



CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO
CURSO DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PERIODONTIA

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MICROESTRUTURAS DE
IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS SOBRE O TECIDO
ÓSSEO PERI-IMPLANTAR.
AVALIAÇÃO HISTOMORFOMETRICA EM HUMANOS**

SAURO GRASSI

**1º Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli
2º Orientador: Profª. Drª. Luciene C. de Figueiredo**

Guarulhos
2005



SAURO GRASSI

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MICROESTRUTURAS DE
IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS SOBRE O TECIDO
ÓSSEO PERI-IMPLANTAR.
AVALIAÇÃO HISTOMORFOMETRICA EM HUMANOS**

Dissertação apresentada à Universidade Guarulhos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Periodontia.

1º Orientador: Prof. Dr. Jamil Awad Shibli

2º Orientador: Prof^a. Dr^a. Luciene Cristina de Figueiredo

Guarulhos
2006

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Guarulhos

G798i **Grassi, Sauro**
Influência de diferentes microestruturas de implantes osseointegráveis sobre o tecido ósseo peri-implantar: avaliação histomorfométrica em humanos. / Sauro Grassi - Guarulhos, SP: Universidade Guarulhos, 2006.
58 p. : il.; 30 cm

1 – Orientador: Profº Dr. Jamil Awad Shibi
2 – Orientador: Profª Dra. Luciene C. de Figueiredo
Dissertação (Mestrado) – Universidade Guarulhos.

1. Influência de microestrutura de implante. 2. Ósseo integração

CDD 21. ed. 617.6

É da natureza do amor...

Ser refém do destino

(Lucano)

Caminantes no hay camino.....

Se hace camino al andar.....

(Antonio Machado)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Renata e Luigi, pelo apoio e carinho que sempre me proporcionaram, mesmo nos momentos difíceis e a distância geográfica que nos separa.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, pela vida, pelas amizades; por tudo o que me presenteia todos os dias, durante esta caminhada maravilhosa.

Aos meus filhos Martina, Elisa e Lucas, pela sua presença amada.

À Fátima, pelo apoio oferecido e que permitiu a realização deste trabalho.

Às minhas irmãs Nicla e Maria Serena, que mesmo distantes das minhas conquistas, torcem por elas e que de um modo ou outro sempre acham uma forma de se fazerem presente.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Jamil Awad Shibli, ao qual serei eternamente grato, não apenas pelo apoio como também pelo entusiasmo que soube transmitir-me, e pela ajuda que dele recebi a fim de superar as pedras no caminho e chegar onde estou.

À minha co-orientadora, Prof^ª Dr^ª Luciene Cristina de Figueiredo, pela dedicação e empenho; pessoa exigente e um pouco séria, que explorou ao nível mais alto meus potenciais.

AGRADECIMENTOS

Aos professores do mestrado acadêmico em Odontologia, a saber, Prof^a. Dra. Magda Feres, Profa. Dra. Luciene Cristina de Figueiredo, Prof. Dr. Jamil Awad Shibli, Profa. Dra. Poliana Mendes Duarte, Profa. Dra. Sheila C. Cortelli, Prof. Dra. Cristiane M. Amaral, Prof. Dr. Saulo Geraldelli, Prof. Dr. José Augusto Rodrigues, pelos ensinamentos transmitidos e pelos exemplos, dando uma importante colaboração em minha trajetória, rumo ao crescimento científico e profissional;

Aos meus colegas de curso Thales, Sérgio, Angélica, Adriano e Kátia com os quais dividi esta caminhada, e que puderam compartilhar, seus estimáveis conhecimentos;

Aos meus amigos Leandro de Melo, José Alexandre Andrade e Daniel Sanches Ferrari, pela presteza e disposição na realização de parte deste trabalho. A vocês o meu muito obrigado.

A Conexão Sistema de Prótese e Implantes pela cessão dos micro-implantes utilizados neste estudo.

Ao Prof. Adriano Piattelli, do Departamento de Medicina Oral e Patologia, da Universidade de Chieti-Pescara, Chieti, Itália, pela ótima recepção em seu departamento, assim como pela presteza com que realizou todo o processamento histológico. Pessoa carismática, de fácil convívio e excepcional conhecimento científico.

Ao Prof. Dr. Carlos Nelson Elias do Instituto Militar de Engenharia (IME) do Rio de Janeiro, RJ, pela presteza com que realizou toda a caracterização das superfícies.

A Universidade Guarulhos pela preocupação em oferecer aos professores e alunos deste curso condições dignas para realizar este trabalho e dar um importante passo rumo ao crescimento científico e profissional;

Aos funcionários da clínica de pós-graduação e de uma maneira geral a todos que colaboram com os alunos da pós-graduação desta universidade.

Aos voluntários que participaram de forma importantíssima para a realização deste trabalho. A todos, o meu respeito e minha gratidão!

RESUMO

Alguns estudos têm demonstrado que implantes com superfície tratada apresentam uma melhor fixação ao tecido ósseo e um aumento do contato osso-implante (COI%) quando comparados a implantes com superfícies lisas. Complementarmente, tem sido sugerido que implantes com superfícies tratadas podem receber carga mastigatória em um período de reparo menor que os implantes de superfície lisa. Logo, o objetivo deste estudo foi o de avaliar a influência da superfície de implantes osseointegráveis sobre o tecido ósseo humano após 2 meses. Quatorze indivíduos com média de idade de $46,87 \pm 9,45$ anos receberam 2 micro-implantes (2,5mm de diâmetro e 6mm de comprimento), sendo um teste (titânio comercialmente puro -Ticp- jateado com TiO_2 e tratado por ácido HNO_3 e HF) e um controle (Ticp - superfície lisa). Após período de cicatrização de dois meses, os micro-implantes, assim como o tecido peri-implantar adjacente, foram removidos utilizando-se uma broca trefina e as biópsias preparadas para análise histomorfométrica. A análise histométrica demonstrou uma média de COI de $21,71\% \pm 13,11\%$ e $41,84\% \pm 9,73\%$ para os micro-implantes com superfície lisa e jateada, respectivamente ($p=0,0001$). A densidade óssea compreendida na área entre as espiras do implante foi significativamente maior para os implantes com superfícies jateadas ($p=0,0014$). A densidade óssea ao redor dos micro-implantes não diferiu estatisticamente entre os grupos ($p=0,1914$). Os dados do presente estudo sugerem que a superfície jateada e tratada com ácidos resultou em uma melhor resposta do tecido ósseo humano quando comparada à superfície lisa após dois meses de cicatrização sem função mastigatória.

Palavras-Chave: Implantes osseointegráveis/osseointegração; topografia da superfície de implante/cicatrização; cicatrização do tecido ósseo humano/histologia em humanos; titânio/osseointegração.

ABSTRACT

Studies have demonstrated that roughness dental implant surfaces show firmer bone fixation and an increased percentage of bone-to-implant contact (BIC%) compared to commercially pure titanium surface (machined) implants. It has also been suggested that implants with roughness surfaces can be loaded earlier than machined implants. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the influence of implant surface topography on human bone tissue after 2 months of unloaded healing. 14 subjects with mean age of 46.87 ± 9.45 years received 2 micro-implants each (2.5mm in diameter and 6mm in length), one test (sandblasted acid-etched surface) and one control (machined surface), either in the mandible or in the maxilla. After a healing period of 2 months, the micro-implants and the surrounding tissues were removed with a trephine burr and prepared for histologic analysis. Histometric evaluation indicated that the mean of BIC% was $21.71\% \pm 13.11\%$ and $41.84\% \pm 9.73\%$ to machined and roughness micro-implant surfaces, respectively ($p=0.0001$). Bone area within the threads was also higher for sandblasted surface implants ($p=0.0014$). The mean percentage of bone density did not differ between the two groups ($p=0.1914$). Data from the present histological study suggest that the sandblasted acid-etched implant provides a better human bone tissue response than machined implants under unloaded conditions and after a healing period of 2 months.

Key-Words: Dental implants/osseointegration; implant surface topography/wound healing; human bone healing/human histology; titanium/osseointegration.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
1.1. Estudo histológico e remoção de torque em animais.....	2
1.2. Estudo histológico em humanos.....	5
2. PROPOSIÇÃO.....	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
3.1. Seleção de indivíduos.....	8
3.2. Critérios de inclusão dos indivíduos.....	8
3.3. Desenho experimental.....	9
3.4. Preparação das superfícies dos micro-implantes.....	9
3.5. Colocação dos implantes osseo-integrados convencionais e dos micro-implantes.....	9
3.6. Remoção dos micro-implantes e processamento histológico.....	10
3.7. Histologia e histometria.....	10
3.8. Análise estatística.....	12
4. RESULTADOS.....	13
4.1. Observações clínicas.....	13
4.2. Histomorfometria.....	13
5. DISCUSSÃO.....	22
6. CONCLUSÕES.. ..	25
REFERÊNCIAS.....	26
ANEXO.....	33

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Recentes estudos clínicos (Brunski *et al.*, 2000; Hallgren *et al.*, 2001; Lekholm, 2003; Rocci *et al.*, 2003) e histológicos (Ivanoff *et al.*, 2001; Trisi *et al.*, 2003; Ivanoff *et al.*, 2003) têm proposto que implantes osseointegrados que apresentam superfícies tratadas ou texturizadas, podem receber carga mastigatória em um período menor ao preconizado anteriormente por Adell *et al.* (1981) e Albrektsson *et al.* (1981). Esses estudos clínicos e laboratoriais avaliaram o percentual de osseointegração, isto é, a relação entre o contato do tecido ósseo e a superfície do implante, buscando otimizar a microestrutura dos implantes.

O percentual de osseointegração depende, além do tipo de microestrutura, da técnica cirúrgica, condições sistêmicas do indivíduo, disponibilidade e qualidade do tecido ósseo (Jaffin *et al.*, 1991). A disponibilidade óssea é reduzida após a perda do elemento dental e reabsorção do tecido ósseo alveolar, principalmente em região posterior de maxila (Adell *et al.*, 1990; Friberg *et al.*, 1991; Böeck-Neto *et al.*, 2002). A taxa de contato osso/implante tem sido reportada entre 25 e 65% para superfície de titânio comercialmente puro (Ticp) e de 45 a 70% para as superfícies de titânio tratadas, tanto para estudos em animais (Buser *et al.*, 1991; Wennerberg *et al.*, 1995; Piattelli *et al.*, 1998; Buser *et al.*, 1999; Hallgren *et al.*, 2001; Gotfredsen *et al.*, 2001), quanto em humanos (Ivanoff *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2003; Ivanoff *et al.*, 2003; Kohal *et al.*, 2003; Degidi *et al.*, 2003; Proussaefs *et al.*, 2004). Tais investigações mostraram ainda que implantes dentais osseointegráveis de superfícies lisas, colocados em osso tipo IV (região posterior da maxila e áreas enxertadas) apresentam altos índices de perda comparados a outras áreas de melhor densidade óssea (Jaffin *et al.*, 1991; Quirynen *et al.*, 1991). Conseqüentemente, a modificação ou texturização da superfície de implante pode facilitar a cicatrização, como o aumento da porcentagem do COI% em áreas de tecido ósseo pobre (Quirynen *et al.*, 1991; Jaffin *et al.*, 1991; Friberg *et al.*, 1991). A partir desses dados, vários estudos têm investigado diferentes superfícies de implante, obtidas por meio de técnicas de adição (recobertas com plasma de titânio, hidroxiapatita) ou subtração (jateamento com diferentes tipos de materiais como óxido de titânio ou alumínio, tratadas com ácidos, e preparadas com laser) (Wong *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 2003). As qualidades biológicas do implante dental dependem das propriedades químicas, físicas, mecânicas e topográficas da superfície - essas

diferentes propriedades interagem entre si, influenciando a atividade celular ao redor da superfície de implante (Matsuo *et al.*, 1999).

A superfície jateada e tratada por meio de ácidos é obtida jateando-se o implante de titânio comercialmente puro (Ticp), com um jato de ar e material abrasivo (óxido de alumínio ou óxido de titânio), durante um período de tempo determinado, sob pressão controlada. Esta superfície modificada é obtida após imersão em um banho ácido sob diferentes temperaturas e períodos de tempos, com a finalidade de remover resíduos e alguns contaminantes da superfície previamente jateada. As propriedades da nova superfície influenciam as células ósseas que migram e proliferam da loja cirúrgica do implante durante a inserção, resultando melhores taxas de contato osso-implante, devido ao aumento da área de contato da superfície do mesmo (Wennerberg *et al.*, 1995; Wong *et al.*, 1995; Matsuo *et al.*, 1999; Cochran *et al.*, 1998; Placko *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2003). Complementarmente, essa rugosidade de superfície fornece uma configuração que melhora a retenção do coágulo sangüíneo, estimula e facilita o processo de osseointegração e conseqüentemente permite que estes implantes possam ser submetidos à carga protética após um tempo de reparo menor (Lazarra *et al.* 1998; Lazarra *et al.*, 1999; Trisi *et al.*, 2003).

A utilização de modelos animais para testar a influência desses tipos de superfícies apresenta algumas limitações inerentes a cada modelo experimental, tais como: tipo de oclusão, tempo de cicatrização e reparo celular do tecido ósseo, diferenças nas absorções tanto dos componentes celulares e das proteínas, além de, muitas vezes, evidenciar apenas o resultado do evento biológico sem, no entanto, ser reproduzível em seres humanos (Lundgren *et al.*, 1999; Ivanoff *et al.*, 2001; Shibli, 2003; Ivanoff *et al.*, 2003). Por esse motivo, alguns autores têm proposto a avaliação do porcentual de osseointegração em maxilares humanos utilizando implantes osseointegráveis com as mesmas superfícies disponibilizadas comercialmente, mas com dimensões reduzidas (Lundgren *et al.*, 1999; Ivanoff *et al.*, 2001; Proussaefs *et al.* 2002; Ivanoff *et al.*, 2003; Trisi *et al.*, 2003; Rocci *et al.*, 2003; Kohal *et al.*, 2003).

