conhecimentos transmitidos. Obrigado pela amizade, confiança, incentivo e por considerar os alunos da pós-graduação seus verdadeiros amigos, sempre se preocupando conosco e dividindo inúmeros momentos de alegria. Muito obrigado!

Ao **Professor Dr. Michel Saad Neto**, pelos valiosos ensinamentos, carinho, dedicação e competência. O senhor é um exemplo concreto e marcante do que é “ser professor”. Sou uma das “sementes” que o senhor planta. Muito obrigado pela convivência, atenção e pela transmissão do vasto conhecimento que o Senhor tem!

Ao **Professor Dr. Tetuo Okamoto**, pelo exemplo de caráter, humildade e dedicação. O Curso de Pós-Graduação e seus respectivos alunos devem muito ao senhor. Obrigado pelo carinho, incentivo e disponibilidade em ajudar sempre. A Cirurgia brasileira deve muito ao Senhor!

Ao **Professor Dr. Paulo Sérgio Perri de Carvalho**, pela amizade, caráter, honestidade, pela atenção, incentivo e ajuda. É exemplo de extrema competência profissional, de dedicação à pesquisa e ao ensino da Cirurgia e Implantodontia. O Senhor é brilhante. Muito obrigado!

Aos **Professores Dr. Ruy dos Santos Pinto e Edmur Aparecido Callestini**, pelo exemplo de caráter, honestidade, dedicação e amor à Cirurgia. Muito obrigado pela atenção e pelas palavras de incentivo!

Ao **Professor Dr. José Mondelli**, por proporcionar a mim e aos meus pais os melhores dias de minha vida, vividos na cidade de Birmighan, Alabama - EUA. O Senhor é um marco na Odontologia brasileira. Muito obrigado!

Ao **Professor Dr. Luiz Cruz Teixeira e à sua família**, que nos receberam e sempre nos deram todo o suporte necessário, desde nossa chegada aos EUA e durante toda nossa permanência. Somos eternamente gratos. O Senhor é um exemplo de competência e integridade pessoal. Muito obrigado!

Ao **Professor Dr. César Antunes de Freitas**, pela amizade, disponibilidade em sempre ajudar, pelo exemplo de caráter, dedicação à Universidade, pelas oportunidades e palavras de incentivo. Muito obrigado!

Ao **Professor Dr. Eurípedes Vedovato**, pela amizade, por sempre me ajudar e me nortear, diante das minhas indecisões. Pelo exemplo de extrema competência, sabedoria e pelas oportunidades oferecidas. Muito obrigado!

Às **Professoras Dra. Alessandra Marcondes Aranega e Dra. Cristiane Mara Ruiz de Sousa Fattah**, pelo carinho, dedicação, companheirismo, paciência, confiança e disponibilidade sempre em ajudar. Obrigado pelos ensinamentos, incentivo e por torcerem sempre pelo sucesso dos alunos da pós-graduação.

Aos meus colegas de mestrado e grandes amigos, **Jônatas Caldeira Esteves, Heloisa Fonseca Marão e Pedro Ivo Santos Silva**, pela paciência, dedicação, competência, companheirismo e caráter. Apesar dos inúmeros momentos de dificuldades por nós enfrentados, vocês sempre se mantiveram otimistas e pacientes, não me deixando perder o entusiasmo e a motivação. Obrigado pelos preciosos conhecimentos transmitidos e incansável ajuda em todas as etapas da Pós-Graduação. Vocês são verdadeiros, simples, honestos e extremamente competentes. Muito obrigado por tudo!

Aos **Professores Dr. João Roberto Gonçalves, Dr. Joubert Magalhães de Pádua, Dr. Rodolfo Jorge Boeck Neto, Dr. Adalberto Luiz Rosa, Dr. Joni Augusto Cirelli, Dr. Elcio Marcantonio Junior, Dr. Renato Mazzonetto e Dr. Nicolas Homs**i, pelas oportunidades, ensinamentos, disponibilidade e paciência demonstrada comigo. Os Senhores são exemplos de profissionalismo, dedicação à profissão e de extrema competência. Procuro me espelhar e trilhar o caminho vitorioso de cada um de vocês. Sou eternamente grato por tornarem um sonho em realidade. Muito obrigado!

Aos meus **famíliares**, que sempre torceram, me deram apoio, me incentivaram e que pude contar. Muito obrigado!

Aos meus **amigos da XXXIII Turma do Curso de Odontologia - UNAERP**, pela amizade que construímos, pela nossa convivência, cumplicidade, ajuda constante e pelos ensinamentos. Foram quatro anos que deixaram muita saudade. Sempre estarei torcendo por vocês. Muito obrigado!

Aos meus **amigos de São Carlos**, pela amizade, pelos momentos de alegria, descontração, pelos conselhos, por serem exemplos de honestidade, lealdade e companheirismo. Muito obrigado!

À **amiga do curso de Doutorado em Cirurgia, Thallita Pereira Queiroz**, pela amizade, respeito e disponibilidade em sempre ajudar. Exemplo de dedicação, competência e inteligência. Muito obrigado!

Ao **amigo do curso de Pós-Doutorado do Grupo de Biomateriais - IQAr**, Nilson Tadeu Camarinho de Oliveira, pela amizade, respeito e disponibilidade em sempre ajudar. Pelo exemplo de competência e honestidade. Agradeço pela confiança em trabalharmos juntos. Muito obrigado!

Aos **Professores Dr. Adriano Piattelli e à Professora Dra. Giovanna Iezzi**, do Departamento de Odontologia e Medicina - Universidade de Chieti-Pescara, Chieti, Itália, pela confiança, inestimável ajuda e por toda infra-estrutura disponibilizada. Muito obrigado!

À secretária da Cirurgia **Cleide Lemes da Silva**, pelo carinho, amizade, respeito, ajuda e preocupação. Obrigado pelos momentos compartilhados, pela ajuda incansável, torcida e estímulo constante. Você é exemplo de que o amor e a dedicação à profissão tornam a vida mais alegre, atenuam os problemas e conduzem ao sucesso!

Aos meus **amigos da graduação**, pela convivência, amizade, apoio e paciência. Muito obrigado por acreditarem em mim!

Agradecimientos...

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP**, sob direção do Professor Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé e vice-direção da Professora Dra. Ana Maria Pires Souhbia pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Aos **amigos do curso de Doutorado em Cirurgia**: Thallita Pereira Queiroz, Jéssica Lemos Gulinelli, Francisley Ávila Souza, Paulo Esteves Pinto Faria, Marcos Heidy Guskuma, Nicolas Homsy, Albanir Gabriel Borrasca, Martha Alayde Salim, Abrahão Cavalcante Gomes Carvalho e Rodolpho Valentini Neto. Obrigado pelos ensinamentos e inesquecíveis momentos de convivência!

Aos **amigos do curso de Mestrado em Cirurgia**: Jônatas Caldeira Esteves, Pedro Ivo Santos Silva, Heloisa Fonseca Marão, Cassiano Costa Silva Pereira, Walter Cristiano Gealh, Ellen Cristina Gaetti, Pâmela Letícia dos Santos e Elisa Sartori. Aprendi muito com cada um de vocês. Obrigado pelos momentos compartilhados, ajuda e amizade!

Ao **amigo do Curso de Mestrado em Implantodontia**, Joel Ferreira Santiago Junior, pela amizade, ajuda, momentos compartilhados, ensinamentos e exemplo de vida. Obrigado!

Aos **amigos da Pós-Graduação em Odontologia**, pela ajuda, agradável convivência e momentos compartilhados!

Ao **amigo e estagiário da Disciplina de Cirurgia**, Igor, pela amizade, respeito, confiança e momentos compartilhados!

Aos **amigos e estagiários da Disciplina de Cirurgia**, pela ajuda, respeito e agradável convivência!

Aos **alunos do Curso de Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP**, pelo respeito, credibilidade e confiança depositados aos alunos da Pós-Graduação, permitindo-nos realizar nosso grande sonho de atividade acadêmica. Aprendemos muito com vocês!

Ao **João (Biotério)**, por toda colaboração no cuidado aos animais utilizados neste experimento, bem como pela valiosa e eficiente ajuda durante a parte experimental deste trabalho. Muito Obrigado!

