

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL

FABIANO GOULART AZAMBUJA

**ESTUDO ESTRUTURAL E ULTRAESTRUTURAL  
DA INTERFACE OSSO-IMPLANTE EM OVELHAS**

Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira  
Orientador

PORTO ALEGRE  
2009

FABIANO GOULART AZAMBUJA

**ESTUDO ESTRUTURAL E ULTRAESTRUTURAL  
DA INTERFACE OSSO-IMPLANTE EM OVELHAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira

PORTO ALEGRE

2009

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

**A991e** Azambuja, Fabiano Goulart  
Estudo estrutural e ultraestrutural da interface osso-implante em ovelhas. / Fabiano Goulart Azambuja. – Porto Alegre, 2009.  
55 f.

Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, PUCRS.  
Orientação: Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira.

1. Odontologia. 2. Cirurgia Bucomaxilofacial.  
3. Implantodontia. 4. Implantes Dentários Osseointegrados. 5. Osseointegração (Odontologia).  
I. Oliveira, Rogério Belle de. II. Título.

**CDD 617.69**

Ficha elaborada pela bibliotecária Cíntia Borges Greff CRB 10/1437

Esta dissertação é especialmente dedicada:

Aos meus amados pais, **Nilson e Nilza**, pelo amor e companheirismo e pelos sacrifícios realizados para a minha formação. Com vocês ao meu lado tudo ficou mais fácil. Sempre presentes em minha vida, apesar da distância, são vocês os responsáveis por todas as minhas conquistas.

Ao meu irmão **Luciano**, por todos os momentos que passamos juntos, por sempre acreditar em mim e me apoiar nas minhas escolhas.

Ao meu avô **Ângelo** e minha avó **Luzia**, que sempre estiveram comigo, iluminando-me através de orações.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por me proporcionar todas as condições para atingir meus objetivos e pela vida abençoada que tem me proporcionado.

Ao Professor Rogério Belle de Oliveira, não só pela orientação deste trabalho, mas também pela verdadeira amizade firmada. Ao transmitir seus conhecimentos técnicos para meu aprimoramento profissional, tornava-me também uma melhor pessoa. Seguirei seu exemplo de dedicação, esforço e incansável busca pela excelência. Para mim, um exemplo de profissional e de ser humano.

Ao Professor José Nazareno Gil, que foi minha inspiração para me tornar um cirurgião bucomaxilofacial. Com seu contagiante amor pela cirurgia constitui exemplo de dedicação ao ensino e à pesquisa. Minha eterna gratidão expressa um pouco do carinho e do respeito que tenho por você.

Ao meu colega e amigo André Weissheimer, que esteve comigo desde o início da minha carreira na Odontologia. Sempre ao meu lado nos momentos vitoriosos e também nas derrotas, incentivando-me sempre a crescer. Meu fiel amigo, obrigado.

Aos meus amigos Charles Marin e Rodrigo Granato por participarem da minha formação e pela verdadeira amizade firmada.

À minha namorada Emanuela por todo o amor, carinho e pela compreensão nas minhas ausências nessa etapa da minha vida. Ao Sr. Pedro, Sra. Santana e Leonardo, por todos os momentos especiais em que estivemos juntos.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul na pessoa do seu Diretor da Faculdade de Odontologia, Prof. Marcos Túlio Mazzini Carvalho e, do Prof. José Antônio Poli de Figueiredo, coordenador da Pós-Graduação em Odontologia pela excelente estrutura e qualidade de ensino proporcionado.

Ao CAPES, pela bolsa fornecida para a realização deste Curso.

Ao grupo de professores Rogério Miranda Pagnoncelli, Daniela Nascimento e Claiton Heitz pela dedicação frente ao Curso de Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucamaxilofacial, contribuindo constantemente para o aperfeiçoamento da especialidade. Suas amizades tornam a formação acadêmica agradável e ao mesmo tempo séria, segura e completa.

Aos professores Cléo Nunes de Souza e Humberto Cherem Mendes de Souza, da UFSC, exemplos de dedicação e amor para a Odontologia que com entusiasmo transmitem seus conhecimentos.

Aos meus colegas Jefferson Paes, Beatriz Voigt, Daiane Granzoto e Roberta Bergoli, por todos os momentos que passamos juntos e pela troca de experiência.

Aos colegas Rafael Linard e Juliana Goelzer pela amizade e companheirismo.