1.1. Estudos histológicos e remoção por torque em animais

Vários foram os investigadores que avaliaram a influência da superfície do implante sobre o tecido ósseo peri-implantar. Buser *et al.* (1991) avaliaram a

influência de diferentes superfícies de implante sobre o processo de cicatrização em cobaias. Seis diferentes superfícies (eletropolida; jateada com partículas de titânio de media granulação 0,12-0,25 μm e posterior ataque ácido; jateada com partículas de titânio de maior granulação 0,25-0,50 μm ; jateada com partículas de titânio de maior granulação 0,25-0,50 μm e posterior ataque ácido; superfícies jateadas por plasma *spray* de titânio, e recobertas por hidroxiapatita – HA) foram avaliadas após 3 e 6 semanas. O exame histológico revelou um contato osso-implante em todas as superfícies. Os resultados histométricos indicaram que as superfícies (COI) jateadas com partículas de titânio de maior granulação 0,25-0,50 μm e posterior ataque ácido, assim como as recobertas por hidroxiapatita, apresentaram mais de 60% de contato osso-implante, em relação ao 25% COI das eletropolida e jateadas com partículas de titânio de média granulação, embora as superfícies recobertas com HA apresentaram sinais de reabsorção da superfície.

Nesta mesma linha de raciocínio, Wennerberg *et al.* (1995) estudaram a resposta óssea em relação a diferentes superfícies de implante após 12 semanas de cicatrização. Sessenta implantes de três diferentes superfícies (Ticp, jateado com TiO_2 e jateados com Al_2O_3) foram inseridos em tíbias de coelhos. O exame histomorfométrico revelou uma maior % COI dos implantes jateados com TiO_2 quando comparados com a superfície lisa. Na avaliação de remoção torque, observou-se um maior torque para remover os implantes com tratamento de superfície, sugerindo que implantes de superfície tratada apresentam um perfil de osseointegração melhor quando comparado aos implantes de superfície lisa.

Avaliando o efeito de diferentes superfícies de implantes em um curto período de tempo (de uma até seis semanas) sobre o tecido ósseo de coelhos, Larsson *et al.* (1996) utilizaram implantes de superfície lisa e eletropolida, com diferentes espessuras de camadas de óxido de titânio. As superfícies eletropolidas demonstraram os menores percentuais de osseointegração, sugerindo que a presença de rugosidade, mesmo que reduzida, no caso das superfícies lisas, favorecem o processo de osseointegração.

Em outro estudo, utilizando cachorros, Pebe *et al.* (1997), valendo-se do teste de torque para remoção de implante osseointegrado e análise histológica, observaram que a superfície tratada com ácidos mostrou um desempenho estatisticamente maior tanto no torque de remoção, como no contato ósseo.

Avaliando o processo de osseointegração entre implantes lisos e jateados com partículas de AL_2O_3 , com 150 μm de diâmetro, em coelhos, Piattelli *et al.* (1998) observaram, a partir da terceira semana, um significativo aumento no contato osso-implante na superfície dos implantes jateados, provavelmente devido a sua maior osteocondução em relação à superfície lisa.

Em um outro estudo de Buser *et al.* (1998), utilizando desenho experimental similar ao utilizado anteriormente (Buser *et al.*, 1991), avaliaram a resistência da interface à remoção ao torque (RTV), entre implantes com superfícies de titânio liso (controle) e superfícies jateadas e tratadas por ácidos, inseridos em maxila de cobaias. Os valores de RTV, após 4 semanas, indicaram uma diferença estatística entre as superfícies, apresentando valores entre 0,13-0,26 Nm e 1,14-1,56 Nm para superfície lisa e rugosa, respectivamente. Entretanto, não foi observada diferença significativa entre as superfícies tratadas. Os autores concluíram que a texturização da superfície aumentou os valores de RTV, principalmente nos estágios iniciais de osseointegração.

Já Hallgren *et al.* (2001) estudaram a influência de diferentes texturas de superfícies na osseointegração de coelhos. Utilizando análise de frequência de ressonância, remoção ao torque e histomorfometria, os autores observaram que superfícies modificadas por meio da técnica de fotolitografia e superfícies lisas, não apresentaram diferenças estatísticas; concluindo que a simples presença de rugosidade não implica, necessariamente, em aumento de osseointegração, torque ou estabilidade inicial.

Gotfredsen *et al.* (2001) estudaram o comportamento ósseo de implantes com superfície de plasma *spray* de titânio (TPS) e implante de superfícies lisas, submetidas à carga lateral estática por força de expansão em modelo canino. Após 24 meses, os resultados histológicos e histométricos mostraram um nível ósseo marginal maior, assim como uma maior densidade óssea na interface osso-implante ao redor de implantes TPS.

Visando avaliar a integração e estabilidade de implantes jateados com elementos retentivos no pescoço do implante e implantes lisos sem elementos retentivos, Rasmusson *et al.* (2001) criaram defeitos ósseos agudos em cachorros e observaram o processo de osseointegração. Os autores observaram um alto grau de contato osso-implante e um alto nível ósseo ao redor de defeitos peri-implantares adjacentes a implantes jateados.

Zechner *et al.* (2003) avaliaram, histomorfometricamente, em cobaias, o processo de osseointegração em três diferentes superfícies de implantes. Após diferentes períodos de cicatrização, os resultados mostraram uma maior formação óssea em relação aos implantes com superfície anodizada (42,72 %) e com HA (39,05%), quando comparada à superfície lisa (19,39%). Reabsorção localizada foi encontrada na superfície de implante com HA, ratificando os achados de Buser *et al.* (1991) e Shibli *et al.* (2003).

Avaliando a influência da superfície de implantes em áreas de osso tipo IV, Huang *et al.* (2005) utilizaram implantes de superfície anodizada em macacos. Os implantes anodizados, assim como os implantes de superfície lisa (controle), foram inseridos na região posterior da maxila, marcadores ósseos foram injetados nesses períodos de 2, 4, 8 e 16 semanas e os animais foram sacrificados após a décima-sexta semana. O resultado do estudo indicou que uma fina camada de osso neoformado estava depositada ao redor das espiras. Esta característica de deposição do tecido ósseo sugere que o implante de superfície anodizada apresenta características osteocondutoras.

Schopper *et al.* (2005) estudaram a hipótese de que a hidroxiapatita (HA), tri-cálcio fosfato (TCP) e a HA-gel, revestindo implantes de titânio, fossem técnicas previsíveis de osseointegração sem reabsorção futura. Após três e seis meses os carneiros foram sacrificados e os exames de microscopia demonstraram que todos os implantes estavam osseointegrados sem sinais de reabsorção, mas com sinais de ruptura entre o material de revestimento e o implante. Os valores de contato osso-implante foram altos, especialmente para a superfície de HA-gel e HA.

1.2. Estudos em humanos

Embora escassos, alguns estudos investigaram o processo de osseointegração nos maxilares humanos. Em dois estudos diferentes, Ivanoff *et al.* (2001, 2003) investigaram o efeito de diferentes superfícies nos maxilares humanos. Ivanoff *et al.* (2001) avaliaram histologicamente a osseointegração, utilizando micro-implantes com superfície jateada com óxido de titânio TiO_2 e superfície lisa. Vinte e sete pacientes receberam dois micro-implantes cada, um teste (TiO_2) e controle (liso). Os micro-implantes foram retirados após um período de cicatrização média de 6,3 meses para a maxila e 3,9 para a mandíbula. A avaliação histomorfométrica

apresentou um contato osso-implante significativamente maior para os implantes jateados, tanto na mandíbula quanto na maxila.

Valendo-se da mesma metodologia, Ivanoff *et al.* (2003) avaliaram histologicamente a resposta óssea frente ao micro-implante com superfície oxidada e lisa em humanos. Após 6,6 meses na maxila e 3,5 na mandíbula, os micro-implantes foram retirados com uma trefina e avaliados histomorfometricamente. A superfície oxidada apresentou um maior percentual de osseointegração e preenchimento ósseo entre espiras do implante.

Em um estudo clínico, Jungner *et al.* (2005) avaliaram dois implantes com o mesmo desenho (macro-estrutura), mas com diferentes superfícies e relacionaram estes dados aos índices de insucessos obtidos. Um total de 136 pacientes receberam 394 implantes, sendo 199 implantes de superfície anodizada e 195 implantes de superfície lisa. Sete implantes de superfície lisa (6 na maxila) foram perdidos, resultando em índices de sucesso de 100% para a superfície anodizada e 96,4% para a superfície lisa.

Finalmente, Trisi *et al.*, em 2003, avaliaram a influência de diferentes superfícies preparadas no mesmo micro-implante, inseridos em osso de baixa densidade. Cada micro-implante foi inserido na região posterior da maxila de 11 pacientes parcialmente desdentados e removidos após um período de 60 dias. Utilizando luz polarizada e microscopia óptica convencional, os autores observaram um percentual de contato osso-implante de $19,00\% \pm 14,68\%$ e $47,81\% \pm 14,01\%$ para a superfície lisa e jateada/tratada por ácidos, respectivamente. Complementarmente, utilizando a técnica de superposição de imagens, os autores ainda observaram que a superfície lisa apresentou uma diminuição de contato osso-implante de 44,70%.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar, histomorfometricamente, o percentual de contato osso-implante, a densidade óssea restrita à área das espiras e a densidade a uma distância de 500 μm do implante, utilizando implantes de superfícies lisa e tratada com ácido em indivíduos parcialmente desdentados após 60 dias de reparo tecidual.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Seleção dos indivíduos

Um total de 14 indivíduos (8 mulheres e 6 homens) parcialmente edêntulos (média etária de $46,87 \pm 9,45$ anos), provenientes da Clínica de Implantodontia da Universidade Guarulhos que apresentavam necessidade de reabilitação bucal da região posterior, tanto da mandíbula quanto da maxila, foram incluídos no presente estudo.

3.2. Critérios de inclusão dos indivíduos

Para a participação neste estudo, os indivíduos deveriam preencher os seguintes requisitos clínicos, a saber:

1. Apresentar pelo menos uma área edêntula posterior (maxila ou mandíbula) com disponibilidade óssea para inserção dos implantes ósseo-integráveis;
2. Não apresentar doença periodontal no momento da cirurgia de inserção dos implantes;
3. Não ser fumante;
4. Não apresentar nenhum tipo de doença sistêmica que pudesse influenciar no processo de osseointegração;
5. Não apresentar histórico de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, hepatite, febre reumática, asma, diabetes, desordens imunes ou sangüíneas ou outras doenças que contra-indicassem a realização da cirurgia.

Os indivíduos incluídos na amostra populacional foram informados dos procedimentos cirúrgicos e da remoção das biópsias, às quais seriam submetidos, e assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Guarulhos (Protocolo 205/03).

3.3. Desenho experimental

Vinte e oito micro-implantes produzidos com titânio comercialmente puro - 2,5mm de diâmetro e 6mm de comprimento (Conexão Sistema Prótese e Implante, São Paulo, SP, Brasil), foram utilizados neste estudo. Quatorze micro-implantes lisos foram utilizados como controle e 14 micro-implantes jateados e tratados com ácido foram utilizados como grupo teste (Fig. 1). Cada indivíduo recebeu dois micro-implantes, sendo um controle e um teste, que foram inseridos ambos na região posterior da mandíbula ou da maxila, sempre à distal do implante convencional usado para a reabilitação protética.

3.4. Preparação das superfícies dos micro-implantes

No presente estudo foram utilizados implantes de titânio grau 4 com 2,5 mm de diâmetro e 6 mm de comprimento, preparados para as seguintes topografias: 1) lisa (apenas titânio grau 4 torneado sem nenhum tratamento prévio) e 2) jateada e posteriormente tratada por ácidos. Os micro-implantes com superfície tratada foram jateados com partículas de óxido de titânio (TiO_2), variando entre 25-100 μm . Os mesmos foram submersos em uma combinação de ácido nítrico (HNO_3) e fluorídrico (HF), ultra-sonicados em solução alcalina e lavados abundantemente em água destilada (Figura 1).

3.5. Colocação dos implantes osseointegráveis convencionais e dos micro-implantes

Após planejamento cirúrgico-protético, realizado para cada indivíduo em particular, selecionou-se o tamanho do implante convencional a ser colocado, conforme a disponibilidade óssea e localização do implante no arco dental. Foram realizados os procedimentos cirúrgicos inerentes à técnica de inserção de implantes osseointegrados: anti-sepsia, anestesia local, incisão e divulsão do retalho mucoperiosteal, confecção da loja cirúrgica e inserção do implante osseointegrado, o qual suportará a prótese implanto-suportada.

Após receberem a inserção dos implantes osseointegrados convencionais para reabilitação protética, os indivíduos receberam a inserção de 2 micro-implantes (ver item **3.3. Desenho experimental**) de diferentes superfícies/microestruturas. Os

micro-implantes foram inseridos sempre à distal do último implante osseointegrado convencional. Caso o indivíduo apresentasse uma área edêntula bilateral, um micro-implante foi inserido em cada lado; caso o indivíduo apresentasse apenas uma área edêntula, os micro-implantes foram inseridos lado-a-lado na porção mais distal ao último implante. As lojas cirúrgicas para inserção dos micro-implantes foram preparadas com brocas de 1,8 mm de diâmetro em áreas de osso tipo IV e brocas de 2,2 mm de diâmetro (\emptyset) para áreas com densidade óssea tipo I e II. Adicionalmente, caso não houvesse estabilidade primária durante a inserção dos micro-implantes por meio de chaves digitais sextavadas \emptyset 1,6 mm, uma segunda loja cirúrgica foi preparada.