Aos **funcionários do Laboratório de Cirurgia e amigos**: Tina, Bernadete Maria Nunes Kimura, Maria Dirce Colli Boatto, Gilmar Martins de Oliveira e Antônia, pela ajuda em diversas etapas da dissertação, carinho, paciência, compreensão e agradáveis momentos compartilhados.

Aos **funcionários da Biblioteca**: Cláudio, Fernando, Ivone, Izamar, Júnior, Luzia e Maria Cláudia, pela disponibilidade e carinho!

À funcionária da Biblioteca **Ana Cláudia Martins Grieger Manzatti**, pela valiosa ajuda na correção da Dissertação, atenção e carinho sempre dispensados!

Aos **funcionários da Pós-graduação**: Diogo, Marina e Valéria, pela paciência, disponibilidade, alegria e admirável interesse em nos ajudar sempre.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da Bolsa de Mestrado e apoio financeiro, indispensáveis à realização deste trabalho.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram com este trabalho, meus sinceros agradecimentos!

Epígrafe

"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver..."

Martin Luther King

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio financeiro que viabilizou a realização deste trabalho de pesquisa.

Processo 2008/02073-7

Resumo

Resumo

Guastaldi FPS. Caracterização química e morfológica de implantes Ti-Mo com superfícies usinadas e modificadas por feixe de laser. Análises biomecânica, histológica e histométrica em coelhos (dissertação). Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista; 2010.

Proposição: Caracterizar, química e morfológicamente, superfícies de implantes constituídos de ligas de titânio/molibidênio (Ti-15Mo), modificadas por feixe de laser, comparando-as com implantes da mesma liga com superfície usinada, empregando-se análises biomecânica, histológica e histométrica.

Material e método: Dezesesseis coelhos receberam 1 implante por tíbia das seguintes superfícies: superfície usinada (SU) e superfície modificada por laser (SML). Após 8 semanas foi realizado o teste biomecânico em 6 animais. As amostras teciduais dos outros 10 animais foram submetidas à análise histológica e histométrica da interface osso-implante. As superfícies dos implantes foram analisadas por MEV e EDS, antes da realização do procedimento cirúrgico.

Resultado: A caracterização da superfície mostrou uma topografia rugosa, regular e homogênea, promovida pela irradiação por laser. A análise por EDS mostrou ausência de contaminação da superfície pelo método de modificação. O resultado na remoção por torque, no período, foi 51,5 N.cm para SU e > 90 N.cm para SML. A análise histológica mostrou formação e um íntimo contato do tecido ósseo em 42% da superfície do implante SML, o que não foi constatado no implante SU (24%). Dados histométricos (BIC%) mostraram diferenças

estatisticamente significativas entre o grupo SU e o SML, para o implante inteiro ($p = 0.0012$), as 3 melhores espiras consecutivas da região cortical ($p = 0.0012$) e o espaço medular ($p = 0.0082$).

Conclusão: O tratamento a laser é um procedimento limpo, reprodutível e promove características físico-químicas e topográficas, importantes para a osseointegração. Os implantes de Ti-15Mo com SML apresentaram resultados biomecânicos, histológicos e histométricos superiores aos usinados.

Palavras-chave: Implante dentário; Titânio; Ligas; Lasers.

Abstract

Abstract

Guastaldi FPS. Chemical and morphological characterization of implants Ti-Mo with machined surfaces and modified by laser beam. Biomechanical, histological and histometric analysis in rabbits (dissertation). Araçatuba: São Paulo State University; 2010.

Purpose: Characterize, chemically and morphologically, implants surfaces of titanium/molybdenum alloy (Ti-15Mo), modified by laser beam, and comparing them with the same alloy implants with machined surface, using biomechanical, histological and histometric analysis.

Material and method: Sixteen rabbits received 1 implant by tibia of the following surfaces: machined surface (MS) and laser-modified surface (LMS). After 8 weeks a biomechanical test was performed in 6 animals. The tissue samples of the other 10 animals were submitted to histological and histometric analysis of bone-implant contact. The surfaces of the implants were analyzed by SEM and EDX prior to the surgical procedures.

Result: The characterization of the surface showed a rough, regular and homogeneous topography, caused by laser irradiation. The EDX analysis showed no contamination of the surface by the method of modification. Average removal torque in the period was 51.5 N.cm for MS and > 90 N.cm for LMS. Histological analysis showed bone formation and close contact of bone tissue on 42% of the LMS implant surface, which was not observed in the MS implants (24%). Histometric data (BIC%) showed statistically significant differences between the control and test group for the entire implant ($p = 0.0012$), the 3

best consecutive spires of the cortical ($p = 0.0012$) and medullary area ($p = 0.0082$).

Conclusion: The laser treatment is a clean, reproducible procedure, and promotes important physico-chemical and topographic characteristics for osseointegration. The Ti-15Mo implants with LMS showed better biomechanical, histological and histometric results than the machined ones.

Key words: Dental implant; Titanium; Alloys; Lasers.

Lista de Figuras

Figura 1 - (a) Micrografia MEV da liga Ti-15Mo; (b) mapa do Mo (pontos brancos) e (c) mapa do Ti (pontos brancos), na mesma superfície: (a, b e c) 2000X.

Figura 2 - Micrografia MEV mostrando a topografia da liga Ti-15Mo com superfície usinada: (a) 500X; (b) 100X.

Figura 3 - Micrografia MEV mostrando a topografia da liga Ti-15Mo com superfície tratada por laser: (a) 500X; (b) 100X.

Figura 4 - EDS da liga Ti-15Mo com superfície (a) usinada e (b) tratada por laser.

Figura 5 - Microscopia óptica de implantes da liga Ti-15Mo com superfície usinada: pode ser observado tecido ósseo originado predominantemente do osso cortical pré-existente (asteriscos). Fucsina básica / azul de toluidina - 8X.

Figura 6 - Microscopia óptica: região cortical, onde é possível observar tecido ósseo compacto e pouco tecido medular; entretanto, o contato osso-implante está presente em apenas algumas regiões - 40X.

Figura 7 - Microscopia óptica: região medular, pequenas trabéculas ósseas neoformadas podem ser observadas (flechas), distribuídas sem homogeneidade - 40X.

Figura 8 - Microscopia óptica: região medular, onde é possível observar que as trabéculas ósseas estão localizadas predominantemente na concavidade da espira, com pouco tecido ósseo medular, além da presença de tecido conjuntivo - 100X.

Figura 9 - Microscopia ótica de implantes da liga Ti-15Mo com superfície modificada por laser: pode ser observado tecido ósseo compacto e pouco tecido medular, originado predominantemente do osso cortical pré-existente (asteriscos). Fucsina básica / azul de toluidina - 8X.

Figura 10 - Microscopia ótica: região cortical, onde é possível observar tecido ósseo preenchendo 86% das irregularidades da superfície do implante e pouco tecido ósseo medular - 40X.

Figura 11 - Microscopia ótica: região medular, uma fina camada de tecido ósseo neoformado pode ser encontrada em 32% da superfície do implante, tanto na concavidade quanto na convexidade das espiras (flechas) - 40X.

Figura 12 - Microscopia ótica: região medular, onde é possível observar tecido ósseo homogeneamente distribuído e grandes lacunas de osteócitos (flecha), típicas de osso neoformado, em contato com a superfície - 100X.

Figura 13 - Forno a arco voltaico utilizado na fusão das ligas.

Figura 14 - Detalhe da câmara de fusão.

Figura 15 - Lingote obtido após a fusão dos elementos puros.

Figura 16 - Aparelho de laser Yb:YAG pulsado.

Figura 17 - Irradiação da superfície do implante.

Figura 18 - Implante de Ti-15Mo com superfície usinada.

Figura 19 - Implante de Ti-15Mo com superfície modificada por laser.

Figura 20 - Tricotomia.

Figura 21 - Anti-sepsia com PVPI degermante e tópico.

Figura 22 - Anestesia local.

Figura 23 - Incisão no plano dérmico e muscular.

Figura 24 - Incisão periosteal.

Figura 25 - Descolamento e exposição do leito receptor.

Figura 26 - Sequência progressiva das fresas utilizadas na confecção dos defeitos ósseos (Conexão, SP, Brasil).

Figura 27 - Início do preparo do leito receptor do implante com a fresa lança.