Aos funcionários da secretaria de pós-graduação em Odontologia: Carlos, Davenir, Ana e Marcos por todo auxílio proporcionado. Agradeço também as funcionárias da clínica de Cirurgia, Luiza e Carla, pela amizade e carinho com que fazem seu trabalho.

## RESUMO

**Palavras-chave:** Implantodontia. Implantes Dentários Osseointegrados. Osseointegração (Odontologia).\*

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a ultraestrutura da superfície do implante através da microscopia eletrônica de varredura e a resposta histológica da interface osso-implante através da histomorfometria da osseointegração de duas superfícies de implantes (Titamax EX Cone Morse® jateado + ataque ácido e Titamax EX Cone Morse® desenvolvida com uma nova proposta de tratamento de superfície, ainda não comercializada, intitulada nanosuperfície) em modelo animal, avaliados após um período de 30 e 60 dias. Foram utilizadas duas ovelhas adultas da espécie *Ovis aries*. As ovelhas foram divididas em dois grupos: uma ovelha pertencente ao grupo 1, com morte prevista após 30 dias da instalação dos implantes e uma ovelha pertencente ao grupo 2, com morte após 60 dias. Cada animal forneceu 10 amostras, sendo 05 amostras compostas por implantes dentários com superfície tratada com jato + ataque ácido e 05 amostras compostas por implantes dentários com superfície tratada com nanopartículas. As amostras foram processadas e avaliadas em microscópio eletrônico de varredura em diferentes magnitudes para avaliar os resultados do contato entre o osso e a superfície dos implantes nos períodos propostos. O programa Image J Plus® foi usado para a avaliação desse contato e o SPSS® para a análise estatística. A histomorfometria mostrou a formação óssea sobre a superfície dos implantes em ambas as amostras no grupo 1, ou seja, no período de 30 dias. Entretanto, apesar da formação óssea também ocorrer sobre a superfície dos implantes em ambas as amostras do grupo 2, ou seja, no período de 60 dias, observou-se uma perda do contato osso-implante na amostra de nanosuperfície ao longo do período da pesquisa. Para se tornar mais aceitável o uso clínico em benefício aos pacientes dos implantes Titamax EX Cone Morse® nanosuperfície, outros estudos se fazem necessários para sugerir melhorias no tratamento de superfície dos implantes e para avaliação por períodos maiores de tempo.

\* Descritores: [www.decs.bvs.br](http://www.decs.bvs.br)

## ABSTRACT

**Keywords:** Implantology. Endosseous Dental Implantation. Osseointegration (Dentistry).\*

Studies have showed that roughness surfaces in titanium implants can modulate bones responses. The objective of present study is evaluate the bone implant contact between two types of dentistry implants with differents treatments of surface, Titamax EX Cone Morse® sandblasted/acid-etched and a Titamax EX Cone Morse® with a new proposal surface called nanosurface, in a sheep model, during 30 and 60 days. Two female sheeps received 10 implants each (n=20), five sandblasted/acid etched implants and five with the new surface implant. Implants were inserted in tibia an ulna. After the euthanization, in 30 and 60 days, the specimens were processed and a scanning electron microscopy was used to evaluate the bone contact implant of these two types of dentistry implants in a different time. The software Image J Plus® was used to determine the bone contact implants and SPSS® for statistical analyses. The histomorphology showed bone formation between implants crests in both groups, in 30 days. However, there was a lose in bone contact implant in the nanosurface group, in 60 days. The sandblasted/etched group mantained its measures. These differences were statistically significant. More studies are necessary to improve this new kind of surface a long time to become acceptable to clinical use and bennefit the patients

\*Mesh: [www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh)

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exposição da tíbia para a inserção dos implantes .....	23
Figura 2 - A histomorfometria avalia na interface osso-implante a área de contato ósseo na região delimitada.....	25
Figura 3 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 150x em MEV.....	27
Figura 4 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 500x em MEV.....	28
Figura 5 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 1000x em MEV.....	29
Figura 6 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 5000x em MEV.....	300
Figura 7 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 10000x em MEV.....	311
Figura 8 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 150x.....	333
Figura 9 - Superfície Nanométrica. Aumento de 500x em MEV.....	344
Figura 10 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 1000x em MEV.....	355
Figura 11 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 5000x em MEV.....	366
Figura 12 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 10000x em MEV.....	377
Figura 13 - Superfície Jato+ácido 30 dias. Aumento de 50x em MEV.....	39
Figura 14 - Superfície Jato+ácido 30 dias. Aumento de 150x em MEV.....	40
Figura 15 - Superfície Jato+ácido 60 dias. Aumento de 50x em MEV.....	411
Figura 16 - Superfície Jato+ácido 60 dias. Aumento de 150x em MEV.....	422
Figura 17 - Superfície Nanoparticulada 30 dias. Aumento de 50x em MEV.....	433
Figura 18 - Superfície Nanoparticulada 30 dias. Aumento de 150x em MEV.....	444
Figura 19 - Superfície Nanoparticulada 60 dias. Aumento de 50x em MEV.....	455
Figura 20 - Superfície Nanoparticulada 60 dias. Aumento de 150x em MEV.....	466