Todos os procedimentos de preparo da loja cirúrgica e a colocação dos micro-implantes receberam abundante irrigação com soro estéril. Os retalhos foram suturados com pontos interrompidos e os micro-implantes submersos. Clindamicina (Dalacin C 300 mg, Farmácia Brasil LTDA, Jandira, SP, Brazil; 3 x dia/7 dias) e diclofenaco de potássio (Diclofenaco de potássio 50 mg, Monsanto do Brasil LTDA, São Paulo, SP, Brazil; 3 x dia/5dias) foram administrados para evitar e/ou minimizar infecção e reações inflamatórias pós-cirúrgicas. Adicionalmente, foi recomendado uso de um bochecho de solução de digluconato de clorexidina 0,12%, duas vezes ao dia, durante 14 dias, a fim de auxiliar no controle do biofilme dental. As suturas foram removidas após 10 dias.

3.6. Remoção dos micro-implantes e processamento histológico

Após o período de dois meses, durante a cirurgia de reabertura dos implantes osseointegrados convencionais (Lazarra *et al.*, 1998; Trisi *et al.*, 2003), os micro-implantes, assim como o tecido ósseo circunjacente, foram removidos por meio de trefina de 3,5 mm de diâmetro e colocados em formalina neutra a 4%.

3.7. Histologia e histometria

As biópsias foram processadas e foram obtidas secções finas do bloco osso-implante (Precise 1 Automated System[®], Assing, Rome, Italy), como descrito por Piattelli *et al.* (1997). As biópsias foram desidratadas por meio de lavagem em concentrações crescentes de álcool etanol (60-100%) e infiltradas em uma resina de

glicolmetacrilato (Technovit® 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Germany) em concentrações crescentes. Em seguida, o bloco foi incluído em glicerolmetacrilato 100%. Os blocos de resina contendo as biópsias foram então seccionadas ao longo do maior eixo do implante. Utilizando disco diamantado de alta precisão foi obtida uma secção espessa de 150 μm . Esta secção foi submetida a um sistema de micro-desgaste utilizando lixadeira de água, que resultou em uma secção de aproximadamente 30 μm de espessura.

Duas lâminas foram obtidas de cada implante. Cada secção foi corada com fucsina básica e azul de toluidina. Para a avaliação do reparo do tecido ósseo próximo ao implante, além da análise histológica, três parâmetros histométricos foram analisados (Fig. 3):

1. **Percentual de contato osso-implante (COI%)**: mensurado ao redor de todo o perímetro do implante: calculado pelo contato direto entre osso-implante, multiplicado por 100, dividido pelo perímetro total do implante;
2. **Densidade óssea dentro das espiras do implante (DO%)**: calculada pela área preenchida por tecido ósseo dentro da espira, multiplicada por 100 e dividido pela área total da área da espira do micro-implante.
3. **Densidade óssea (DA%)**: medida obtida a uma distância de 500 μm a partir das espiras do micro-implante, calculada pela área preenchida por tecido ósseo nesta região, multiplicada por 100 e dividida pela área total.

Um único examinador previamente treinado e que não tinha conhecimento das superfícies, realizou todas as mensurações em dois momentos distintos, utilizando um microscópio óptico (Laborlux S®, Leitz, Wetzlar, Germany) com objetiva para aumento de 4.0/10 vezes, por meio do qual as imagens foram selecionadas e enviadas ao microcomputador, por uma câmera de vídeo (3CCD®, JVC KY-F55B, Milan, Italy), acoplada ao microscópio óptico.

A determinação dos valores foi realizada empregando-se um *software* analisador de imagens (Image-Pro Plus® 4.5, Media Cybernetics Inc., Immagini & Computer Snc, Milan, Italy).

3.8. Análise estatística

As médias das mensurações e o desvio padrão dos valores das variáveis histométricas foram calculados para cada implante e posteriormente dentro de cada grupo (controle e teste). O teste Mann-Whitney foi utilizado para examinar diferenças entre os dois grupos de superfícies, assim como diferenças entre a localização do leito receptor (maxila e mandíbula). Significância estatística foi estabelecida ao nível de 5% ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS

4.1. Observações clínicas

Seis indivíduos receberam os implantes na região posterior da maxila e 8 indivíduos na região posterior de mandíbula. Todos os micro-implantes, com exceção de um do grupo controle inserido na maxila, estavam clinicamente estáveis no momento da remoção. O micro-implante que não osseointegrou foi incluído em todas as avaliações histométricas como 0% (zero), como sugerido previamente (Ivanoff *et al.*, 2003). Nenhum micro-implante apresentou reabsorção óssea marginal. Após obtenção das biópsias por meio de trefinas, os micro-implantes do grupo teste (superfície jateada e tratada por ácido) apresentavam uma maior quantidade de tecido ósseo (Figura 2).

4.2. Observações histológicas e histométricas

O tecido ósseo peri-implantar que circundava os micro-implantes mostrava sinais histológicos de normalidade para ambos os grupos (Figuras 4A e 4B). O tecido ósseo antigo era, na maioria das vezes, lamelar e compacto, apresentava numerosos osteócitos em suas lacunas com áreas entrelaçadas de tecido ósseo mineralizado (Figura 4C). Já o tecido ósseo neoformado, presente na interface osso-implante, apresentava vários estágios de maturação e remodelação, sendo esta característica acentuada nos micro-implantes do grupo teste (Figura 5A).

Em alguns casos, osteoblastos estavam conectados ao tecido ósseo neoformado, sugerindo uma formação óssea progressiva (Figura 5B). Entre as espiras dos micro-implantes foram encontrados uma menor aposição de tecido ósseo neoformado, embora este tecido apresentasse sinais de imaturidade. Alguns micro-implantes do grupo controle apresentavam uma descontinuidade entre as finas trabéculas ósseas localizadas junto ao leito receptor e a superfície do implante. Já no grupo teste, uma fina camada de tecido ósseo trabecular estava interposta entre o osso antigo e a superfície do implante. A área ao redor da superfície lisa apresentava uma fina camada de tecido conjuntivo denso entre a interface osso-implante (Figura 5C).

Complementarmente, algumas secções apresentavam células inflamatórias (linfócitos, macrófagos e células gigantes) junto ao tecido mole peri-implantar bem próximas à superfície do implante, embora este evento estivesse presente apenas nos implantes jateados e tratados com ácido.

Os micro-implantes do grupo teste apresentaram altas médias de COI% e DO% (41,84% e 57,14%) em comparação com o grupo controle (21,71% e 28,98%) (Figura 6). A média DA%, embora maior para os implantes do grupo teste, não diferiu estatisticamente entre os micro-implantes do grupo teste (24,92%) e controle (16,88%). As figuras 7 e 8 apresentam os resultados histométricos segundo a localização do micro-implante no arco (maxila ou mandíbula). A superfície jateada e tratada com ácidos apresentou médias elevadas para COI% e DO%, independente do arco analisado. A média DA% não diferiu significativamente entre os dois grupos.

Quando os micro-implantes foram avaliados segundo a posição, na maxila ou mandíbula, dentro do mesmo grupo, os dados mostraram que ambos os grupos apresentaram altas médias de COI% na mandíbula (Figura 9). Nenhum dos implantes mostrou diferenças significativas na média de DO% entre a maxila e a mandíbula. A DA% da superfície usinada apresentou valores elevados na mandíbula ($p=0,015$), enquanto a superfície jateada não apresentou diferenças significativas entre a maxila e a mandíbula ($p=0,150$).

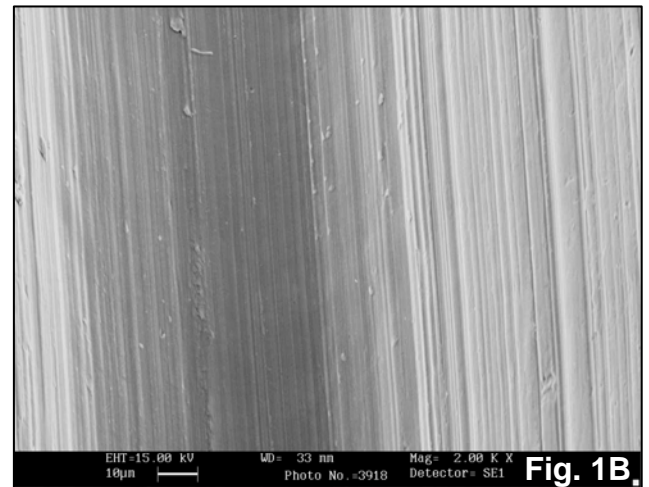
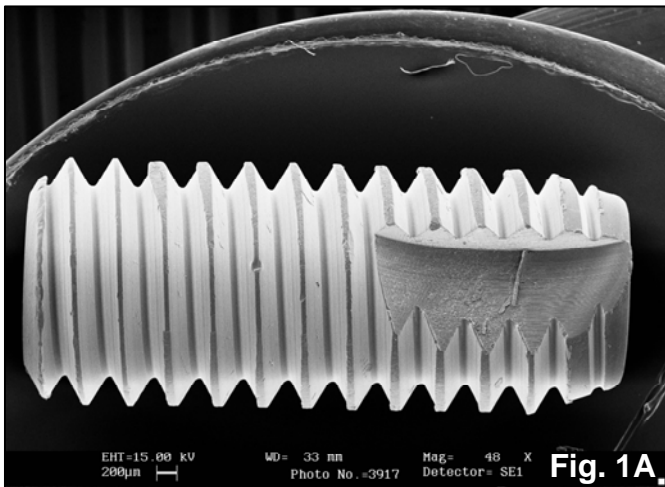


Figura 1: a) Fotomicrografia obtida a partir de microscópio eletrônico de varredura (MEV) de micro-implante do grupo controle (aumento de 48x); b) MEV da superfície do grupo controle - superfície lisa (aumento de 2.000x); c) MEV da superfície do grupo teste - superfície jateada e tratada com ácidos (aumento de 2.000x).

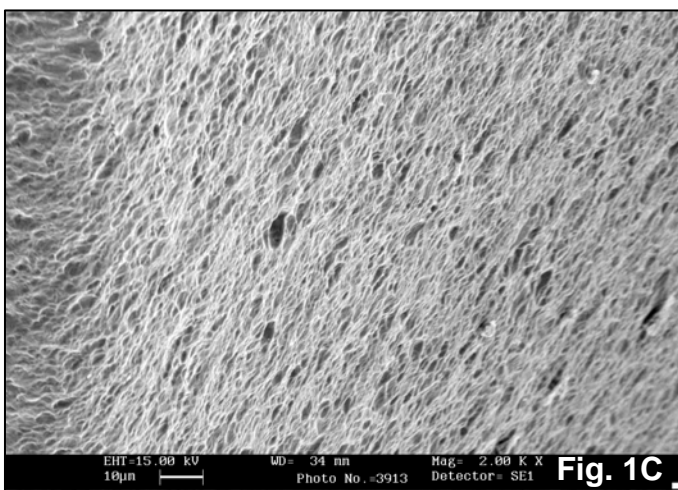


Figura 2: Aspecto clínico dos micro-implantes removidos da região de maxila posterior após 60 dias de osseointegração. Observa-se a diferença entre a quantidade de tecido ósseo presente sobre a superfície do micro-implante do grupo controle (esquerda) e a superfície do grupo teste (direita).

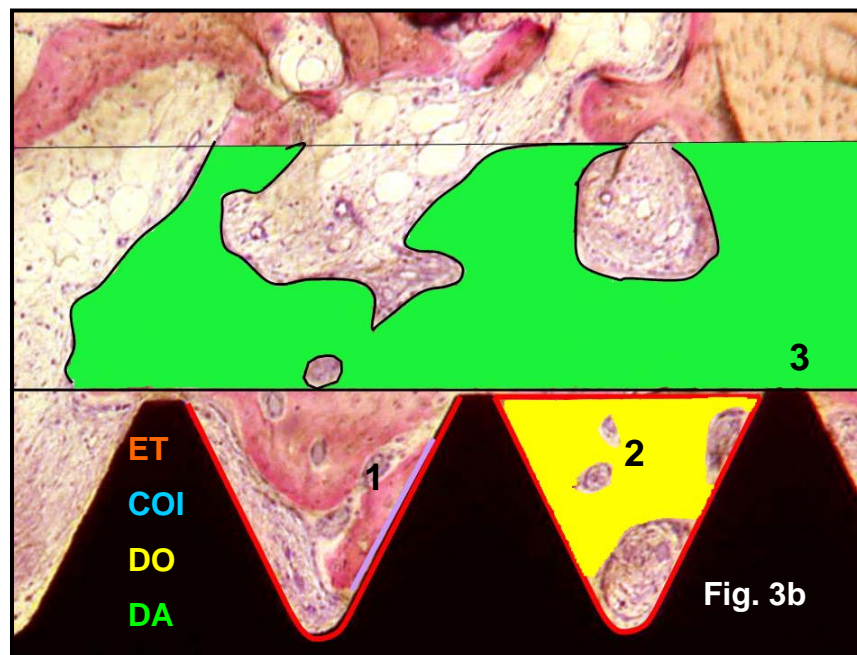
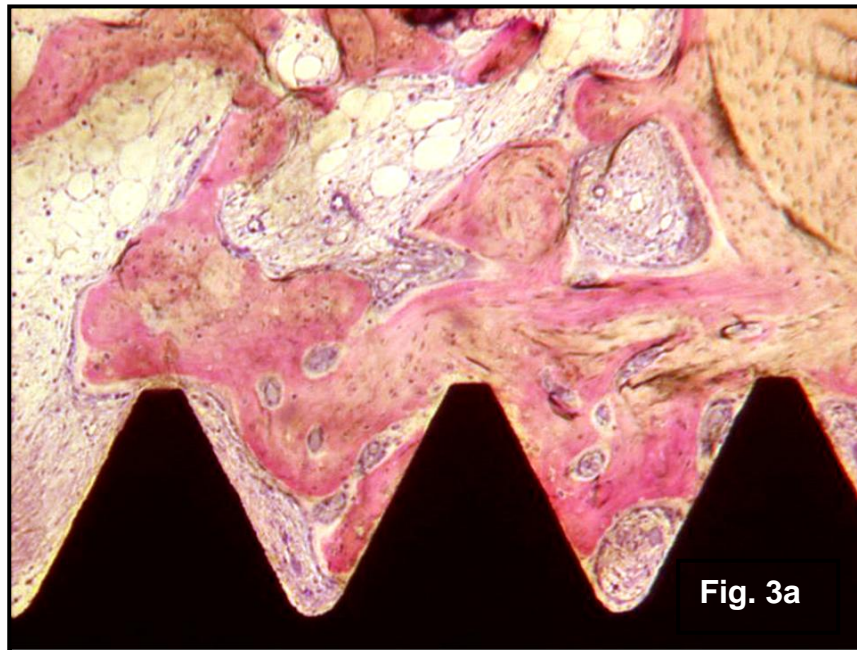


Figura 3: Representação esquemática das variáveis histométricas. **a)** Aspecto histológico das regiões a serem mensuradas. **b)** análise histométrica de 1- contato osso implante (COI) – determinado pela proporção entre a extensão total da espira (ET) e COI; 2- densidade óssea dentro das espiras do implante (DO); e 3- densidade óssea (DA) determinada a uma distância de 500 μ m a partir das espiras do micro-implante.