Figura 28 - Preparo sequencial do leito receptor do implante com a fresa helicoidal de 2,0 mm.

Figura 29 - Preparo sequencial do leito receptor do implante com a fresa piloto de 2,0/3,0 mm.

Figura 30 - Finalização do preparo do leito receptor do implante com a fresa helicoidal de 3,0 mm.

Figura 31 - Leito receptor do implante após a confecção do defeito ósseo.

Figura 32 - Instalação manualmente do implante de Ti-15Mo com superfície usinada na metáfise tibial esquerda.

Figura 33 - Instalação manualmente do implante de Ti-15Mo com superfície modificada por laser na metáfise tibial direita.

Figura 34 - Sutura em planos dos tecidos descolados.

Figura 35 - Torquímetro analógico utilizado para os testes biomecânicos.

Figura 36 - Mensuração dos valores obtidos na análise biomecânica em N.cm.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Condições de ajuste do feixe de laser.

Tabela 2 - Análise química da liga Ti-15Mo (%m/m).

Tabela 3 - Medidas do ângulo de contato e condição de molhamento.

Tabela 4 - Média e desvio padrão dos valores obtidos no teste de torque reverso.

Tabela 5 - Avaliação do contato osso-implante (BIC%), para todo o implante, para as 3 melhores espiras consecutivas da região cortical e medular.

Lista de Abreviaturas

Ti - Titânio

Mo - Molibidênio

Ticp - Titânio comercialmente puro

SU - Superfície usinada

SML - Superfície modificada por laser

MS - Machined surface

LMS - Laser modified surface

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

EDS - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X

EDXRF - Espectroscopia por fluorescência de raios X

PVPI - Polivinil Pirrolidona Iodo

DP - Desvio padrão

BIC - Bone-to-implant contact

COI - Contato osso-implante

Sumário

1 Introdução	30
2 Material e Método	34
3 Resultado	42
4 Discussão	47
5 Conclusão	52
Referências	54
Figuras	62
Tabelas	69
Anexos	71
Anexo A - Certificado do Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEEAA).	72
Anexo B - Normas da Revista Clinical Oral Implants Research , selecionada para a publicação do artigo.	73
Anexo C - Ilustração do procedimento de obtenção da liga Ti-15Mo.	81
Anexo D - Ilustração do procedimento de modificação das superfícies por laser.	82
Anexo E - Ilustração do procedimento cirúrgico.	84
Anexo F - Ilustração da análise biomecânica.	89

Introdução

1. Introdução*

Interesse crescente tem sido observado no desenvolvimento de uma nova geração de biomateriais que apresentem propriedades como, biocompatibilidade local e sistêmica (Oliveira & Guastaldi 2008), alta resistência à corrosão, ao desgaste e adequadas propriedades mecânicas (baixo módulo de elasticidade) (Kuroda et al. 1998; López et al. 2002; Oliveira & Guastaldi 2009).

Dentre esses, o titânio e suas ligas continuam a atrair muita atenção para sua aplicação biomédica como materiais metálicos. Suas superiores qualidades, como baixa densidade, alta resistência à corrosão, baixo módulo de elasticidade e boa biocompatibilidade, são desejáveis para materiais biomédicos (Kobayashi et al. 1995; Ho et al. 1999; Oliveira & Guastaldi 2009).

A alta resistência à corrosão do titânio e suas ligas é, em parte, devido à formação espontânea de uma camada passiva de dióxido de titânio sobre sua superfície. As propriedades físico e eletroquímicas do filme de óxido e sua estabilidade a longo prazo, em ambientes biológicos, desempenham um papel decisivo para a biocompatibilidade de implantes de titânio (Ti) (Pan et al. 1996) e, além disso, a camada do óxido formada melhora o processo de osseointegração (Lavos-Valereto et al. 2004).

* Normas da revista **Clinical Oral Implants Research**. (anexo B).

Estudos evidenciam que implantes com superfície rugosa apresentam melhores resultados de reparo ósseo comparados aos implantes com superfície usinada (Grizon et al. 2002; Zechner et al. 2003; Albrektsson & Wennerberg 2004). Os prováveis fatores que influenciam estes achados estão relacionados à maior formação óssea na interface osso-implante, observada nas superfícies com morfologia rugosa, incluindo melhor retenção do coágulo sanguíneo, aumento da migração e proliferação celular e aumento da área de contato da superfície do implante (Wennerberg et al. 1995; Placko et al. 2000; Gotfredsen et al. 2001; Klokkevold et al. 2001).

A osteogênese na interface osso-implante é influenciada por vários mecanismos. Uma série de eventos coordenados, incluindo a adsorção de proteínas, proliferação e deposição de tecido ósseo podem ser alteradas pelas diferentes topografias da superfície (Roach et al. 2007; Davies et al. 2007). Por sua vez, cada um desses eventos é afetado pela interação físico-química entre as moléculas e células da área circunjacente (Yan et al. 1997).

Portanto, a superfície rugosa estimula e facilita a osseointegração com consequente favorecimento da colocação de carga protética sobre esses implantes, em um menor tempo de reparo (Trisi et al. 2003).

Dentre as diversas técnicas de modificação das superfícies dos implantes osseointegrados desenvolvidas e estudadas, a irradiação com feixe de laser merece destaque. Foi originalmente introduzida na Engenharia de Materiais (Picraux & Pope 1984) e promove uma microestrutura com aumento na área de superfície, na dureza, na resistência à corrosão e na biocompatibilidade do titânio, devido à sua oxidação e subsequente formação de óxidos e nitretos (György et al. 2004). Além disso, esse método produz uma

morfologia de superfície complexa e homogênea, com alto grau de pureza, constituindo, portanto, um processo controlável e reprodutível (Gaggl et al. 2000; Cho & Jung 2003).

Dessa forma, o propósito deste estudo foi caracterizar, química e morfologicamente, superfícies de implantes, constituídos de ligas de titânio/molibidênio (Ti-15Mo), modificadas por feixe de laser, comparando-as com implantes da mesma liga com superfície usinada, instalados em tíbia de coelhos, no período de 8 semanas, empregando-se análises biomecânica, histológica e histométrica.

Material e Método

2. Material e Método

2.1 Obtenção das ligas

Ligas metálicas de Ti-Mo estão sendo desenvolvidas pelo Grupo de Biomateriais do Instituto de Química - UNESP - Araraquara, preparadas por fusão a arco voltaico, em atmosfera de argônio, seguindo procedimento descrito na literatura (Oliveira et al. 2004, 2007), com a seguinte composição: Ti-15Mo (%m/m), para serem aplicadas como Biomateriais.

2.2 Confeção das amostras

Os lingotes obtidos após a fusão dos elementos (Ti e Mo) foram usinados (Thomazi & Thomazi Ferramentaria, São Carlos, Brasil), de forma artesanal, para a obtenção dos implantes. Parte das amostras foi submetida à irradiação por laser após sua usinagem.

2.3 Modificação das superfícies por feixe de laser

Os ensaios de irradiação dos implantes por feixe de laser foram realizados pelo Grupo de Biomateriais do Instituto de Química - UNESP - Araraquara, que disponibilizou toda a infra-estrutura para o desenvolvimento do presente estudo.

Os implantes de Ti-15Mo e superfície usinada foram fixados em torno rotatório, sob o aparelho de laser Yb pulsado (Pulsed Ytterbium Fiber Laser, Sistema Omnimark 20F, Ominitek Tecnologia Ltda, São Paulo, Brasil).

O feixe de laser foi projetado sobre toda a superfície das espiras do implante, buscando-se a obtenção de uma superfície rugosa e homogênea.

Testes iniciais de emissão do feixe de laser foram realizados em atmosfera normal com o equipamento ajustado segundo os parâmetros apresentados na tabela 1.

2.4 Caracterização das superfícies dos implantes por MEV e EDS

A composição química e a topografia das diferentes superfícies (SU e SML) da liga Ti-15Mo, foram caracterizadas antes da realização do procedimento cirúrgico, por MEV, utilizando-se o microscópio eletrônico de varredura (Jeol, modelo JSM-T330A) do Instituto de Química - UNESP - Araraquara, com sistema EDS acoplado.