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - EDS da superfície Jato+ácido .....	322
Gráfico 2 - EDS da superfície Nanoparticulada.....	388
Gráfico 3 - Tempo em 30 e 60 dias X médias marginais em percentual dos respectivos Grupos.....	488

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Disposição dos implantes no Grupo I.....	200
Quadro 2 - Disposição dos implantes no Grupo II.....	200

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias marginais de contato ósseo .....	477
Tabela 2 - Osseointegração em relação ao tempo.....	477
Tabela 3 - Tempo em relação às médias marginais em percentual .....	488
Tabela 4 - Médias com relação aos tempos e grupos de superfícies em estudo ....	488

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 REVISTA DE LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
2.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS IMPLANTES .....	166
2.2 RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE .....	166
<b>3 PROPOSIÇÃO</b> .....	<b>188</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>19</b>
4.1 MODELO ANIMAL - OVELHA .....	21
4.2 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS .....	22
4.3 PREPARO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS .....	24
4.4 ANÁLISE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	25
4.5 ANÁLISE DOS DADOS .....	26
<b>5 RESULTADOS DESCRITIVOS</b> .....	<b>27</b>
5.1 RESULTADOS DESCRITIVOS DA MEV DE SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES .....	27
5.2 RESULTADOS DESCRITIVOS DA MEV EM RELAÇÃO À OSTEOINTEGRAÇÃO.....	39
<b>6 RESULTADOS ESTATÍSTICOS</b> .....	<b>47</b>
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>8 CONCLUSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>
<b>ANEXO A – CARTA DA COMISSÃO CIENTÍFICA E ÉTICA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUCRS</b> .....	<b>56</b>
<b>ANEXO B – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS DA PUCRS</b> .....	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Após 40 anos de pesquisa e desenvolvimento, a implantodontia se tornou uma especialidade caracterizada por altas taxas de sucesso clínico. Esta especialidade evoluiu em conceitos, protocolos, geometrias dos implantes e seus tratamentos de superfície. O número de casos de implantes dentários nos últimos 20 anos aumentou em todo o mundo.

Dois tipos de resposta biológica frente ao implante de titânio podem ser encontrados. Uma das respostas envolve a formação de uma cápsula de tecido mole fibroso ao redor do implante, entretanto, a presença desse tecido não assegura a propriedade biomecânica de fixação e assim, determina o insucesso do tratamento. A outra resposta ocorre através do íntimo contato entre o osso e o implante sem que haja a formação da camada de tecido conectivo. Essa resposta, desejável, é conhecida como osseointegração.

Um dos fatores de maior importância para o sucesso clínico de um implante dentário é a sua estabilidade primária ao alvéolo cirúrgico. Nessa definição – estabilidade primária – a qualidade óssea, a geometria do implante e a técnica cirúrgica são fatores determinantes. O processo biológico da osseointegração também é influenciado pelo grau de pureza do titânio, pela ausência de contaminantes de superfície, pela resposta biológica do organismo e pelo tipo de tratamento de superfície. Portanto, as características superficiais do implante influenciam os processos de osseointegração, porém, o tratamento da superfície do implante é considerado como um fator de estabilidade secundário.

Smith e Zarb (1989) mostraram a importância da criteriosa caracterização das propriedades da superfície dos implantes. Essas propriedades incluem a composição da superfície, a hidrofobicidade e a rugosidade, que são parâmetros que podem desempenhar um papel importante na interação osso-implante para que ocorra a osseointegração.

Segundo Misch (1999), o tratamento da superfície exerce uma influência de 40% no sucesso da cirurgia, ficando o restante por conta da técnica cirúrgica empregada, do processo de reparo e da carga aplicada sobre o implante após a regeneração ou cicatrização do local implantado.