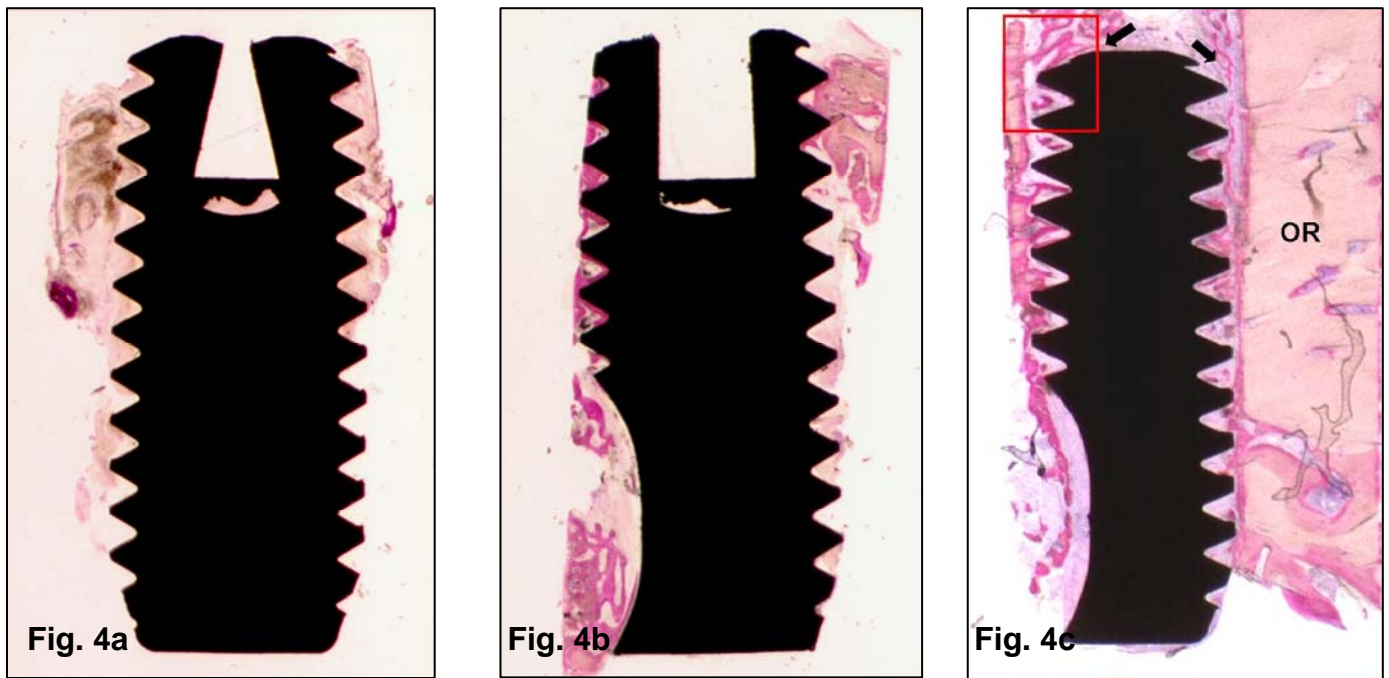


Figura 4: a) Aspecto do tecido ósseo peri-implantar removido da região posterior de maxila ao redor da superfície do grupo controle; b) aspecto histológico de um micro-implante do grupo teste removido do mesmo paciente na mesma região do implante anterior; c) neoformação óssea (setas) adjacente ao tecido óssea remanescente (OR) (magnificação de 16x)

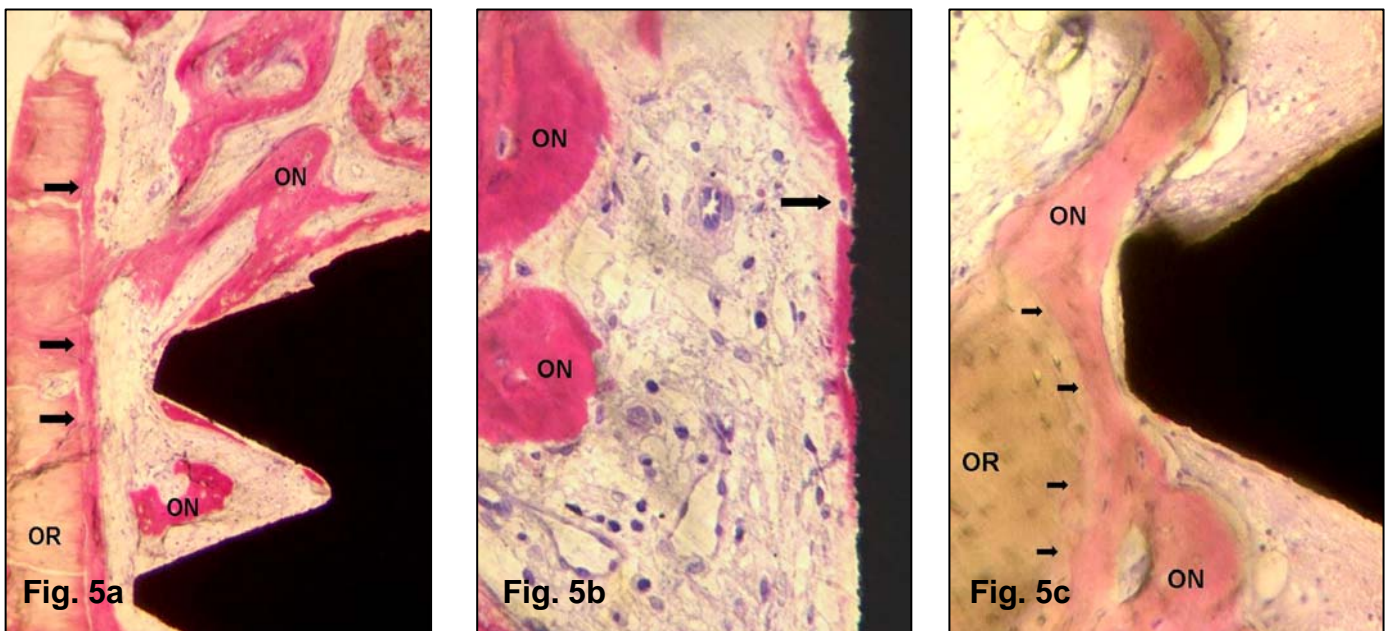


Figura 5: a) Detalhe da região da Fig. 4C. Presença de tecido ósseo neoformado (ON) interligado por ponte óssea (seta) junto ao osso pré-existente (OR) (magnificação de 100x); b) detalhe do contato de osteoblasto em íntimo contato com a superfície do implante teste (magnificação de 200x); c) neoformação óssea (NB) e formação óssea pré-existente (OR) interposta à superfície de implante liso por tecido conjuntivo (magnificação de 100x)

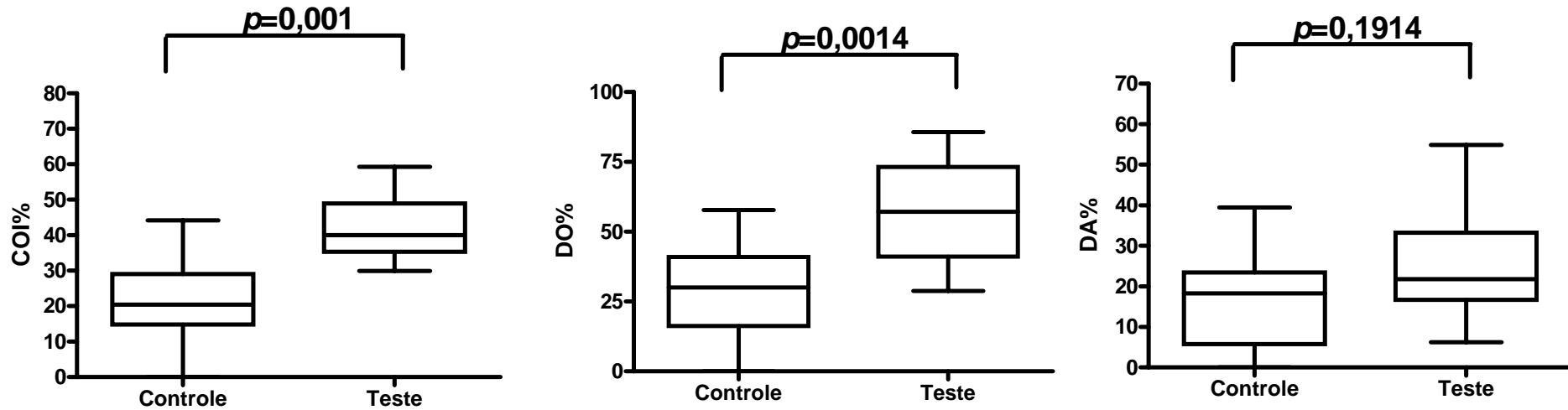


Figura 6: Box-plots das percentagens de contato osso-implante (COI%), densidade óssea restrita à área das espiras do implante (DO%) e densidade óssea a uma distância de 500 μm das espiras do implante (DA%) para os micro-implantes do grupo controle (superfície lisa) e grupo teste (superfície jateada e tratada por ácidos) inseridos na maxila e na mandíbula ($n=14$ indivíduos). Teste U Mann-Whitney ($p<0,05$).

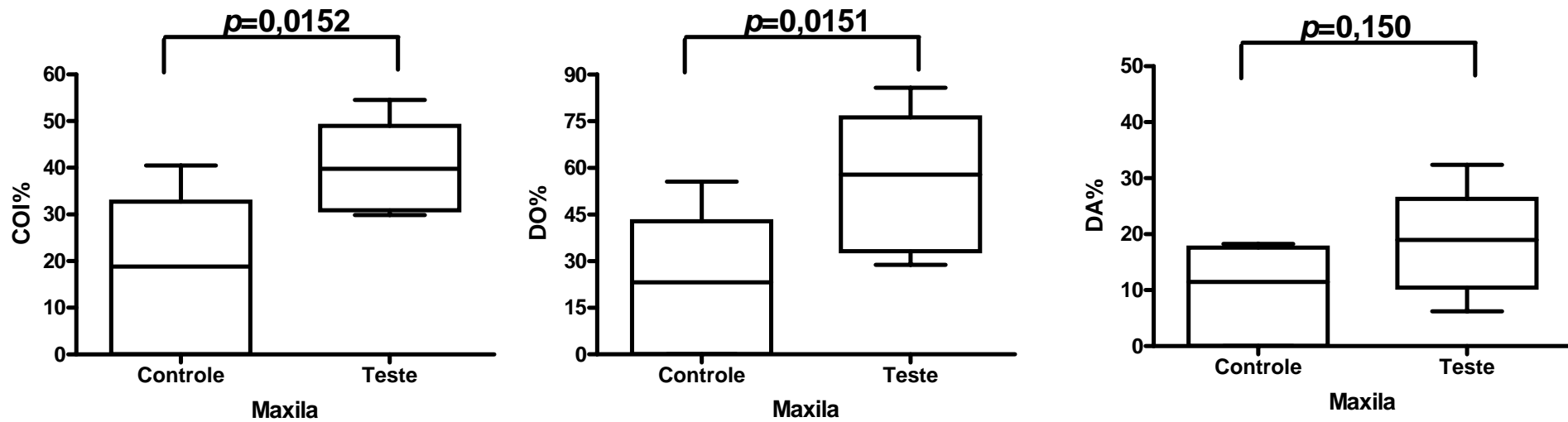


Figura 7: Box-plots das percentagens de contacto osso-implante (COI%), densidade óssea restrita à área das espiras do implante (DO%) e densidade óssea a uma distância de 500µm das espiras do implante (DA%) para os micro-implantes do grupo controle (superfície lisa) e grupo teste (superfície jateada e tratada por ácidos) inseridos na maxila ($n=6$ indivíduos). Teste U Mann-Whitney ($p<0,05$).