2.5 Medidas do ângulo de contato

A medida do ângulo de contato (def.: ângulo formado pela linha de base e a tangente ao contorno da gota) da gota de um líquido, de interesse numa superfície, tem sido utilizada para caracterizar a sua molhabilidade, e podem ser interpretados, de acordo com os seguintes valores: molhamento completo: $\theta = 0^\circ$; molhamento parcial: $0 < \theta < 90^\circ$; não há molhamento: $\theta > 90^\circ$. (Arthur & Alice 1997).

A molhabilidade das amostras (discos) foi mensurada, à temperatura ambiente, com umidade relativa do ar de 75%, utilizando-se um equipamento (Contact Angle System, vídeo-based Dataphysics, modelo OCA-15) para análise do ângulo de contato. A mensuração de cada amostra foi repetida 3

vezes para obtenção do valor médio do ângulo de contato (θ) das diferentes superfícies.

2.6 Animais

Foram utilizados 16 coelhos machos (Nova Zelândia), variação *albinus*, com idade de aproximadamente 5 meses e peso corporal de 3 a 4 Kg. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com dieta padrão, ração sólida (Procoelho, Primor) e água “*ad libitum*” no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, sob o protocolo número 2008-003997 (anexo A).

2.7 Cirurgia experimental

Os animais foram mantidos em jejum durante 8 horas prévias ao procedimento cirúrgico, sedados pela combinação de 50 mg/kg de Cloridrato de Ketamina intramuscular (IM) (Vetaset - Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) e 5 mg/kg de Cloridrato de Xilazina (Dopaser - Laboratório Calier do Brasil Ltda - Osasco, São Paulo, Brasil) e receberam, como anestesia local, cloridrato de mepivacaína (0.3 ml/Kg, Scandicaine 2% com adrenalina 1:100.000, Septodont, França) para auxiliar na hemostasia do campo operatório.

Após a sedação dos animais foi realizada tricotomia na porção medial de ambas as tíbias e anti-sepsia da região a ser incisada com Polivinil Pirrolidona Iodo Degermante (PVPI 10%, Riodeine Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto), associado à PVPI tópico.

Com uma lâmina número 15 (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japão) foi realizada uma incisão de aproximadamente 3 cm de comprimento na porção medial de cada tíbia, o tecido mole divulsionado em espessura total e afastado com o auxílio de descoladores de periósteo, expondo o osso para instalação dos implantes.

Para a confecção dos defeitos ósseos foi utilizado um motor elétrico com velocidade final de 1600 r.p.m. e contra-ângulo redutor de 16:1 (Kavo, Santa Catarina, Brasil). O preparo dos leitos receptores foi iniciado com uma fresa lança para delimitar a localização dos implantes e romper a cortical óssea. Em seguida foi utilizada a fresa helicoidal de 2,0 mm, a piloto de 2,0/3,0 mm e finalmente a fresa helicoidal de 3,0 mm (Conexão, São Paulo, Brasil), sequencialmente, com irrigação por meio de solução de cloreto de sódio a 0,9% (Darrow, Rio de Janeiro, Brasil) durante toda a preparação. Os defeitos confeccionados envolveram a cortical óssea superior e inferior (bicortical).

Foram utilizados neste estudo 32 implantes de hexágono interno, com diâmetro de 3,75 mm, comprimento de 10,00 mm, sendo 16 de cada tipo de superfície (SU e SML).

Cada animal recebeu 2 implantes (1 de cada superfície), sendo 1 implante na face lateral da porção medial de cada tíbia. Os implantes foram instalados manualmente utilizando-se uma chave hexagonal (Allen).

Os tecidos foram suturados em planos empregando-se fio absorvível (Poliglactina 910 - Vicryl 4.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brasil) com pontos contínuos no plano profundo e fio monofilamentar (Nylon 5.0, Ethicon, Johnson, São José dos Campos, Brasil) com pontos interrompidos no plano mais externo.

No pós-operatório os animais receberam administração intramuscular (IM) de Pentabiótico (0,1ml/kg, Fort Dodge Saúde Animal Ltda, Campinas, São Paulo, Brasil) em dose única no pós-operatório imediato e Dipirona Sódica (1 mg/kg/dia, Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltda, São Paulo, Brasil) no total de 3 doses.

2.8 Análise biomecânica

No período de 8 semanas pós-operatório, 6 animais foram submetidos à eutanásia por meio da administração intramuscular (IM) de dose letal de Hidrato de Cloral a 30% (2 ml/kg).

As porções mediais das tíbias dos 6 animais foram reabertas para exposição dos implantes e realização do torque reverso. Uma chave hexagonal (Allen) foi adaptada ao hexágono interno do implante e o torquímetro analógico (15-BTG, Tohnichi, Tokyo, Japan) acoplado à chave. Foi aplicado movimento anti-horário para remoção dos implantes aumentando-se o torque até que ocorresse a rotação do implante no interior do tecido ósseo, rompendo-se completamente a interface osso-implante, momento em que o torquímetro registrou o pico máximo de torque necessário para esse rompimento.

2.9 Análise histológica e histométrica

Após a eutanásia dos outros 10 animais, as tíbias destes foram removidas e o tecido mole excedente eliminado. As peças foram reduzidas respeitando-se uma distância de aproximadamente 10 mm das bordas dos defeitos.

O processamento das amostras e as análises da interface osso-implante foram realizados no Departamento de Odontologia e Medicina - Universidade de Chieti-Pescara, Chieti, Itália, sob supervisão do Prof. Dr. Adriano Piattelli e da Profa. Dra. Giovanna Iezzi.

Os implantes foram armazenados imediatamente em formalina tamponada 10% e processados para a obtenção de secções finas (Precise 1 Automated System®, Assing, Rome, Italy). Em seguida, foram submetidos à desidratação em concentrações crescentes de etanol (70-100%) e pré-infiltrados com metilmetacrilato diluído (concentrações crescentes: 70-100%), seguido de infiltração com metilmetacrilato puro (Technovit® 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Germany). Este procedimento antes da polimerização durou 14 dias.

Após a polimerização, os espécimes foram seccionados longitudinalmente, ao longo do eixo principal do implante, por meio de um disco de diamante de alta precisão, com aproximadamente 150 µm de espessura e reduzidos a 30 µm. Três lâminas, de cada espécime, foram obtidas e, posteriormente, coradas com fucsina básica e azul de toluidina.

A histometria BIC% (bone-to-implant contact), definida como a quantidade de osso mineralizado em contato direto com a superfície do implante foi medida, bem como a BIC % das 3 melhores espiras consecutivas de cada implante, na região cortical e na região medular. As mensurações foram realizadas utilizando um microscópio óptico (Laborlux S, Leitz, Wetzlar, Germany) acoplado a uma câmera de vídeo de alta resolução (3CCD, JVC KY-F55B, JVC, Yokohama, Japan) conectado a um computador (Intel Pentium III 1200 MMX, Intel, Santa Clara, CA, USA). Este sistema foi associado a um

digitizing pad (Matrix Vision GmbH, Oppenweiler, Germany) e a um software para análises histométricas com capacidade de capturar imagens (Image-Pro Plus 4.5, Media Cybernetics Inc., Immagini & Computer Snc Milano, Italy).

3.0 Análise estatística

Para interpretação dos resultados provenientes da análise química e histométrica, foi empregado o Teste não-paramétrico de Mann-Whitney, adotando-se o nível de significância de 5%.

Resultado

3. Resultado

3.1 Análise química

A análise por EDS e EDXRF mostrou que a composição química atual da liga Ti-15Mo foi homogênea e próxima ao valor nominal, em toda região analisada (superfície e centro da liga) (tabela 2).

3.2 Análise por MEV e EDS

De modo a caracterizar a topografia das superfícies dos implantes antes dos estudos *in vivo*, foram realizadas análises por MEV e EDS. A análise por MEV revelou superfícies sem defeitos do processo de fundição (figura 1a), enquanto o mapeamento de Ti e Mo mostrou uma distribuição homogênea destes elementos, sem zona preferencial, em toda região analisada (figura 1b e 1c).

Foram encontradas, também, diferenças na topografia dos implantes SU e SML. As amostras apenas usinadas apresentaram uma superfície com ranhuras provenientes da usinagem dos implantes (figura 2), enquanto que as modificadas por laser apresentaram irregularidades em suas superfícies, com textura micro-macro típica (figura 3).