Após a inserção dos implantes, eles interagem com o tecido ósseo e fluido biológico circundante. O tratamento da superfície visa à obtenção de uma interface altamente reativa, carreando moléculas, acelerando a adesão de osteoblastos, promovendo a precoce deposição de matriz orgânica e a mediata calcificação da matriz, determinando assim, um tempo menor para que ocorra a osseointegração.

Este estudo objetiva a comparação entre dois tipos de tratamento de superfície de implantes de titânio, superfícies estas que serão analisadas em nível estrutural e ultra-estrutural, e a comparação da resposta óssea a esses tratamentos por meio de histomorfometria *in vivo*.

## 2 REVISTA DE LITERATURA

Segundo Conforto et al. (2004), as técnicas de tratamento na superfície dos implantes dentários têm sido desenvolvidas a fim de promover rugosidade micrométrica, do tamanho de células ósseas, garantindo a melhor osseointegração, fixação e estabilidade possíveis. Nesse sentido, os materiais mais indicados para ser usados como biomateriais são o titânio e suas ligas, tratados superficialmente ou recobertos por camadas rugosas metálicas ou cerâmicas.

Lausmaa (1996) refere que o titânio é um biomaterial utilizado com sucesso em escala relativamente ampla, especialmente nos campos ortopédicos e odontológicos. A camada de óxido passivado que recobre o titânio é considerada um fator importante para a resposta favorável do tecido ao implante de titânio. Contudo, se esta camada for excessivamente espessa, podem ocorrer falhas adesivas na interface do implante.

Deligianni et al. (2001), cita que as propriedades da superfície do implante, a energia de superfície, a topografia e a rugosidade, bem como as propriedades químicas da superfície influenciam a resposta inicial das células na interface implante-tecido, influenciando diretamente a taxa e a qualidade da formação do novo tecido ósseo.

Ronold, Lyngstadaas e Ellingsen (2003) demonstraram o efeito da rugosidade superficial na adesão óssea de implantes de titânio na forma de discos implantados em tíbias de coelhos, indicando uma nova metodologia para avaliação da osseointegração, a qual, apesar de mais complexa, fornece resultados extremamente precisos e normatizados para a avaliação do tratamento superficial em testes *in vivo*.

Buser et al. (2004) relata que a rugosidade da superfície afeta os processos de adsorção de proteínas, interação célula-superfície e o desenvolvimento celular-tecidual na interface osso-implante. Fatores estes, relevantes para a funcionalidade do dispositivo implantado.

Conforme Le Guéhennec (2007) a modificação da superfície do implante em uma escala a nível nanométrico, promove maior adsorção de proteínas e adesão celular, aumentando a osteocondução e acelerando o processo de reparo ósseo na área perimplantar.

## 2.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS IMPLANTES

A composição química dos implantes dentários pode variar dependendo da superfície e do tipo de material utilizado na sua confecção. Eles podem ser confeccionados em titânio comercialmente puro ou em ligas de titânio. O comercialmente puro possui vários graus de pureza, variando de 1 a 4. Essa pureza é relacionada à presença de oxigênio, carbono e ferro. A maioria dos implantes comercializados é de grau 4 por ser mais resistentes.

A composição química também afeta a hidrofiliabilidade da superfície. Superfícies hidrofílicas são mais desejáveis do que as hidrófobas no que se refere à interação com os fluidos biológicos, células e tecidos. (BUSER, 2004; ZHAO et al., 2005)

## 2.2 RUGOSIDADE DE SUPERFÍCIE

Vários trabalhos relatam que a rugosidade da superfície afeta a taxa de osseointegração e de fixação biomecânica dos implantes dentários (COCHRAN et al., 1998; WENNERBERG et al., 1998). A rugosidade pode ser dividida em três níveis de acordo com as características da sua topografia, ou seja, o tamanho das rugosidades ou poros em: macroporos, microporos e nanoporos (LE GUÉHENNEC, 2007).

A macro-rugosidade pode ser definida pela característica topográfica que varia de milímetros a dezenas de microns. São os implantes com tratamentos de superfície acima de 10  $\mu\text{m}$ . Numerosos trabalhos relatam melhoria da fixação precoce e da estabilidade mecânica em comparação a superfície lisa (BUSER, 1991; WENNERBERG et al., 1995), porém, aumenta o risco de peri-implantite (BECKER, 2000).