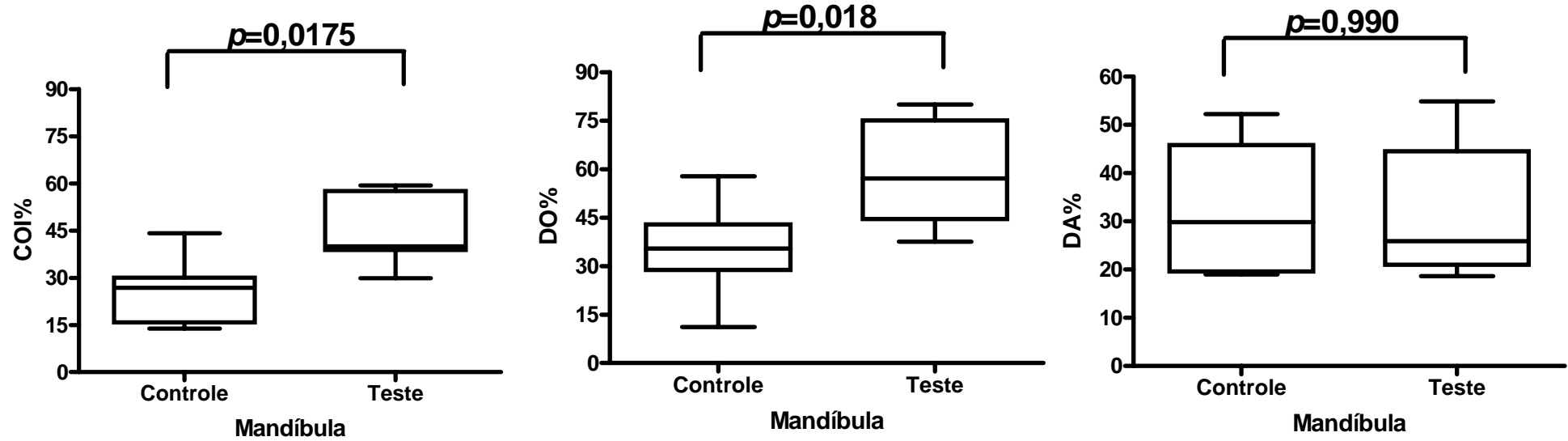


Figura 8: Box-plots das percentagens de contato osso-implante (COI%), densidade óssea restrita à área das espiras do implante (DO%) e densidade óssea a uma distância de 500 μm das espiras do implante (DA%) para os micro-implantes do grupo controle (superfície lisa) e grupo teste (superfície jateada e tratada por ácidos) inseridos na mandíbula ($n=8$ indivíduos). Teste U Mann-Whitney ($p<0,05$).

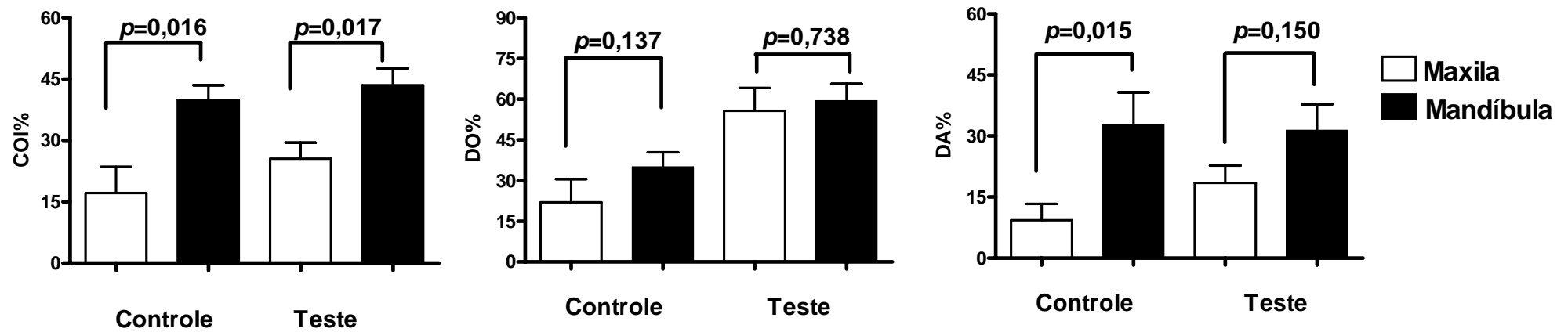


Figura 8: Comparação entre as médias ($\pm dp$) dos micro-implantes do mesmo grupo (controle e teste) das percentagens de contato osso-implante (COI%), densidade óssea restrita à área das espiras do implante (DO%) e densidade óssea a uma distância de 500 μm das espiras do implante (DA%) inseridos na maxila ou na mandíbula ($n=14$ indivíduos). Teste U Mann-Whitney ($p<0,05$).

5. DISCUSSÃO

Neste estudo, a superfície dos micro-implantes do grupo teste apresentou um considerável percentual de contato osso-implante quando comparado ao implante de superfície lisa. A topografia produzida sobre a superfície do TiCp pelo jateamento de TiO₂ e posterior tratamento por uma mistura de ácidos HNO₃ e HF apresentou uma geometria que pode ter funcionado como uma restrição para o componente celular do citoesqueleto de células osteoblásticas envolvidas na dispersão e locomoção celular (Den Brader *et al.*, 1995; Klokkevold *et al.*, 2001). Complementarmente, tal característica também poderia explicar o aumento e rapidez com que ocorre a integração do tecido ósseo neoformado na interface osso-implante, a um nível similar com o processo observado ao redor de superfícies com topografias mais complexas como as recobertas de plasma ou de hidroxiapatita (Buser *et al.*, 1999; Klokkevold *et al.*, 2001; Trisi *et al.*, 2005).

Todos os micro-implantes que estavam clinicamente estáveis, independentemente do tipo de superfície, apresentaram algum grau de neoformação óssea na interface osso-implante. Entretanto, uma fina camada de tecido ósseo neoformado cobria uma porção relativamente extensa das espiras dos micro-implantes do grupo teste. Este dado sugere que os osteoblastos foram “estimulados” pela topografia da superfície, facilitando o contato osso-implante por meio de uma osteogênese de contato ou osteogênese direta (Davies, 1998).

Na superfície dos micro-implantes do grupo teste foi possível observar a presença de osteoblastos em contato direto com a superfície do implante. Os dados do presente estudo sugerem ainda que a topografia da superfície foi de suma importância para a resposta do tecido ósseo, pelo menos em condições nas quais os implantes não foram submetidos à carga oclusal (Buser *et al.*, 1991; Buser *et al.*, 1999; Ivanoff *et al.*, 2001; Ivanoff *et al.*, 2003; Abrahamsson *et al.*, 2004). Alguns investigadores mostraram também que a proliferação e diferenciação de células osteoblásticas são aumentadas por meio da rugosidade da superfície do implante (Martin *et al.*, 1995; Schwartz *et al.*, 1999).

O processo de cicatrização se inicia logo após a inserção dos implantes, com a formação do coágulo sangüíneo sobre a superfície do implante, originando uma fina camada de fibrina (D’Hoedt 1985; Meyer *et al.*, 1988; Wen *et al.*, 1996; Davies, 1998; Zechner *et al.*, 2003). Neste estudo, os implantes do grupo teste mostram um alto índice de densidade óssea compreendida entre as espiras. Tal

fenômeno pode ser explicado por uma maior retenção da rede de fibrinas e conseqüentemente uma maior quantidade de células mesenquimais indiferenciadas para posterior ativação em osteoblastos. Cumpre salientar ainda que o estilo filométrico da superfície jateada e tratada por ácidos pode também fornecer uma melhor condição para estabilização do coágulo, facilitando a cicatrização óssea sobre a superfície do implante (Pearsson *et al.*, 2001; Shibli *et al.*, 2003)

Outro dado importante foi o aumento da densidade óssea em uma área distante, 500 μm , da superfície dos implantes do grupo teste. Os valores médios, entre a maxila e a mandíbula, não diferiram significativamente entre os implantes do grupo teste nem do controle, sugerindo que este tipo de topografia de implante poderia melhorar a densidade óssea ao redor de implantes inseridos em áreas com osso tipo IV ou trabecular (fig. 9). Este fato se explica, em parte, devido a uma série coordenada de eventos biológicos, incluindo absorção de proteínas, proliferação celular, deposição de tecido ósseo, que provavelmente foi influenciada pelas propriedades das diferentes superfícies.

Estudos recentes têm mostrado que a topografia da superfície do implante pode afetar não somente a expressão gênica do osteoblasto, mas também a diferenciação das células em osteoblastos (Zechner *et al.*, 2003; Schneirder *et al.*, 2004). Estes autores sugerem ainda que a interação das células com os componentes da matriz extracelular e a organização do citoesqueleto associada à topografia do implante podem influenciar a expressão genética da célula, e conseqüentemente, aumentar a formação de uma matriz óssea em íntimo contacto com a superfície do implante.

Os dados obtidos para o grupo controle ratificam achados prévios (Jaffin & Berman, 1991; Friberg *et al.*, 1991; Quirynen *et al.*, 1991; Jemt, 1993; Jemt *et al.*, 1996), que afirmam que esta superfície não provê uma forte ancoragem junto ao tecido ósseo, sobretudo em sítios com osso de baixa densidade, como os localizados em região posterior da maxila e áreas enxertadas. Essas observações explicam o alto índice de perdas relatado em varias investigações (.Jaffin & Berman, 1991; Friberg *et al.*, 1991; Quirynen *et al.*, 1991). Portanto, a topografia superficial pode ser considerada um dos mais importantes fatores que poderia influenciar a longa duração ou a sobrevivência do implante em osso tipo IV.

Outros estudos têm demonstrado, ainda, que a ancoragem dos implantes lisos é tempo-dependente (Gotfredsen *et al.*, 1995; Wennerberg *et al.*, 1996), ou seja necessitam de um tempo de cicatrização mais prolongado. Contudo, alguns estudos

em humanos (Ivanoff *et al.*, 2001; Ivanoff *et al.*, 2003), utilizando metodologia semelhante à empregada em nosso estudo, têm avaliado o contato osso-implante de superfícies lisas inseridas em maxilares humanos mostrando, após um período de cicatrização de 5 a 6 meses, uma porcentagem do contato osso-implante ao redor de 9% e 13%. Estes valores foram menores quando comparados aos 19% de contato osso-implante apresentados por Trisi *et al.* (2003), que avaliaram micro-implantes inseridos na região posterior da maxila de humanos após 60 dias de cicatrização, sugerindo que a superfície lisa depende muito mais da densidade óssea do leito receptor do que da propriedade osteocondutora de sua superfície. Logo, a importância do resultado deste estudo com superfícies tratadas, vistas as médias de COI% e DO%, em comparação com as do grupo controle confirma mais uma vez a possibilidade de uma diminuição do tempo de reparo em determinadas situações, conforme pesquisas clínicas que após três anos de acompanhamentos têm demonstrado resultados favoráveis com um sucesso ao redor de 99% (Roccuzzo *et al.*, 2001; Bornstein *et al.*, 2003).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo histomorfométrico sugere que o implante de superfície jateada com TiO_2 e tratada com ácidos HNO_3 e HF resultou em uma melhor resposta do tecido ósseo humano em relação ao implante liso após dois meses de reparo tecidual, sem o envolvimento de função mastigatória.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. The Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15: 381-92.
- Abron A, Hopfensperger M, Thompson J, Cooper LF. Evaluation of a predictive model for implant surface topography effects on early osseointegration in the rat tibia model. *J Prosthetic Dent.* 2001; 85: 40-6.
- Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. A long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of the totally edentulous jaw. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1990; 5: 347-59.
- Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand.* 1981; 52:155-70.
- Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaws. *Int J Oral Surg.* 1981; 10: 387-416
- Böeck-Neto RJ, Gabrielli MFR, Lia RCC, Marcantonio E, Shibli JA, Marcantonio Jr. E. Histomorphometrical analysis of bone formed after maxillary sinus floor augmentation by grafting with a combination of autogenous bone and DFDBA or hydroxylapatite. *J Periodontol.* 2002; 73: 266-79.
- Bolind PK, Johansson CB, Becker W, Langer L, Sevetz Jr. EB, Albrektsson TO. A descriptive study on retrieved non-threaded and threaded implant designs. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16: 447-55
- Bornstein MM, Lussi A, Schmid B, Belser UC, Buser D. Early loading of titanium implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface. 3-years results of a prospective study partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003; 18: 659-66.
- Brunski JB, Puelo DA, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15: 15-46.
- Buser D, Schenk RK, Steineman S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res.* 1991; 25: 889-902.

* Baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o MedLine

- Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte LP. Removal torques values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998; 13: 611-9.
- Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snétivy D, Nolte LP. 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*. 1999; 45: 75-83.
- Carlsson L, Röstlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1988; 3: 21-4.
- Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, Higginbottom FL, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implant with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res*. 1998; 40: 1-11.
- Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *The International Journal of Prosthodontics*. 1998; 11: 391-401.
- Degidi M, Petrone G, Iezzi G, Piattelli A. Bone contact around acid-etched implants: a histological and histomorphometrical evaluation of two human-retrieved implants. *J Oral Implantol*. 2003; 29: 13-18.
- Den Braber ET, De Ruyter JE, Smits HTJ, Ginsel LA, Von Recum AF, Jansen JA. Effect of parallel surface microgrooves and surface energy on cell growth. *J Biomed Mater Res*. 1995; 29: 511-518.
- D'Hoedt B. The influence of implant materials and material surfaces on blood clotting: a scanning electron microscopy study. In: van Sttenberghe D, Albrektsson T, Bränemark PI, Henry PJ, Holt R, Linden C, eds. *Tissue integration in oral and maxillofacial reconstruction. Proceedings of an International Congress. Current Clinical Practice Series*. 1985; 29: 46-50.
- Friberg B, Jemt T, Lekholm U. Early failures in 4641 consecutively placed Bränemark dental implants. A study from stage I surgery to the connection of completed prostheses. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1991; 6: 142-146.
- Gotfredsen K, Hjorting-Hansen E, Jensen JS, Holmen A. Histomorphometric and removal torque analysis for TiO₂-blasted titanium implants. *Clin Oral Implants Res*. 1992; 3: 77-84.
- Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson C, Skovgaard LT, Hjorting-Hansen E. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study in rabbits. *J Biomed Mater Res*. 1995; 29: 1223-1231.