A análise por EDS mostrou ausência de oxigênio nas amostras usinadas (figura 4a) e presença do mesmo nas amostras irradiadas por laser (figura 4b), proveniente do processo de fusão e solidificação rápido do Ti em atmosfera ambiente (isto é, em presença de O₂). Nenhum elemento não constituinte da

liga foi identificado, confirmando a ausência de contaminação da superfície pelo método de irradiação por laser.

3.3 Medidas do ângulo de contato

Os valores obtidos pelas medidas do ângulo de contato para as superfícies analisadas (SU e SML) e a condição de molhamento, estão representados na tabela 3.

3.4 Observações clínicas

Os animais não apresentaram qualquer alteração tecidual, não foram verificados sinais de infecção e nem de fratura óssea nas tíbias.

3.5 Análise biomecânica

Em decorrência da impossibilidade de mensuração dos valores de torque reverso dos implantes SML, visto que o limite do torquímetro analógico utilizado é 90 N.cm e que nenhum implante foi removido, apresentamos apenas a média e o desvio padrão dos grupos SU e SML (tabela 4).

3.6 Análise histológica

3.6.1 Implantes com superfície usinada (controle)

Presença de tecido ósseo originado predominantemente do osso cortical pré-existente para os implantes com superfície usinada (figura 5).

Na região cortical, foi observado tecido ósseo compacto e pouco tecido ósseo medular. Entretanto, o contato osso-implante está presente em apenas algumas regiões (figura 6).

Por sua vez, na região medular, pequenas trabéculas ósseas neoformadas podem ser observadas, distribuídas sem homogeneidade (figura 7); com grande ampliação é possível observar que estão predominantemente localizadas na concavidade da espira, com pouco tecido ósseo medular, além da presença de tecido conjuntivo (figura 8).

3.6.2 Implantes com superfície tratada por laser (teste)

Presença de tecido ósseo originado predominantemente do osso cortical pré-existente, semelhante ao obtido para os implantes com superfície usinada.

Na região cortical, pode ser observado tecido ósseo compacto e pouco tecido ósseo medular (figura 9). Além disso, o tecido ósseo preenche 86% das irregularidades da superfície (figura 10).

Na região medular, uma fina camada de tecido ósseo neoformado homogeneamente distribuída, pode ser encontrada em 32% da superfície do implante, tanto na concavidade como na convexidade das espiras (figura 11). Grandes lacunas de osteócitos, típicas de osso neoformado, podem ser observadas em contato direto com a superfície (figura 12).

3.7 Análise histométrica

Dados histométricos mostraram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo SU e o SML, em relação ao BIC (%) para o implante inteiro: 24.07% e 41.88%, respectivamente ($p = 0.0012$). Fato verificado entre os

implantes com superfície usinada e modificada por laser, avaliando-se as 3 melhores espiras consecutivas da região cortical ($p = 0.0012$) e do espaço medular ($p = 0.0082$) (tabela 5).

Discussão

4. Discussão

A literatura reporta a utilização de coelhos, como modelo ósseo, em decorrência de suportarem a instalação de implantes comercialmente empregados, para avaliar a osseointegração de diferentes tipos de implantes, com variações quanto à área receptora, incluindo instalação na articulação do joelho e metáfise tibial (Sennerby et al., 1992), face lateral da porção medial da tíbia (Kong et al., 2002) e metáfise tibial (Cordioli et al., 2000; Margonar et al., 2003).

Foi definida a utilização da face lateral da porção medial da tíbia do coelho como área receptora, considerando-se o fato desta estar distante do centro de crescimento ósseo (localizado na metáfise tibial, próximo à articulação tíbio-femural), região de maior atividade osteogênica, para evitar qualquer influência sobre o processo de reparo ósseo.

A análise topográfica das superfícies estudadas mostrou que os implantes de Ti-15Mo com SML apresentaram uma morfologia complexa e homogênea, que favoreceu o recobrimento por tecido ósseo, quando comparadas aos implantes com SU. As propriedades físico-químicas e morfológicas da superfície do implante têm uma função direta na osteogênese que ocorre na interface osso-implante, influenciando uma série de eventos coordenados, que incluem a adsorção proteica, proliferação e diferenciação celular e a deposição de matriz óssea (Wennerberg et al. 1995; Placko et al. 2000; Gotfredsen et al. 2001; Klokkevold et al. 2001).

Análise biomecânica

As forças de torque reverso são comumente utilizadas como medidas biomecânicas de ancoragem ou osseointegração, sendo que o aumento dessas, para a remoção dos implantes possui correlação positiva com o grau de contato osso-implante (Cordioli et al. 2000; Klokkevold et al. 2001; Kong et al. 2002; Margonar et al. 2003; Moriya et al. 2006).

Cho & Jung (2003) avaliaram a importância da textura superficial comparando as forças para remoção de implantes de Ticp usinados e modificados por laser, após 8 semanas em tíbias de coelhos. Os resultados mostraram que o grupo modificado por laser apresentou os valores mais altos de torque reverso quando comparados ao grupo de superfície usinada, com diferenças estatisticamente significativas.

Observamos, em nosso estudo, valores altos de torque reverso para os implantes da liga Ti-15Mo SU ($51,5 \pm 13,63$ N.cm) comparados aos obtidos por outros autores (Faeda et al. 2009a), utilizando implantes de Ticp e superfície usinada, no período de 8 semanas.

Karacs et al. (2003) estudaram a variação do torque reverso em experimentos com coelhos, analisando a combinação de amostras jateadas (Al_2O_3 em pó), irradiadas por laser e usinadas. Concluíram que o jateamento aumenta os valores do torque reverso e, ainda, que o laser promove um aumento significativo destes. Esses resultados também foram observados em nosso estudo, em que os valores de torque-reverso da SML, mesmo na impossibilidade de comparação estatística, são superiores a 90 N.cm.

De acordo com Faeda et al. (2009), a modificação da topografia da superfície por feixe de laser parece ser um método promissor para sua

utilização em implantes dentários, já que produz um padrão de superfície com importantes propriedades na osseointegração, melhorando a retenção osso-implante, resultando em uma melhor e mais rápida integração quando comparada aos implantes usinados. Resultados também observados em nosso estudo.

Análise histológica e histométrica

A proliferação e diferenciação das células ósseas, relatadas por alguns estudos, são influenciadas pela rugosidade da topografia da superfície do implante (Martin et al. 1995; Schwartz et al. 1999).

Estudos têm demonstrado que a topografia da superfície do implante pode interferir não apenas na expressão gênica de osteoblastos, mas na diferenciação de células em osteoblastos (Schneider et al. 2003, 2004). Esses autores também sugeriram que a interação das células com os componentes da matriz extracelular, e a organização do citoesqueleto de actina, associados à topografia da superfície do implante, podem influenciar a expressão gênica celular.

Vários autores têm demonstrado maior percentual de BIC, bem como valores de torque reverso para remoção de implantes com superfície rugosa, quando comparados aos implantes usinados (Wennerberg et al. 1996; Cho & Jung 2003; Hallgren et al. 2003; Karacs et al. 2003; Gotz et al. 2004; Grassi et al. 2006, 2007; Shibli et al. 2007; Marticorena et al. 2007).

No presente estudo, a modificação da superfície por laser mostrou uma grande influência nos resultados histológicos e histométricos para a liga Ti-15Mo. Dados histométricos mostraram valores de BIC (%) significativamente

mais altos para o grupo SML quando comparado ao grupo SU, tanto na região cortical (86% e 42%, respectivamente) quanto na medular (32% e 11%, respectivamente). Estes dados são suportados por outros estudos (Hallgren et al. 2003; Karacs et al. 2003; Gotz et al. 2003, 2004) onde a topografia da superfície do implante foi modificada pela irradiação por feixe de laser.

Os resultados histométricos do presente estudo sugerem que o uso de implantes com superfície rugosa pode melhorar o processo de osseointegração, de acordo com estudos prévios realizados em tecido ósseo de animais (Buser et al. 1999; Klokkevold et al. 2001; Zechner et al. 2003; Mendes et al. 2007).

Conclusão

5. Conclusão

Este trabalho permite concluir que:

Todos os implantes estavam osseointegrados após 8 semanas.

A modificação das superfícies por laser promove a obtenção de importantes propriedades e características físico-químicas e morfológicas para a osseointegração, aumentando a retenção osso-implante, resultando em uma melhor e mais rápida integração destes.