Superfícies em escala nanométrica desempenham um papel importante na adsorção de proteínas, adesão de osteoblastos e, em razão disso, na osseointegração (BRETT, 2004). Entretanto, ainda é desconhecido um nível ótimo

de rugosidade nanométrica para que se obtenha todas as propriedades de adesão celular, seletividade para adsorção de proteína e rápida aposição óssea.

Vários métodos são utilizados para a confecção da rugosidade de acordo com o nível desejado. Como por exemplo, o jateamento com partículas, o ataque ácido, a anodização ou a combinação de métodos.

### **3 PROPOSIÇÃO**

O presente estudo tem como objetivo avaliar a ultraestrutura da superfície do implante através da microscopia eletrônica de varredura e, a resposta histológica da interface osso-implante através da histomorfometria da osseointegração de duas superfícies de implantes - superfície tratada com jato+ácido e superfície tratada com nanopartículas – em modelo animal, nos tempos de 30 e 60 dias.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais, sob registro CEUA 08/00064.

Para a realização deste projeto de pesquisa, foram utilizadas as seguintes superfícies de implantes:

A) Jato+ácido - 11 implantes Neodent® (Curitiba – Paraná –Brasil) - Titamax EX Cone Morse® com 3.75 mm de diâmetro e 13 mm de comprimento.

A.1) Dez implantes foram utilizados *in vivo*;

A.2) Um implante foi avaliado em suas características de superfície por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

B) Nanoparticulado - 11 implantes Neodent® (Curitiba – Paraná – Brasil) - Titamax EX Cone Morse® com 3.75 mm de diâmetro e 13 mm de comprimento.

B.1) Dez implantes foram utilizados *in vivo*;

B.2) Um implante foi avaliado em suas características de superfície por MEV.

Ambos os tratamentos de superfície pertencem a Neodent® (Laboratório de Bioengenharia - Curitiba - Brasil).

Para a realização desta pesquisa foram utilizados os seguintes laboratórios:

- a) Bloco cirúrgico do Hospital Veterinário da UFRGS;
- b) Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da PUCRS;
- c) Laboratório de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia da PUCRS;
- d) Centro de Microscopia e Microanálises da PUCRS;
- e) Laboratório de Bioengenharia da Empresa Neodent® (Curitiba-Brasil).

Para melhor delineamento da pesquisa os animais foram divididos em dois grupos (Grupo 1 – 30 dias e Grupo 2 – 60 dias).

A disposição dos implantes foi idealizada com intuito de otimizar o número de implantes mediante a disponibilidade óssea. A posição em que os implantes foram colocados nas ovelhas está de acordo com os quadros 1 e 2 abaixo:

Ovelha – Ossos	Amostras	Grupo I (30 dias)
Ulna lado direito	Jato+ácido (1) Nanoparticulado (2)	3 implantes
Ulna lado esquerdo	Jato+ácido (2) Nanoparticulado (1)	3 implantes
Tíbia lado direito	Jato+ácido (1) Nanoparticulado (1)	2 implantes
Tíbia lado esquerdo	Jato+ácido (1) Nanoparticulado (1)	2 implantes
Total		10 implantes

Quadro 1 - Disposição dos implantes no Grupo I  
Fonte: O autor (2008)

Ovelha – Ossos	Amostras	Grupo II (60 dias)
Ulna lado direito	Jato+ácido (1) Nanoparticulado (2)	3 implantes
Ulna lado esquerdo	Jato+ácido (2) Nanoparticulado (1)	3 implantes
Tíbia lado direito	Jato+ácido (1) Nanoparticulado (1)	2 implantes
Tíbia lado esquerdo	Jato+ácido (1) Nanoparticulado (1)	2 implantes
Total		10 implantes

Quadro 2 - Disposição dos implantes no Grupo II  
Fonte: O autor (2008)

#### 4.1 MODELO ANIMAL - OVELHA

O presente estudo tem como base a metodologia utilizada por Cunha et al. (2007). A amostra foi constituída de duas ovelhas da espécie *Ovis aries*, adultas, de aproximadamente 18 meses, com peso de 40 kilogramas cada. Foram escolhidas ovelhas fêmeas devido à disponibilidade dos animais e também mediante o estudo de Turner (1995), que mostra alterações em densidade óssea somente em ovelhas acima de quatro anos de idade e ovariectomizadas, situações ausentes nas ovelhas e portanto, sem repercussões para o presente estudo. Cada ovelha disponibilizou 10 amostras em tempos diferentes e pré-definidos, sendo que duas ovelhas foram suficientes para uma adequada avaliação.