- Gotfredsen K, Berglundh T, Lindhe J. Bone reactions adjacent to titanium implants subjected to static load of different duration. A study in the dog (III). *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12: 552-558
- Gotfredsen K, Karlsson U. A prospective 5-year study of fixed partial prostheses supported by implants with machined and TiO₂- blasted surface. *J Prosthodont.* 2001; 10: 1-7
- Hallgren C, Reimers H, Gold J, Wennerberg A. The importance of surface texture for bone integration of screw shaped implants: an in vivo study of implants patterned by photolithography. *J Biomed Mater Res.* 2001; 57: 485-496
- Hallgren C, Sawase T, Ortengren U, Wennerberg A. Histomorphometric and mechanical evaluation of the bone-tissue response to implants prepared with different orientation of surface topography. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2001; 3: 194-217
- Huang Y-H, Xiropaidis AV, Sorensen RG, Albandar JM, HJ, Wikejö UME. Bone formation at titanium porous oxide (Ti Unite™) oral implants in type IV bone. *Clin. Oral Impl. Res.* 2005; 16: 105-111
- Ivanoff CJ, Widmark G, Johansson C, Wennerberg A. Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003; 18: 341-348.
- Ivanoff CJ, Hallgren C, Widmark G, Sennerby L, Wennerberg A. Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂ blasted and turned titanium microimplants in human. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12: 128-134.
- Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone. A 5-year analysis. *J Periodontol.* 1991; 62: 2-4.
- Jemt T. Implant treatment in resorbed edentulous upper jaws: a three-year follow-up study on 70 patients. *Clin Oral Implants Res.* 1993; 4: 187-194.
- Jemt T, Chai J, Harnett J, Heath MR, Hutton JE, Johns RB, McKenna S, McNamara DC, van Steenberghe D, Taylor R, Watson RM, Hermann I. A 5-year prospective multicenter follow-up report on overdentures supported by osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1996; 11: 291-298.
- Jungner M, Lundqvist P, Lundgren S. Oxidized titanium implants (Nobel Biocare TiUnite) compared with turned titanium implants (Nobel Biocare mark II) with respect to implant failure in a group of consecutive patients treated with early functional loading and two-stage protocol. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16: 308-312.

- Kim YH, Koak JY, Chang IT, Ivanoff CJ, Hallgren C, Widmark G, Sennerby L, Wennerberg A. Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂-blasted and turned titanium microimplants in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12: 128-134.
- Kim YH, Koak JY, Chang IT, Wennerberg A, Heo SJ. A histomorphometric analysis of the effects of various surface treatment methods on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003; 18: 349-56.
- Klokkevold PR, Johnson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD. Early endosseous integration enhance by dual acid etching of titanium: a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implant Res.* 2001; 12: 350-357.
- Kohal RJ, Bachle M, Emmerich D, Beschnidt SM, Strub JR. Hard tissue reaction to dual acid-etched titanium implants: influence of plaque accumulation. A histological study in humans. *Clin Oral Implant Res.* 2003; 14: 381-390
- Larsson C, Thomsen P, Aronsson B.-O, Rodahl M, Lausmaa J, Kasemo B, Ericson L.E. Bone response to surface-modified titanium implants: studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. *Biomaterials.* 1996; 17: 605-616
- Lazarra RJ, Porter SS, Testori T, Galante J, Zetterqvist L. A prospective multicenter study evaluating loading of osseointegrated implants two months after placement: one-year results. *J Esthet Dent.* 1998; 10: 280-289
- Lazarra RJ, Testori T, Trisi P, Porter S, Weinstein R. A human histologic analysis of Osseointegrated and machined surfaces using implants with 2 opposing surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1999; 19: 117-129.
- Lekholm U. Immediate early / loading of oral implants in compromised patients. *Periodontol.* 2003; 33: 194-203
- Li D, Ferguson SJ, Beutler T, Cochran DL, Sittig C, Hirt HP, Buser D. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *J Biomed Mater Res.* 2002; 60: 325-332.
- Lundgren AK, Lundgren D, Wennerberg A, Hämmerle C, Nyman S. Influence of surface roughness of barrier walls on guided bone augmentation: experimental study in rabbits. *Clin Impl Dent Rel Res.* 1999; 1: 41-48
- Lundgren S, Rasmusson L, Slöström M, Sennerby L. Simultaneous or delayed placement of titanium implants in free autogenous iliac bone grafts. Histological analysis of the bone graft-titanium interface in 10 consecutive patients. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1999; 28: 31-37

- Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Cochran DL. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation and protein synthesis of human osteoblast-like cells. *J Biomed Mater Res.* 1995; 29:389-401.
- Matsuo M, Nakamura T, Kishi Y, Takahashi K. Microvascular changes after placement of titanium implants: scanning electron microscopy observations of machined and titanium plasma-sprayed implants in dogs. *J Periodontol.* 1999; 70: 1330-8.
- Meyer A, Baier R, Natiella J, Meenagha M. Investigation of tissue/implant interactions during the first two hours of implantation. *J Oral Implantology.* 1988; 14: 363-379.
- Pebé P, Barbot R, Trinidad J, Pesquera A, Lucente J, Nishimura R, Nasr H. Countertorque testing and histomorphometric analysis of various implant surfaces in canine: a pilot study. *Impl Dent.* 1997; 6(4):259-265.
- Persson LG, Berglundh T, Lindhe J, Sennerby L. Re-osseointegration after peri-implantitis at different implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2001; 12: 595-603.
- Piattelli A, Scarano A, Quaranta M. High-precision, cost-effective system for producing thin sections of oral tissues containing dental implants. *Biomaterials.* 1997; 18: 577-579.
- Piattelli A, Piattelli M, Mangano C, Scarano A. A histologic evaluation of eight cases of failed dental implant: is bone overheating the most probable cause? *Biomaterials.* 1998; 19: 693-690.
- Placko HE, Mishra S, Weimer JJ, Lucas LC. Surface characterization of titanium-based implant materials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000; 15: 355-363.
- Proussaefs P, Lozada J. Evaluation of two vitallium blade-form implants retrieved after 13. to 21 years of function: a clinical report. *J Prosthet Dent.* 2002; 87: 412-415.
- Proussaefs P, Olivier H-S, Lozada J. Histologic evaluation of 12-year-old threaded hydroxyapatite-coated implant placed in conjunction with subantral augmentation procedure: A clinical report. *J Prosthet Dent.* 2004; 92: 17-22
- Quirynen M, Naert I, van Steenberghe D, Teerlinck J, Dekeyser C, Theuniers G. Periodontal aspects of osseointegrated fixtures supporting an overdenture. A 4-year retrospective study. *J Clin Periodontol.* 1991;18: 719-728.
- Rasmusson L, Kahnberg KE, Tan A. Effects of implant Design and Surface on Bone Regeneration and Implant Stability: An Experimental study in the dog mandible. *Clin Impl Dent.* 2001; 3: 2-15

- Rocci A, Martignoni M, Burgos PM, Gottlow J, Sennerby L. Histology of retrieved immediately and early loaded oxidized implants: light microscopic observations after 5 to 9 months of loading in the posterior mandible. *Clinical Implant Dentistry and Related Res.* 2003; 5: 88-94.
- Rocuzzo M, Bunino M, Prioglio F, Bianchi SD (2001). Early loading of sandblasted and acid-etched (SLA) implants: a prospective split-mouth comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 12: 572-578.
- Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Implant surface roughness affect osteoblast gene expression. *J Dent res.* 2003; 82: 372-376.
- Schneider GB, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Differentiation of preosteoblasts is affected by implant surface microtopographies. *J Biomed Mater Res.* 2004; 64A: 462-468.
- Schwartz Z, Lohmann CH, Oefinger J, Bonewald LF, Dean DD, Boyan BD. Implant surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage. *Adv Dent Res.* 1999; 13:38-48.
- Schopper C, Moser D, Gorwoda W, Ziya-Ghazvini, Spassova E, Lagogiannis, Auterith A, Ewers R. The effect of three different calcium phosphate implant coating on bone deposition and coating resorption: a long-term histological study in sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2005; 16: 357-368.
- Shibli JA, Martins MC, Nociti Jr. FH, Garcia VG, Marcantonio Jr. E. Treatment of ligature-induced peri-implantitis by lethal photosensitization and guided bone regeneration: a preliminary histologic study in dogs. *J Periodontol* 2003;74:338-345.
- Thomas K, Cook SD. Relationship between surface characteristics and the degree of bone-implant integration. *J Biomed Mater Res.* 1992; 26: 831-3.
- Trisi P, Lazzara R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol.* 2003; 74: 945-956.
- Trisi P, Keith DJ, Rocco S. Human histologic and histomorphometric analyses of hydroxyapatite-coated implants after 10 years of function: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005; 20: 124-30
- Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Kroll JJ. A histomorphometrical and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res.* 1995; 6: 24-30.

- Weng D, Hoffmeyer M, Hürzeler MB, Richter EJ. Osseotite® vs. machined surface in poor bone quality. A study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2003; 14: 703-708.
- Wennerberg A, Albrektsson T, Johanson CB, Andersson B. Experimental study of turned and grit blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials.* 1996; 17: 15-22.
- Wennerberg A, Heo SJ. A histomorphometrical analysis of the effects of various surface treatment methods on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003; 18: 348-356.
- Wen X, Wang X, Zhang N. Microrough surface of metallic biomaterials: a review. *Biomedical Materials and Engineering.* 1996; 6: 173-189
- Wong M, Eulenberger J, Schenk R, Hunziker E. Effect of surface topology on the osseointegration of implant material in trabecular bone. *Biomaterials.* 1995; 29: 1567-1575.
- Zechner W, Tangl S, Fürst G, Tepper G, Thams U, Mailath G, Watzek G. Osseous healing characteristics of three different implant types. A histological and histomorphometric study in mini-pigs. *Clin Oral Implant Res.* 2003; 14: 150-157.

ANEXO

Histologic evaluation of early human bone response to different implant surfaces.

Sauro Grassi,* Adriano Piattelli,[†] Luciene Cristina de Figueiredo,* Magda Feres,*
Giovanna Iezzi,[†] Rodolfo Candia Alba Jr.[‡], Jamil Awad Shibli.*

Correspondence Address: *(fax number and e-mail can be published)*

Prof. Jamil Awad Shibli

Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão-CEPPE

Universidade Guarulhos

Praça Tereza Cristina, 01

07023-070 Guarulhos,SP- Brasil

Fax: ++55 11 6464-1758

e-mail: jshibli@ung.br

Source of support: Conexão Implants, São Paulo, SP, Brazil.

Number of figures in the manuscript: 10

Running title: Early human bone response to different implant topographies

*Department of Periodontology, Dental Research Division, Guarulhos University, Guarulhos, SP, Brazil

[†]Department of Oral Medicine and Pathology, Dental School, University of Chieti-Pescara, Chieti, Italy.

[‡] Private Practice, São Paulo, SP, Brazil.

Histologic evaluation of early human bone response to different implant surfaces.

Background: Studies have demonstrated that roughness dental implant surfaces show firmer bone fixation and an increased percentage of bone-to-implant contact (BIC%) compared to commercially pure titanium surface (machined) implants. It has also been suggested that implants with roughness surfaces can be loaded earlier than machined implants. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the influence of implant surface topography on human bone tissue after 2 months of unloaded healing.

Material and Methods: 14 subjects with mean age of 46.87 ± 9.45 years received 2 micro-implants each (2.5mm in diameter and 6mm in length), one test (sandblasted acid-etched surface) and one control (machined surface), either in the mandible or in the maxilla. After a healing period of 2 months, the micro-implants and the surrounding tissues were removed with a trephine burr and prepared for histologic analysis.

Results: All micro-implants, except for 1 of the controls, were clinically stable after the healing period. Histometric evaluation indicated that the mean of BIC% was $21.71 \pm 13.11\%$ and $41.84 \pm 9.73\%$ to machined and roughness micro-implant surfaces, respectively ($p=0.0001$). Bone area within the threads was also higher for sandblasted surface implants ($p=0.0014$). The mean percentage of bone density did not differ between the two groups ($p=0.1914$).

Conclusion: Data from the present histological study suggest that the sandblasted acid-etched implant provides a better human bone tissue response than machined implants under unloaded conditions and after a healing period of 2 months.

Key-Words: Dental implants/osseointegration; implant surface topography/wound healing; human bone healing/human histology; titanium/osseointegration.

Introduction

Several investigators have demonstrated higher removal torque values and percentage of bone-to-implant contact (BIC%) for roughness dental implant surfaces compared with machined surfaces.¹⁻³ These studies have also shown that dental implants inserted in type IV bone (posterior maxilla and grafted areas) may result in a higher ratio of early failures than implants placed in dense bone. However, most of the studies have used commercially pure titanium (machined) dental implants, and it is possible that modification of dental implant surface can facilitate healing as well as increase BIC% in areas with soft bone tissue.⁴⁻⁶ This background triggered the search of several implant surface modifications using techniques such as grit blasting, titanium plasma spraying, acid-etching, anodic oxidation, and laser preparation.⁷⁻⁹ The dental implant quality depends on the chemical, physical, mechanical, and topographic properties of the surface. These different properties interact among them and determine the activity of the cells close to the dental implant surface.¹⁰

The sandblasted acid-etched surface is obtained by treating the commercially pure titanium dental implant with a spray of air and abrasives material (aluminum oxide or titanium oxide) for a certain period of time and under controlled pressure. After that, this modified surface is attacked with acid solutions under different temperatures and periods of time in order to remove any residue and to conditioning the blasted surface. In addition, the properties of this surface influence cell migration and proliferation, resulting in better BIC%.⁷⁻¹²

Few studies and case reports have been published evaluating the peri-implant bone response in humans with different surfaces¹³⁻¹⁷. Therefore, the quality of the bone -implant interface around sandblasted acid-etched surfaces after a short period of healing is still to be determined.

The objective of this study was to evaluate the influence of different implant topographies on bone-to-implant contact after an unloaded healing period of 2 months in human jaws.

Material and methods

Subject selection

Fourteen partially edentulous subjects (8 females; 6 males) with a mean age of 46.87 ± 9.45 years who were referred to the Department of Periodontology of Guarulhos University for oral rehabilitation with dental implants in the posterior region were included in the present study. Exclusion criteria included pregnancy, nursing, smokers, any systemic condition that could affect the bone healing. The Ethical Committee for Human Clinical Trials approved the study protocol.