O processo de modificação da superfície de implantes por laser além de ser um procedimento limpo, reprodutível e controlável, melhorou as propriedades da osseointegração da liga Ti-15Mo.

A liga Ti-15Mo com superfície modificada por laser é um material promissor para aplicações biomédicas.

Referências

Referências**

- 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. *Int J Prosthodont* 17 (5): 536-43.
- Arthur & Alice (1997) *Physical Chemistry of Surfaces*.
- Buser, D., Nydegger, T., Oxland, T., Cochran, D.L., Schenk, R.K., Hirt, H.P., Snétivy, D. & Nolte, L.P. (1999) Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 45: 75-83.
- Cordioli, G., Majzoub, Z., Piatelli, A. & Scarano, A. (2000) Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 15: 668-674.
- Cho, S.A. & Jung, S.K. (2003) A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. *Biomaterials* 24 (26): 4859-63.
- Davies, J.E. (2007) Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials* 28: 5058-5067.
- Faeda, R.S., Tavares, H.S., Sartori, R., Guastaldi, A.C. & Marcantonio, E. Jr. (2009) Evaluation of titanium implants with surface modification by laser beam. Biomechanical study in rabbit tibias. *Braz Oral Res* 23(2):137-43.

** Normas da revista **Clinical Oral Implants Research**. (anexo B).

- Faeda, R.S., Tavares, H.S., Sartori, R., Guastaldi, A.C. & Marcantonio, E. Jr. (2009a) Biological performance of chemical hydroxyapatite coating associated with implant surface modification by laser beam: biomechanical study in rabbit tibias. *J Oral Maxillofac Surg* 67(8):1706-15.
- Gaggl, A., Schultes, G. & Muller, W.D. (2000) Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces - a comparative study. *Biomaterials* 21 (10): 1067-1073.
- Gotfredsen, K., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2001) Bone reactions adjacent to titanium implants with different surface characteristics subjected to static load. A study in the dog (II). *Clin Oral Implants Res* 12 (3): 196-201.
- Gotz, H.E., Muller, M., Emmel, A., Holzwarth, U., Erben, R.G. & Stangl, R. (2004) Effect of surface finish on the osseointegration of laser-treated titanium alloy implants. *Biomaterials* 25(18):4057-4064.
- Grizon, F., Aguado, E., Huré, G., Baslé, M.F. & Chappard, D. (2002) Enhanced bone integration of implants with increased surface roughness: a long term study in the sheep. *J Dent* 30 (5-6): 195-203.
- Grassi, S., Piattelli, A., de Figueiredo, L.C., Feres, M., de Melo, L. & Iezzi, G. (2006) Histologic evaluation of early human bone response to different implant surfaces. *J Periodontol* 77(10):1736-1743.
- Grassi, S., Piattelli, A., Ferrari, D.S., Figueiredo, L.C., Feres, M. & Iezzi, G. (2007) Histologic evaluation of human bone integration on machined and sandblasted acid-etched titanium surfaces in type IV bone. *J Oral Implantol* 33(1):8-12.

- György, E., Pérez Del Pino, A., Serra, P. & Morenza, J.L. (2004) Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG laser irradiation. *Appl Surface Sci* 222: 415-422.
- Hallgren, C., Reimers, H., Chakarov, D., Gold, J. & Wennerberg, A. (2003) An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. *Biomaterials* 24(5): 701-710.
- Ho, W.F., Ju, C.P., Chern Lin, J.H. (1999) *Biomaterials* 20: 2115-2122.
- Karacs, A., Joob Fancsaly, A., Divinyi, T., Peto, G. & Kovach, G. (2003) Morphological and animal study of titanium dental implant surface induced by blasting and high intensity pulsed Nd-glass laser. *Materials Science and Engineering C* 23: 431-435.
- Klokkevold, P.R., Johnson, P., Dadgostari, S., Caputo, A., Davies, J.E. & Nishimura, R.D. (2001) Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium: a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 12(4): 350-357.
- Kobayashi, E., Matsumoto, S., Yoneyama, T. & Hamanaka, H. (1995) *J. Biomed. Mater. Res.* 29: 943-950.
- Kong, Y.M., Kim, D.H., Kim, H.E., Heo, S.J. & Koak, J.Y. (2002) Hydroxyapatite-based composite for dental implants: an in vivo removal torque experiment. *Journal of Biomedical Materials Research* 63: 714-721.
- Kuroda, D., Niinomi, M., Morinaga, M., Kato, Y. & Yashiro, T. (1998) Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials. *Mater Sci Eng A* 243(1-2): 244-249.

- Lavos-Valereto, I.C., Wolynech, S., Ramires, I., Guastaldi, A.C. & Costa, I. (2004) *J Mater Sci Mater Med* 25: 55-59.
- López, M.F., Gutiérrez, A. & Jiménez, J.A. (2002) In vitro corrosion behaviour of titanium alloys without vanadium. *Electrochim Acta* 47(9): 1359-1364.
- Margonar, R., Sakakura, C.E., Holzhausen, M., Pepato, M.T., Alba-Júnior, R.C. & Marcantonio-Junior, E. (2003) The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dentistry* 12: 333-339.
- Marticorena, M., Corti, G., Olmedo, D., Guglielmotti, M.B. & Duhalde, S. (2007) Laser surface modification of Ti implants to improve osseointegration. *J Phys Conf Ser* 59(1): 662-665.
- Martin, J.Y., Schwartz, Z., Hummert, T.W., Schraub, D.M., Simpson, J. & Cochran, D.L. (1995) Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation and protein synthesis of human osteoblast-like cells. *J Biomed Mater Res* 29: 389-401.
- Mendes, V.C., Moineddin, R. & Davies, J.E. (2007) The effect of discrete calcium phosphate nanocrystals on bone-bonding to titanium surfaces. *Biomaterials* 28: 4748-4755.
- Oliveira, N.T.C., Biaggio, S.R., Piazza, S., Sunseri, C. & Di Quarto, F. (2004) Photo-electrochemical and impedance investigation of passive layers grown anodically on titanium alloys. *Electrochim Acta* 49(26): 4563-4576.
- Oliveira, N.T.C., Aleixo, G., Caram, R. & Guastaldi, A.C. (2007) Development of Ti-Mo alloys for biomedical applications: Microstructure

and electrochemical characterization. *Mater Sci Eng A* 452-453: 727-731.

- Oliveira, N.T.C. & Guastaldi, A.C. (2008) Electrochemical behavior of Ti-Mo alloys applied as biomaterial. *Corros Sci* 50(4): 938-945.
- Oliveira, N.T.C. & Guastaldi, A.C. (2009) Electrochemical stability and corrosion resistance of Ti-Mo alloys for biomedical applications. *Acta Biomater* 5(1): 399-405.
- Pan, J., Thierry, D. & Leygraf, C. (1996) *J. Biomed. Mater. Res.* 28: 1143-1153.
- Picraux, S.T. & Pope, L.E. (1984) Tailored surface modification by ion implantation and laser treatment. *Science* 226(4675): 615-22.
- Placko, H.E., Mishra, S., Weimer, J.J. & Lucas, L.C. (2000) Surface characterization of titanium-based implant materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 15: 355-63.
- Roach, P., Eglin, D., Rodhe, K. & Perry, C.C. (2007) Modern biomaterials: A review - Bulk properties and implications of surface modifications. *J Mater Sci Mater Med* 18: 1263-1277.
- Schwartz, Z., Lohmann, C.H., Oefinger, J., Bonewald, L.F., Dean, D.D. & Boyan, B.D. (1999) Implant surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage. *Adv Dent Res* 13: 38-48.
- Schneider, G.B., Perinpanayagam, H., Clegg, M., Zaharias, R., Seabold, D., Keller, J. & Stanford, C. (2003) Implant surface roughness affect osteoblast gene expression. *J Dent Res* 82: 372-376.