Os ovinos eram clinicamente sadios e foram submetidos a controle de ectoparasitas e endoparasitas antes de constituírem a população desta pesquisa. Fezes foram coletadas para exames parasitológicos periódicos, no intuito de se excluir espécimes que apresentassem evidências de infestação. Os animais foram criados pelo método *Ran Rotacional*, de criação heterogênica e mantidos em condições sanitárias de biotério convencional.

Para a realização desta pesquisa adotaram-se princípios éticos em experimentação animal, preconizados pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (Concea) e pela Legislação Brasileira de Animais de Experimentação, a Lei Arouca, que regulamenta as normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais.

Durante todo o período da pesquisa, os animais ficaram alojados sob condições satisfatórias. Receberam alimentação do tipo sólida, semelhante às criações comerciais (feno, silagem, pasto) e água durante todo o experimento. Os animais foram etiquetados, através de uma coleira, e identificados de acordo com o número do grupo a que pertenciam, data de nascimento, peso, data da cirurgia, nome do pesquisador e do orientador responsável pelo experimento.

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em dois grupos de acordo com o período de morte após o procedimento cirúrgico (30 e 60 dias). Portanto, no grupo 1 a ovelha foi submetida à morte 30 dias após a cirurgia, e no grupo 2 após 60 dias.

## 4.2 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no bloco cirúrgico do Hospital Veterinário da UFRGS, sob a supervisão do médico veterinário Prof. Dr. Marcelo Alievi, obedecendo às normas de biossegurança.

Os animais tiveram dieta sólida suspensa por 12 horas e água suspensa por 6 horas antes do procedimento cirúrgico.

Para o procedimento anestésico e cirúrgico, cada animal foi colocado sobre uma prancha cirúrgica, em decúbito lateral e imobilizado.

Para a medicação pré-anestésica, administrou-se 0,1 mg/kg de maleato de acepromazina (Acepran 1%) e 2 mg/kg de meperidina (Dolosal) por via intramuscular (IM). Após 15 minutos, obtido acesso vascular jugular e administrado imediatamente 20 mg/kg de cefalotina sódica. A indução anestésica foi realizada com propofol (4 mg/kg), via intravenosa (IV) e, após intubação orotraqueal, a anestesia se procedeu com isoflurano em oxigênio a 100%, através de sistema reinalatório de anestesia. Associou-se à anestesia geral inalatória, infiltração local, na região de incisão, de lidocaína 2% com adrenalina 1:100.000. Durante a intervenção cirúrgica administrou-se solução fisiológica 0,9%, em gotejamento venoso de 20 ml/kg e a monitoração das funções vitais foram mantidas durante todo o período anestésico.

Após a obtenção do efeito anestésico, realizou-se cuidadosa tricotomia nas regiões das tíbias e das ulnas, evitando escoriações. A anti-sepsia da pele do animal foi realizada com solução de álcool iodado a 2%. Foram colocados os campos cirúrgicos e realizada a infiltração local de lidocaina 2% com vasoconstrictor.

O acesso às tíbias e às ulnas foi obtido por meio de incisão longitudinal, com 10 centímetros de extensão, realizadas na pele e tecido subcutâneo acompanhando o eixo longo dos ossos. Para a incisão utilizou-se lâmina de bisturi número 24 montada em cabo de bisturi número 4. A pele e o tecido subcutâneo foram divulsionados com as pontas rombas de uma tesoura tipo *Metzemaum* até o perióstio ser exposto (Figura 1).