Experimental design

Twenty-eight screw-shaped micro-implants were manufactured with commercially pure titanium (2.5mm in diameter and 6mm in length). Fourteen machined micro-implants served as control and 14 sandblasted acid-etched surfaces served as tests (Fig. 1). Each subject received two micro-implants, one test and one control, which were both inserted in the posterior region of the mandible or of the maxilla, always distal to the last conventional implant placed. The micro-implants stayed in the mouth for two months and were removed for histological evaluation.

Surgical procedures

The implants were placed under aseptic conditions, after a crestal incision and the elevation of mucoperiosteal flaps. The surgical sites were prepared either with

1.8mm diameter twist drill, in the maxilla, or, a 2.0mm twist drill in the mandible. Afterwards, the micro-implants were inserted with a screwdriver. If the micro-implant presented low primary stability, a second surgical site was prepared. Drilling procedures and micro-implant placements were made under profuse irrigation with sterile saline. The flaps were sutured with single interrupted sutures, submerging the micro-implants. 300 mg of clindamicyn[§] was given three times a day for a week, in order to avoid post-surgical infection. 50 mg of potassic diclofenac^{||} was administered for pain control, 3 times a day for 5 days. Sutures were removed after 10 days. For postoperative dental biofilm control, subjects were prescribed 0.12% chlorhexidine rinses twice a day during 14 days.

After healing period of 2 months, the micro-implants and the surrounding tissues were retrieved with a 4.0mm wide trephine bur, and the specimens were fixed by immediate immersion in 4% neutral formalin.

Processing of specimens and histometric analysis

The biopsies were processed to obtain thin ground sections[¶] as previously described.¹⁸ The specimens were dehydrated in an ascending series of alcohol rinses and embedded in a glycol methacrylate resin.[#] After polymerization the specimens were sectioned longitudinally along the major axis of the implant with a high-precision diamond disk at about 150µm and ground down to about 30µm. Three slides were obtained for each implant. The slides were stained with basic fuchsin and toluidine blue. BIC% was measured around all implant surfaces. The bone density in the threads area (BA%) as well as the bone density (BD%) in a 500µm-wide zone lateral to the implant surface were measured bilaterally. These evaluations were

[§] Dalacin C 300mg, Pharmacia Brasil LTDA, Jandira, SP, Brazil.

^{||} Diclofenaco de potássio 50mg, Monsanto do Brasil LTDA, São Paulo, SP, Brazil.

[¶] Precise 1 Automated System[®], Assing, Rome, Italy.

[#] Technovit[®] 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Germany.

performed using a light microscope** connected to a high-resolution video camera†† and interfaced to a monitor and personal computer. This optical system was associated with a digitizing pad and a histometry software package with image-capturing capabilities.‡‡

Mean and standard deviation of the histometric variables values were calculated for each implant and then for each group. Differences between the two groups were evaluated using Mann-Whitney U test, with the level of significance established at 5%.

Results

Clinical observations

Six subjects received the implants in the posterior maxilla and 8 subjects in the posterior mandible. All micro-implants, except for 1 with machined surface placed in the maxilla, were found to be clinically stable at the time of retrieval. The unstable micro-implant was included in the evaluation as zero percent for all histometric variables.

None of the micro-implant presented marginal bone resorption or surrounding infection. The test group (sandblasted acid-etched surface) presented more bone attached to the surface than the control group (machined surface) (Fig.2).

Histologic and histometric results

The bone tissue surrounding all micro-implants was healthy (Fig. 3). The old bone was mostly lamellar and compact, and numerous osteocytes were observed in their lacunae, although areas of woven bone could be distinguished. The newly-

** Laborlux S[®], Leitz, Wetzlar, Germany.

†† 3CCD[®], JVC KY-F55B, Milan, Italy.

‡‡ Image-Pro Plus[®] 4.5, Media Cybernetics Inc., Immagini & Computer Snc, Milan, Italy.

formed bone exhibited early stages of maturation and remodeling, mainly on the test group (Fig.4)

In some cases osteoblasts were connected to the newly formed bone, indicating ongoing bone formation. Inside the implant threads a minor apposition of new bone could be found, although the bone tissue appeared immature (Fig. 5). Some samples depicted a lack of connecting bridges between the thin bone trabeculae and the machined implant surface. On the sandblasted acid-etched surface group, a thin layer of bone trabeculae was interposed between the old bone and the implants. The area close to the machined surfaces showed a thin layer of dense connective tissue between the bone and the implants (Fig. 6).

None of the test micro-implants presented surface debris or particle inclusions in the surrounding tissue close to the bone area. In addition, some sections displayed inflammatory cells (lymphocytes, macrophages, and giant cells) near to the implant surface, mainly in the sandblasted acid-etched implants.

The sandblasted acid-etched surface implants presented significantly higher means of BIC% and BA% (41.84% and 57.14%) compared to the control group (21.71% and 28.98%; Fig.7). The mean BD% did not differ between tests (24.92%) and controls (16.88%). Figures 8 and 9 present the histometric results according to the location of the micro-implants in the arch, maxilla or mandible. The sandblasted surface implants showed higher mean percentages of BIC and BA independent of the arch analyzed. Mean BD% did not differ significantly between the two groups.

When each group was compared according to their position in the jaw, maxilla or mandible, the data showed that both groups presented higher means of BIC% in the mandible (Fig.10). None of the groups showed significant differences in the mean BA% between maxilla and mandible. Interestingly the BD% for machined surfaces

presented higher means in the mandible ($p=0.015$), while the sandblasted surfaces presented no difference between the maxilla and the mandible ($p=0.150$)

Discussion

In the present study, the sandblasted acid-etched surface implants exhibited a considerable percentage of mineralized bone contact when compared to machined surface implants. The modified surface topography presents a geometric property that functions as a mechanical restriction for the cytoskeletal cell components, which are involved in spreading and locomotion.^{19,20} Additionally, it has been suggested that acid treatment enhances early bone-implant integration to a level similar to that observed around the more complex surface topography, such as titanium plasma sprayed and hydroxylapatite coated-surfaces.²⁰⁻²²

All clinically stable micro-implants showed histological newly bone formation near to both implant surfaces. A thin layer of bone covered a relatively large portion of the micro-implants threads with sandblasted acid-etched surface. These data insinuate that osteoblasts were activated by the sandblasted acid-etched surface, suggesting a direct contact osteogenesis reported by other authors.²³ However, woven bone was also found on both surfaces evaluated at some distance from the old bone. This feature is called distant osteogenesis.²³ Complementary, some histological slides also depicted osteoblasts lining the newly formed bone, although this characteristic was less pronounced in the machined surface implants.

The data from the present experimental study suggest that the surface topography is important for the bone tissue response to a dental implant, mainly during unloaded conditions.^{2,14,15,21,24} The proliferation and differentiation of bone cells has been reported to be enhanced by roughness of the implant surface topography.^{25,26} The healing is initiated immediately after implant insertion by initial

blood clot formation in the peri-implant gaps and the development of a layer of fibrins.²³⁻³⁰ In this study, the implants with modified surface showed higher amounts of BIC% as well as of BA%. An important feature was that the bone density in a 500µm-wide zone lateral to the implant surface around the sandblasted acid-etched surface implants did not differ between the maxilla and the mandible, suggesting that this surface topography may enhance the bone quality close to dental implants placed in the soft bone. In addition, a series of co-ordinated events, including protein adsorption, proliferation, and deposition of bone tissue were probably affected by the different topography surfaces. The stylus profilometry of the oxidized surface could provide a better condition for coagulum stability, facilitating the bone healing on the implant surface.

More recently, studies have shown that the implant surface topography itself can affect not only osteoblast gene expression but also differentiation of cells into osteoblasts.^{31,32} These authors also suggested that the interaction of the cells with the extracellular matrix components, and the organization of the actin cytoskeleton associated with implant surface topography can influence cell gene expression.

The data obtained from the machined dental implant surface agree with the statement that this surface does not provide a strong implant anchorage in bone, mainly in sites with poor bone density such as in the posterior maxilla. These observations could explain the increased failure rates previously reported in several investigations.^{4,5,33,34} So far, the surface topography may be one of the most important factors in determining the long-term implant survival in type IV bone. The placement of dental implants in type IV bone, in particular in the posterior maxilla, has a lower success rate than in areas with a better bone quality.^{4,6} The histometric results of the present investigation suggest that the use of implants with roughness

surface can enhance the osseointegration process, in agreement with previous studies performed in both animal^{2,8,20,21,24,30,35-41} and human bone tissue.¹³⁻¹⁶

On the other hand, some studies have demonstrated that the anchorage of machined dental implants is time dependent.^{36,37} However, some previous studies in humans^{14,15} that evaluated osseointegration on machined surface inserted in human jaws shown that after 5-6 months of healing period, the percentage of BIC% ranged between 9% and 13%. These values were lower when compared with the present results and those presented by Trisi et al.¹³, suggesting that machined surface depends on the preexisting bone quality at the implant site more than the surface properties.

In conclusion, data from the present histological study suggest that sandblasted acid-etched implants provide a better human bone tissue response than machined implants under unloaded conditions and after a healing period of 2 months.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors appreciate the assistance of Drs. Leandro de Melo and José Alexandre Andrade in the surgical phases. The authors are also indebted with Conexão Implants, Brazil for providing the micro-implants.

REFERENCES

1. Thomas K, Cook SD. Relationship between surface characteristics and the degree of bone-implant integration. *J Biomed Mater Res.* 1992; 26:831-3.
2. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomedical Materials Research* 1991;25:889-902.
3. Hallgren C, Sawase T, Ortengren U, Wennerberg A. Histomorphometric and mechanical evaluation of the bone-tissue response to implants prepared with different orientation of surface topography. *Clin Implant Dent Relat Res* 2001;3:
4. Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone. A 5-year analysis. *J Periodontol* 1991; 62:2-4.
5. Friberg B, Jemt T, Lekholm U. Early failures in 4641 consecutively placed Bränemark dental implants. A study from stage I surgery to the connection of completed prostheses. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1991;6:142-146.
6. Quirynen M, Naert I, van Steenberghe D, Teerlinck J, Dekeyser C, Theuniers G. Periodontal aspects of osseointegrated fixtures supporting an overdenture. A 4-year retrospective study. *J Clin Periodontol.* 1991;18:719-728.
7. Kim YH, Koak JY, Chang IT, Wennerberg A, Heo SJ. A histomorphometric analysis of the effects of various surface treatment methods on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003 May-Jun;18(3):349-56.

8. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Kroll JJ. A histomorphometrical and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 1995;6:24-30.
9. Wong M, Eulemberger J, Schenk RK, Hunziker E. Effect of surface topography on the osseointegration of implant materials in trabecular bone. *J Biomed Mater Res* 1995;29:1567-1575.
10. Matsuo M, Nakamura T, Kishi Y, Takahashi K. Microvascular changes after placement of titanium implants: scanning electron microscopy observations of machined and titanium plasma-sprayed implants in dogs. *J Periodontol*. 1999 Nov;70(11):1330-8.
11. Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, Higginbottom FL, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implant with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 1998;40:1-11.
12. Placko HE, Mishra S, Weimer JJ, Lucas LC. Surface characterization of titanium-based implant materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:355-363.
13. Trisi P, Lazarra R, Rebaudi A, Rao W, Testori T, Porter SS. Bone-implant contact on machined and dual acid-etched surfaces after 2 months of healing in the human maxilla. *J Periodontol* 2003; 74:945-956.
14. Ivanoff CJ, Widmark G, Johansson C, Wennerberg A. Histologic evaluation of bone response to oxidized and turned titanium micro-implants in human jawbone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:341-348.

15. Ivanoff CJ, Hallgren C, Widmark G, Sennerby L, Wennerberg A. Histologic evaluation of the bone integration of TiO₂ blasted and turned titanium microimplants in human. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:128-134.
16. Degidi M, Petrone G, Iezzi G, Piattelli A. Bone contact around acid-etched implants: a histological and histomorphometrical evaluation of two human-retrieved implants. *J Oral Implantol* 2003;29:13-18.
17. Bolind PK, Johansson CB, Becker W, Langer L, Sevetz Jr. EB, Albrektsson TO. A descriptive study on retrieved non-threaded and threaded implant designs. *Clin Oral Implants Res* 2005;
18. Piattelli A, Scarano A, Quaranta M. High-precision, cost-effective system for producing thin sections of oral tissues containing dental implants. *Biomaterials* 1997;18:577-579.
19. Den Braber ET, De Ruijter JE, Smits HTJ, Ginsel LA, Von Recum AF, Jansen JA. Effect of parallel surface microgrooves and surface energy on cell growth. *J Biomed Mater Res* 1995;29:511-518.
20. Klokkevold PR, Johnson P, Dadgostari S, Caputo A, Davies JE, Nishimura RD. Early endosseous integration enhanced by dual acid etching of titanium: a torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:350-357.
21. Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP, Snétyiv D, Nolte LP. 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*. 1999;45:75-83.
22. Trisi P, Keith DJ, Rocco S. Human histologic and histomorphometric analyses of hydroxyapatite-coated implants after 10 years of function: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:124-30

23. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *The International Journal of Prosthodontics* 1998;11:391-401.
24. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. The Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15:381-92
25. Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Cochran DL. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation and protein synthesis of human osteoblast-like cells. *J Biomed Mater Res* 1995;29:389-401.
26. Schwartz Z, Lohmann CH, Oefinger J, Bonewald LF, Dean DD, Boyan BD. Implant surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage. *Adv Dent Res* 1999; 13:38-48.
27. D'Hoedt B. The influence of implant materials and material surfaces on blood clotting: a scanning electron microscopy study. In: van Sttenberghe D, Albrektsson T, Bränemark PI, Henry PJ, Holt R, Linden C, eds. *Tissue integration in oral and maxillofacial recontruction. Proceedings of an International Congress. Current Clinical Practice Series* 1985;29:46-50.
28. Meyer A, Baier R, Natiella J, Meenagha M. Investigation of tissue/implant interactions during the first two hours of implantation. *J Oral Implantology* 1988;14:363-379.
29. Wen X, Wang X, Zhang N. Microrough surface of metallic biomaterials: a review. *Biomedical Materials and Engineering* 1996;6:173-189.
30. Zechner W, Tangl S, Fürst G, Tepper G, Thams U, Mailath G, Watzek G. Osseous healing characteristics of three different implant types. A histological and histomorphometric study in mini-pigs. *Clin Oral Implant Res* 2003;14:150-157.