- Schneider, G.B., Zaharias, R., Seabold, D., Keller, J. & Stanford, C. (2004) Differentiation of preosteoblasts is affected by implant surface microtopographies. *J Biomed Mater Res* 64A: 462-468.
- Sennerby, L., Thomsen, P. & Ericson, L.E. (1992) A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* 7: 62-71.
- Shibli, J.A., Grassi, S., de Figueiredo, L.C., Feres, M., Marcantonio-Junior, E. & Iezzi, G. (2007) Influence of implant surface topography on early osseointegration: a histological study in human jaws. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 80(2): 377-385.
- Trisi, P., Lazzara, R., Rebaudi, A., Rao, W., Testori, T. & Porter, S.S. (2003) Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol* 74: 945-56.
- Wennerberg, A., Albrektsson, T., Andersson, B. & Kroll, J.J. (1995) A histomorphometrical and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 6: 24-30.
- Wennerberg, A., Albrektsson, T., Johansson, C. & Andersson, B. (1996) Experimental study of turned and grit-blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials* 17(1): 15-22.

- Yan, W.Q., Nakamura, T., Kobayashi, M., Kim, H.M., Miyaji, F. & Kokubo, T. (1997) Bonding of chemically treated titanium implants to bone. *J Biomed Mater Res* 37: 267-275.
- Zechner, W., Tangl, S., Fürst, G., Tepper, G., Thams, U., Mailath, G. & Watzek, G. (2003) Osseous healing characteristics of three different implant types. A histological and histomorphometric study in mini-pigs. *Clin Oral Implant Res* 14(2): 150-157.

Figuras

Figuras

Figura 1 - (a) Micrografia MEV da liga Ti-15Mo; (b) mapa do Mo (pontos brancos) e (c) mapa do Ti (pontos brancos), na mesma superfície: (a, b e c) 2000X.

Figura 2 - Micrografia MEV mostrando a topografia da liga Ti-15Mo com superfície usinada: (a) 500X; (b) 100X.

Figura 3 - Micrografia MEV mostrando a topografia da liga Ti-15Mo com superfície modificada por laser: (a) 500X; (b) 100X.

Figura 4 - EDS da liga Ti-15Mo com superfície (a) usinada e (b) modificada por laser.

Figura 5 - Microscopia óptica de implantes da liga Ti-15Mo com superfície usinada: pode ser observado tecido ósseo originado predominantemente do osso cortical pré-existente (asteriscos). Fucsina básica / azul de toluidina - 8X.

Figura 6 - Microscopia óptica: região cortical, onde é possível observar tecido ósseo compacto e pouco tecido medular; entretanto, o contato osso-implante está presente em apenas algumas regiões - 40X.

Figura 7 - Microscopia óptica: região medular, pequenas trabéculas ósseas neoformadas podem ser observadas (flechas), distribuídas sem homogeneidade - 40X.

Figura 8 - Microscopia óptica: região medular, onde é possível observar que as trabéculas ósseas estão localizadas predominantemente na concavidade da espira, com pouco tecido ósseo medular, além da presença de tecido conjuntivo - 100X.

Figura 9 - Microscopia ótica de implantes da liga Ti-15Mo com superfície modificada por laser: pode ser observado tecido ósseo compacto e pouco tecido medular, originado predominantemente do osso cortical pré-existente (asteriscos). Fucsina básica / azul de toluidina - 8X.

Figura 10 - Microscopia ótica: região cortical, onde é possível observar tecido ósseo preenchendo 86% das irregularidades da superfície do implante e pouco tecido ósseo medular - 40X.

Figura 11 - Microscopia óptica: região medular, uma fina camada de tecido ósseo neoformado pode ser encontrada em 32% da superfície do implante, tanto na concavidade quanto na convexidade das espiras (flechas) - 40X.

Figura 12 - Microscopia óptica: região medular, onde é possível observar tecido ósseo homogeneamente distribuído e grandes lacunas de osteócitos (flecha), típicas de osso neoformado, em contato com a superfície - 100X.

Tabelas

Tabelas

Tabela 1 - Condições de ajuste do feixe de laser.

PROPRIEDADE DO FEIXE	DEFINITIVO
POTÊNCIA DO FEIXE (%)	0-255
VELOCIDADE DE VARREDURA (mm/s)	100
ESPAÇO ENTRE VARREDURAS (mm)	0,01
PASSO (número)	único
FREQÜÊNCIA DE PULSO (kHz)	20-35
ÁREA MÉDIA DE EXPOSIÇÃO (mm ²)	14

Tabela 2 - Análise química da liga Ti-15Mo (%m/m).

	Superfície	Centro da liga	
	Média ± DP	Média ± DP	p*
EDS	15.13 ± 0.25	15.11 ± 0.26	> 0.9999
EDXRF	14.86 ± 0.19	15.14 ± 0.32	0.2499

* Os valores de p são considerados não significativos.

Tabela 3 - Medidas do ângulo de contato e condição de molhamento.

Superfície	Ângulo (grau)
Ti-Mo (SU)	78 ± 5,0
Ti-Mo (SML)	0 (molhamento total)

Tabela 4 - Média e desvio padrão dos valores obtidos no teste de torque reverso.

	Superfícies avaliadas	
Período	Liga Ti-15Mo	
8 semanas	USINADA	LASER**
Média	51,5	> 90
Desvio padrão	13,63	-

****Acima do limite de detecção do torquímetro analógico utilizado.**

Tabela 5 - Avaliação do contato osso-implante (BIC%), para todo o implante, para as 3 melhores espiras consecutivas da região cortical e medular.

	USINADA	LASER	
	Média ± DP	Média ± DP	p***
Implante inteiro	24,07 ± 3,26	41,88 ± 3,20	0.0012
Região cortical	41,54 ± 2,43	85,87 ± 3,08	0.0012
Região medular	11,18 ± 0,93	31,83 ± 4,92	0.0082

*****Os valores de p são considerados muito significativos.**

Anexos

Anexo A

Certificado do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"ESTUDO *in vivo* EMPREGANDO-SE IMPLANTES DE Ti-Mo COM SUPERFÍCIE USINADA E SUPERFÍCIE MODIFICADA POR FEIXE DE LASER. ANÁLISES BIOMECÂNICA, HISTOLÓGICA E IMUNOISTOQUÍMICA"**, sob responsabilidade do Prof. Dr. IDELMO RANGEL GARCIA JÚNIOR e colaboração do Prof. Dr. ANTÔNIO CARLOS GUASTALDI, Prof. Dr. EDUARDO HOCHULI VIEIRA, FERNANDO POZZI SEMEGHINI GUASTALDI, FRANCISLEY ÁVILA SOUZA, Prof^a. Dr^a. ROBERTA OKAMOTO, THALLITA PEREIRA QUEIROZ e Dr. NILSON TADEU CAMARINHO DE OLIVEIRA, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 30 de maio de 2008 de acordo com o protocolo no. 2008-003997.

Araçatuba, 18 de junho de 2008

Prof^a Dr^a CRISTINA ANTONIALI SILVA
Presidente da CEEA - FOA/UNESP

Anexo B

Normas da Revista **Clinical Oral Implants Research**, selecionada para a publicação do artigo.

Content of Author Guidelines:

1. General, 2. Ethical Guidelines, 3. Submission of Manuscripts, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance.

1. GENERAL

Clinical Oral Implants Research conveys scientific progress in the field of implant dentistry and its related areas to clinicians, teachers and researchers concerned with the application of this information for the benefit of patients in need of oral implants. The journal addresses itself to clinicians, general practitioners, periodontists, oral and maxillofacial surgeons and prosthodontists, as well as to teachers, academicians and scholars involved in the education of professionals and in the scientific promotion of the field of implant dentistry.

Clinical Oral Implants Research publishes:

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stoma-tognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts.

Case reports and case series only if they provide or document new fundamental knowledge.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

2. ETHICAL GUIDELINES

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the

final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

Clinical Oral Implants Research adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

Up to 6 authors are accepted without need for justification. In the case of a specific and detailed justification of the role of every author, up to 8 authors may be mentioned. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editor reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material.

Clinical Oral Implants Research encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials-dev.ifpma.org/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest and Source of Funding

Clinical Oral Implants Research requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. Information concerning conflict of interest and sources of funding should be included under Acknowledgements.

2.5 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.6 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign copyright to Blackwell Publishing if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher. Correspondence to the journal is accepted on the understanding that the contributing author licences the publisher to publish the letter as part of the journal or separately from it, in the exercise of any subsidiary rights relating to the journal and its contents.

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the copyright to publish their paper to Blackwell Publishing. Assignment of the copyright is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Copyright Transfer Agreement must be sent before any manuscript can be published. Authors must send the completed Copyright Transfer Agreement upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Copyright Transfer Agreement at submission. Please return your completed form to:

Production Editor

Wiley Services Singapore Pte Ltd

600 North Bridge Road, #05-01 Parkview Square

Singapore 188778

Alternatively a scanned version of the form can be emailed to clr@oxon.blackwellpublishing.com or faxed to +65 6295 6202. For questions concerning copyright, please visit [Blackwell Publishing's Copyright FAQ](#)

3. SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site

<http://mc.manuscriptcentral.com/coir>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Editorial Assistant Ms. Brigitte Baur. E-mail: coir@zmk.unibe.ch

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original research articles of high scientific merit in the field of material sciences, physiology of wound healing, biology of tissue integration of implants, diagnosis and treatment planning, prevention of pathologic processes jeopardizing the longevity of implants, clinical trials on implant systems, stomatognathic physiology related to oral implants, new developments in therapeutic concepts and prosthetic rehabilitation.

Review articles by experts on new developments in basic sciences related to implant dentistry and clinically applied concepts. Reviews are generally by invitation only and have to be approved by the Editor-in-Chief before submission.

Case reports and case series, but only if they provide or document new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician.

Novel developments if they provide a technical novelty for any implant system.

Short communications of important research findings in a concise format and for rapid publication.

Treatment rational by experts with evidence-based treatment approach.

Proceedings of international meetings may also be considered for publication at the discretion of the Editor.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Page Charge

Articles exceeding 10 pages (including figures, tables and references) are subject to a charge of USD\$160 per additional page. One published page equates to approximately 3 manuscript pages or 650 words (excluding figures and tables).

5.2. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language might choose to have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: The symbol % is to be used for percent, h for hour, min for minute, and s for second. *In vitro*, *in vivo*, *in situ* and other Latin expressions are to be italicised. Use only

standard abbreviations. All units will be metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point and not a comma will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. In cases of doubt, the spelling orthodoxy of Webster's third new international dictionary will be adhered to.

Scientific Names: Proper names of bacteria should be binomial and should be singly underlined on the typescript. The full proper name (e.g., *Streptococcus sanguis*) must be given upon first mention. The generic name may be abbreviated thereafter with the first letter of the genus (e.g., *S. sanguis*). If abbreviation of the generic name could cause confusion, the full name should be used. If the vernacular form of a genus name (e.g., streptococci) is used, the first letter of the vernacular name is not capitalised and the name is not underlined. Use of two letters of the genus (e.g., Ps. for *Peptostreptococcus*) is incorrect, even though it might avoid ambiguity. With regard to drugs, generic names should be used instead of proprietary names. If a proprietary name is used, it must be attached when the term is first used.

5.3. Structure

All manuscripts submitted to *Clinical Oral Implants Research* should include Title Page, Abstract, Main Text and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate.

Title Page: should contain the title of the article, full name(s) of the authors (no more than 6) and institutional affiliation(s), a running title not exceeding 60 letters and spaces, and the name, telephone and fax numbers, email and complete mailing address of the author responsible for correspondence. The author must list appropriate key words for indexing purposes.

Abstract: should not to exceed 250 words. This should be structured into: objectives, material and methods, results, conclusions, and no other information.

Main Text of Original Research Article should include Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

Introduction: Summarise the rationale and purpose of the study, giving only strictly pertinent references. Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

Material and Methods: Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Published methods should be referenced and discussed only briefly, unless modifications have been made. Indicate the statistical methods used, if applicable.

Results: Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all data in the tables and illustrations. The important observations should be emphasised.

Discussion: Summarise the findings without repeating in detail the data given in the Results section. Relate your observations to other relevant studies and point out the implications of the findings and their limitations. Cite other relevant studies.

Main Text of Short Communications: Short communications are limited to two printed pages including illustrations and references and need not follow the usual division into material and methods, etc., but should have an abstract.

Acknowledgements: Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study.

Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. Sources of financial support should be acknowledged.

5.4. References

References should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Black & Miller 1988).

Three or more authors should always be referred to as, for example, (Fox et al. 1977).

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, symbols and abbreviations: a guide for biological and medical editors and authors (1988), p. 52, London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

name(s) of author(s), year, title of book, edition, volume, chapter and/ or page number, town of publication, publisher.

c) Author's names should be arranged thus: Daniels, J.A., Kelly, R.A. & Til, T.C.

Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Author's names when repeated in the next reference are always spelled out in full.

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1966).

e) The title of the paper should be included, without quotation marks.

f) The journal title should be written in full, italicised, and followed by volume number in bold type, and page numbers.

Examples:

Tonetti, M. S., Schmid, J., Hämmerle, C. H. & Lang, N. P. (1993) Intraepithelial antigen-presenting cells in the keratinized mucosa around teeth and osseointegrated implants. *Clinical Oral Implants Research* **4**: 177-186.

Poole, B., Ohkuma, S. & Warburton, M. (1978) Some aspects of the intracellular breakdown of exogenous and endogenous proteins. In: Segal, H.S. & Doyle, D.J., eds. Protein turnover and lysosome function, 1st edition, p. 43. New York: Academic Press.

We recommend the use of a tool such as [EndNote](#) or [Reference Manager](#) for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: www.endnote.com/support/enstyles.asp.

Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

5.5. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

Figures: All figures should clarify the text and their number should be kept to a minimum. Details must be large enough to retain their clarity after reduction in size. Illustrations should preferably fill a single-column width (81 mm) after reduction, although in exceptional cases 120mm (double-column) and 168 mm (full page) widths will be accepted. Micrographs should be designed to be reproduced without reduction, and they should be dressed directly on the micrograph with a linear size scale, arrows, and other designators as needed. Each figure should have a legend

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt.

Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor. Articles should not normally exceed 10 printed pages, including illustrations and references. Additional pages will be charged to the author(s) at the rate of USD 160 per page.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

Clinical Oral Implants Research is covered by Blackwell Publishing's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Wiley-Blackwell Author Services](#)

6.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.5 Offprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: Offprint.Cosprinters. If you have queries about offprints please e-mail offprint@cosprinters.com

6.6 Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate

Anexo C

Ilustração do procedimento de obtenção da liga Ti-15Mo.

Figura 13 - Forno a arco voltaico utilizado na fusão das ligas.

Figura 14 - Detalhe da câmara de fusão.

Figura 15 - Lingote obtido após a fusão dos elementos puros.

Anexo D

Ilustração do procedimento de modificação das superfícies por laser.

Figura 16 - Aparelho de laser Yb:YAG pulsado.

Figura 17 - Irradiação da superfície do implante.

Figura 18 - Implante de Ti-15Mo com superfície usinada.

Figura 19 - Implante de Ti-15Mo com superfície modificada por laser.

Anexo E

Ilustração do procedimento cirúrgico.

Figura 20 - Tricotomia.

Figura 21 - Anti-sepsia com PVPI degermante e tópico.

Figura 22 - Anestesia local.

Figura 23 - Incisão no plano dérmico e muscular.

Figura 24 - Incisão periosteal.

Figura 25 - Descolamento e exposição do leito receptor.

Figura 26 - Sequência progressiva das fresas utilizadas na confecção dos defeitos ósseos (Conexão, SP, Brasil).

Figura 27 - Início do preparo do leito receptor do implante com a fresa lança.

Figura 28 - Preparo sequencial do leito receptor do implante com a fresa helicoidal de 2,0 mm.

Figura 29 - Preparo sequencial do leito receptor do implante com a fresa piloto de 2,0/3,0 mm.

Figura 30 - Finalização do preparo do leito receptor do implante com a fresa helicoidal de 3,0 mm.

Figura 31 - Leito receptor do implante após a confecção do defeito ósseo.

Figura 32 - Instalação manualmente do implante de Ti-15Mo com superfície usinada na metáfise tibial esquerda.

Figura 33 - Instalação manualmente do implante de Ti-15Mo com superfície modificada por laser na metáfise tibial direita.

Figura 34 - Sutura em planos dos tecidos descolados.

Anexo F

Ilustração da análise biomecânica.

Figura 35 - Torquímetro analógico utilizado para os testes biomecânicos.

Figura 36 - Mensuração dos valores obtidos no teste de torque reverso em
N.cm.