31. Schneirder GB, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Differentiation of preosteoblasts is affected by implant surface microtopographies. *J Biomed Mater Res* 2004;64A:462-468.
32. Schneider GB, Perinpanayagam H, Clegg M, Zaharias R, Seabold D, Keller J, Stanford C. Implant surface roughness affect osteoblast gene expression. *J Dent res* 2003;82:372-376.
33. Jemt T. Implant treatment in resorbed edentulous upper jaws: a three-year follow-up study on 70 patients. *Clin Oral Implants Res* 1993;4:187-194.
34. Jemt T, Chai J, Harnett J, Heath MR, Hutton JE, Johns RB, McKenna S, McNamara DC, van Steenberghe D, Taylor R, Watson RM, Hermann I. A 5-year prospective multicenter follow-up report on overdentures supported by osseointegrated implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11:291-298.
35. Gotfredsen K, Hjorting-Hansen E, Jensen JS, Holmen A. Histomorphometric and removal torque analysis for TiO₂-blasted titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 1992;3:77-84.
36. Gotfredsen K, Wennerberg A, Johansson C, Skovgaard LT, Hjorting-Hansen E. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: an experimental study in rabbits. *J Biomed Mater Res* 1995; 29:1223-1231.
37. Wennerberg A, Albrektsson T, Johanson CB, Andersson B. Experimental study of turned and grit blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography. *Biomaterials* 1996;17:15-22.
38. Abron A, Hopfensperger M, Thompson J, Cooper LF. Evaluation of a predictive model for implant surface topography effects on early osseointegration in the rat tibia model. *J Prosthetic Dent* 2001;85:40-46.

39. Buser D, Nydegger T, Hirt HP, Cochran DL, Nolte LP. Removal torques values of titanium implants in the maxilla of miniature pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998; 13:611-619.
40. Weng D, Hoffmeyer M, Hürzeler MB, Richter EJ. Osseotite® vs. machined surface in poor bone quality. A study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:703-708.
41. Li D, Ferguson SJ, Beutler T, Cochran DL, Sittig C, Hirt HP, Buser D. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *J Biomed Mater Res* 2002;60:325-332.

Fig. 7

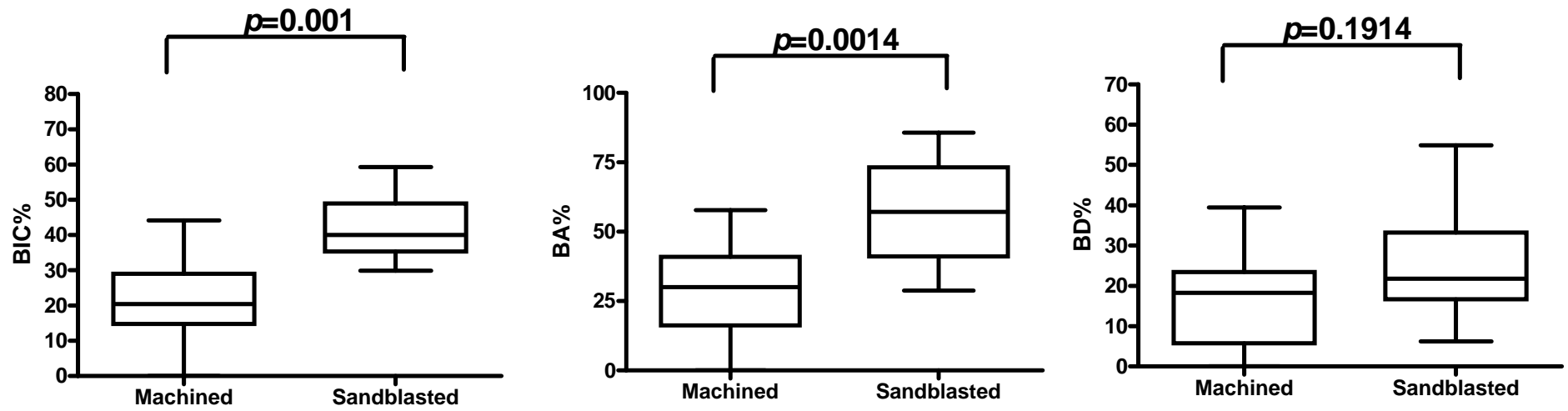


Fig. 8

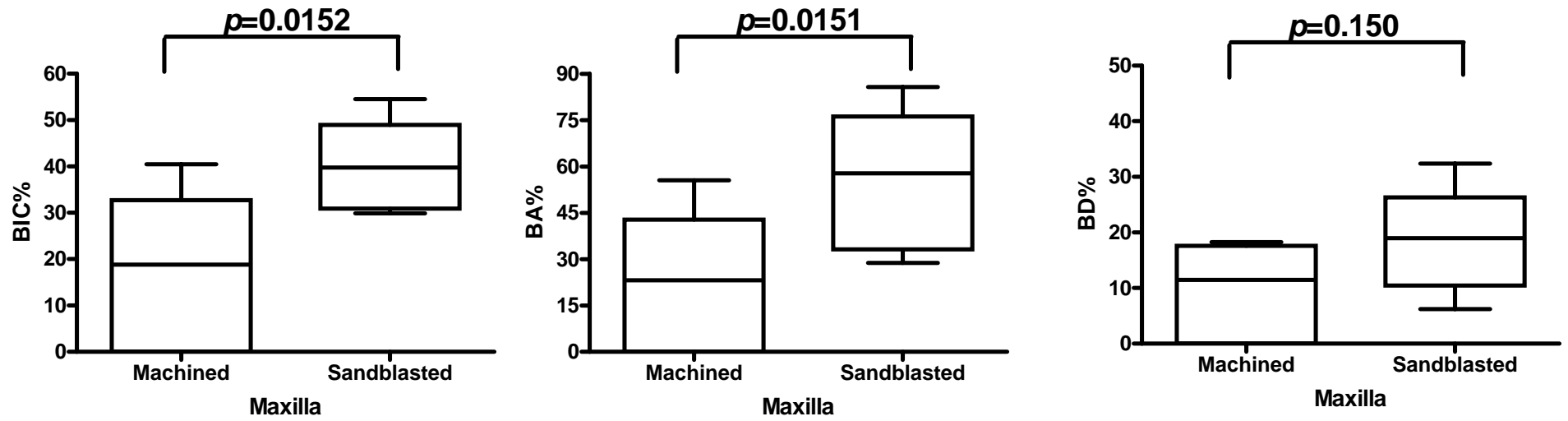


Fig. 9

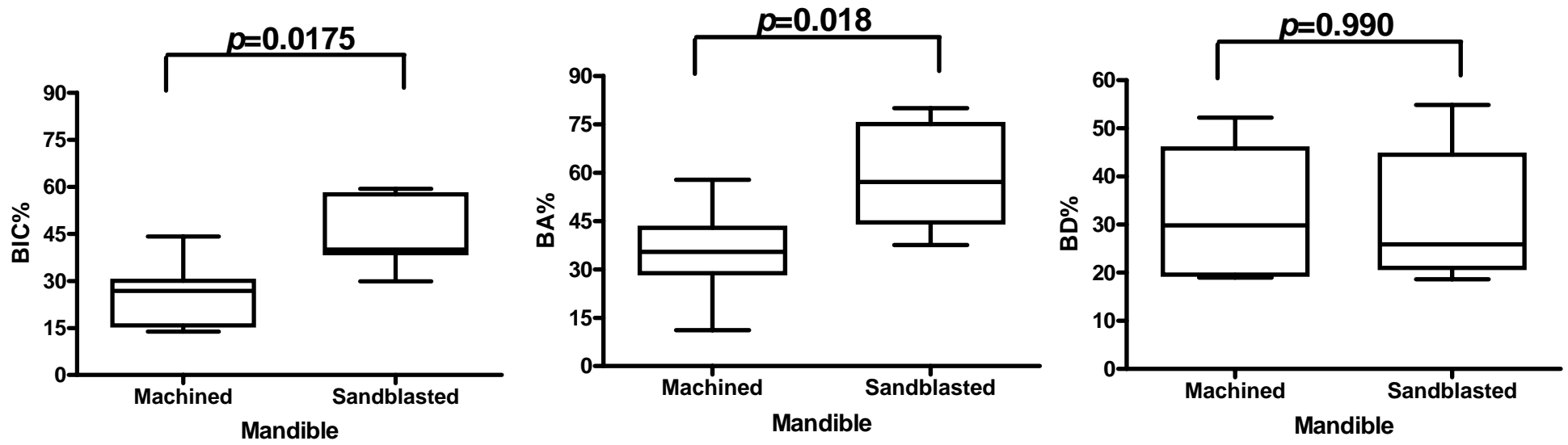


Fig. 10

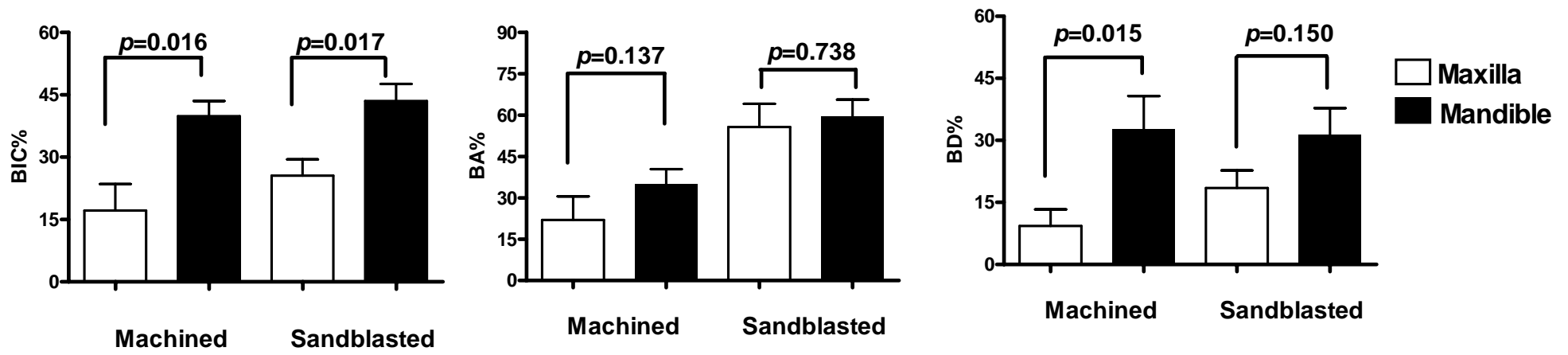


Figure Legends

Figure 1: Scanning electron microphotograph of the micro-implant surface topographies evaluated **(A)** machined and **(B)** sandblasted acid-etched surface.

Figure 2: Detail of retrieved micro-implants from the maxilla. Note the difference on bone surface density between machined (left) and sandblasted acid-etched surface (right).

Figure 3: Histologic ground section of the micro-implants presented in Fig. 2. **(A)** The machined surface depicted newly-formed bone, although there is a lack of connecting bridges between the new bone trabeculae and the machined surface (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original magnification x12); **(B)** Ground section of the sandblasted surface presenting newly-formed bone exhibited early stages of maturation and remodeling. (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original magnification x12).

Figure 4: Histologic ground section of a micro-implant with sandblasted surface retrieved from the mandible. **(A)** The old bone (OB) was mostly lamellar and compact, and numerous osteocytes were presented in their lacunae, although areas of new bone could be distinguished (arrows); **(B)** There is a connecting bridge between the old bone (OB) and the thin new bone (NB) as indicated by the arrow. A minor apposition of new bone is depicted in close contact with the implant surface (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original magnification x200).

Fig. 5: A thin layer of bone tissue with osteocyte in direct contact with sandblasted surface (arrow) suggesting osteogenesis of contact (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original magnification x200).

Fig. 6: Reversal lines (arrows) showing the limits between old bone (OB) and new bone (NB). Note that the area close to the machined surfaces shows a thin layer of dense connective tissue between the bone and the machined surface (Basic fuchsin and toluidine blue staining, original magnification x200).

Fig. 7: Box-plots of percentages of bone-to-implant contact (BIC), the bone density in the threads area (BA), and the bone density (BD) in a 500 μ m-wide zone lateral to the micro-implant for machined and sandblasted acid-etched surfaces in both maxilla and mandible ($n= 14$ subjects). Mann-Whitney U test ($p<0.05$).

Fig. 8: Box-plots of percentages of bone-to-implant contact (BIC), the bone density in the threads area (BA), and the bone density (BD) in a 500 μ m-wide zone lateral to the micro-implant for machined and sandblasted acid-etched surfaces in the maxilla ($n=6$ subjects). Mann-Whitney U test ($p<0.05$).

Fig. 9: Box-plots of percentages of bone-to-implant contact (BIC), the bone density in the threads area (BA), and the bone density (BD) in a 500 μ m-wide zone lateral to the micro-implant for machined and sandblasted acid-etched surfaces in the mandible ($n=8$ subjects). Mann-Whitney U test ($p<0.05$).

Fig. 10: Comparison of the subjects that received in maxilla and mandible (mean and standard deviation) of percentages of bone-to-implant contact (BIC%), the bone density in the threads area (BA%), and the bone density (BD%) in a 500 μ m-wide zone lateral

to the micro-implant) with the machined and sandblasted acid-etched micro-implant surfaces. Mann-Whitney U test ($p < 0.05$).