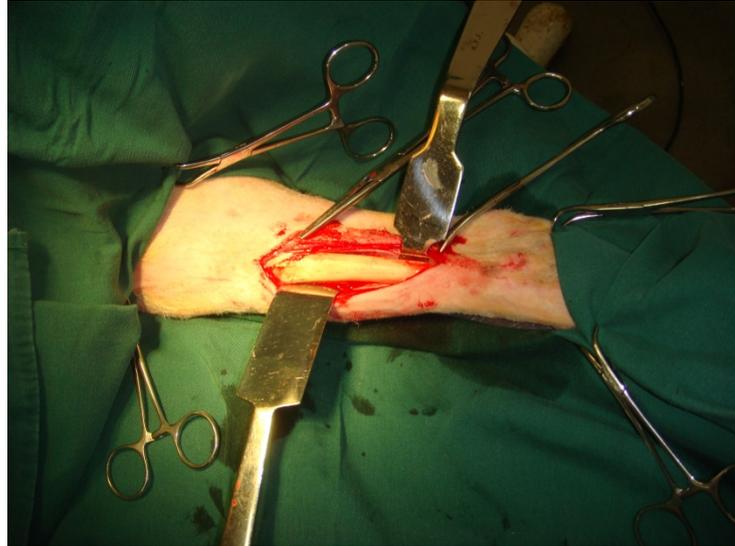


Figura 1 - Exposição da tíbia para a inserção dos implantes  
Fonte: O autor (2008)

Após esta etapa, os implantes foram inseridos com distância média de 10 mm entre si, medidas por um compasso cirúrgico tipo castroviejo. As perfurações e inserções dos implantes foram realizadas conforme as especificações do fabricante.

A sutura dos planos anatómicos foi realizada com pontos interrompidos simples. Para a sutura do perióstio e do tecido muscular utilizou-se o fio Monocryl® 4-0 (Johnson & Johnson) e da pele, o fio Mononylon® 3-0 (Johnson & Johnson).

Como protocolo analgésico pós-operatório antiinflamatório não-esteroidal (Cetoprofeno 1mg/kg IM 24 - 24 horas por 3 dias) e opióide (Tramadol 2mg/kg IM 12 - 12 horas por 48 horas) foram utilizados. A sutura cutânea foi removida após 10 dias.

Ao término do procedimento cirúrgico os animais foram recolocados em suas baias originais e assistidos diariamente pelos técnicos e pesquisadores até a data prevista para a morte.

### 4.3 PREPARO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Nos intervalos de tempo determinados, a morte dos animais foi realizada através de injeção endovenosa letal de 200mg de Tiopental®, a fim de evitar o sofrimento dos animais e de proporcionar uma manipulação mais correta sob o ponto de vista bioético e respeitando a Declaração dos Direitos dos Animais.

Após a constatação da morte, os ossos da ulna e da tíbia foram removidos com os dispositivos fixos, com o auxílio de uma broca montada em peça de mão. Em seguida, as amostras obtidas foram fixadas em solução de glutaraldeído 2% durante o período de 72 horas. Cada recipiente foi identificado com o número código do animal e o grupo a que pertenciam. Os restos mortais foram acondicionados em sacos de lixo e depositados no lixo sanitário do Hospital Veterinário da UFRGS.

Após 72 horas de fixação as amostras foram confeccionadas da seguinte forma:

a) Blocos ósseos contendo os implantes foram removidos, preservando uma área óssea ao redor dos mesmos de 4mm, e catalogados. Foram desidratados em solução alcoólica progressiva de 70, 80, 90 e 100% com períodos de 24 horas entre as soluções (Laboratório de Patologia FO-PUCRS). Depois disso houve a inclusão dos mesmos em resina para MEV e então foram cortados com micrótomo Lab Cut 1010 (Extec – Enfield – USA) observando o longo eixo dos implantes, obtendo assim 20 amostras por grupo. (Laboratório de Materiais Dentários da FO-PUCRS).

b) Após o corte, as amostras foram preparadas com polimento por meio de lixas progressivas (800 - 2400).

c) Em seguida foram metalizadas para a investigação em MEV.

#### 4.4 ANÁLISE POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

O Centro de Microscopia e Microanálises da PUCRS, concedeu a utilização do microscópio da marca Phillips modelo XL 30.

Um implante de cada tipo de tratamento de superfície foi investigado para identificação de contaminantes de superfície, determinação das características de rugosidade e composição superficial através de EDS.

Os aumentos preconizados foram de 50x, 150x, 500x, 1000x, 5000x e 10000x.

EDS (energy dispersive x-ray detector) foi aplicado ao aumento de 5000x.

A avaliação histomorfométrica foi feita a partir dos cortes com aumento de 150x. As áreas analisadas foram as roscas centrais dos implantes osseointegradas a cortical óssea. As imagens foram analisadas no programa Image J Pro Plus em ambiente Windows XP. A análise foi feita por um operador cegado e calibrado por meio de repetições de medidas em amostras de outros estudos e, após treinamento e calibragem foi submetido à coleta de medidas conforme figura abaixo.

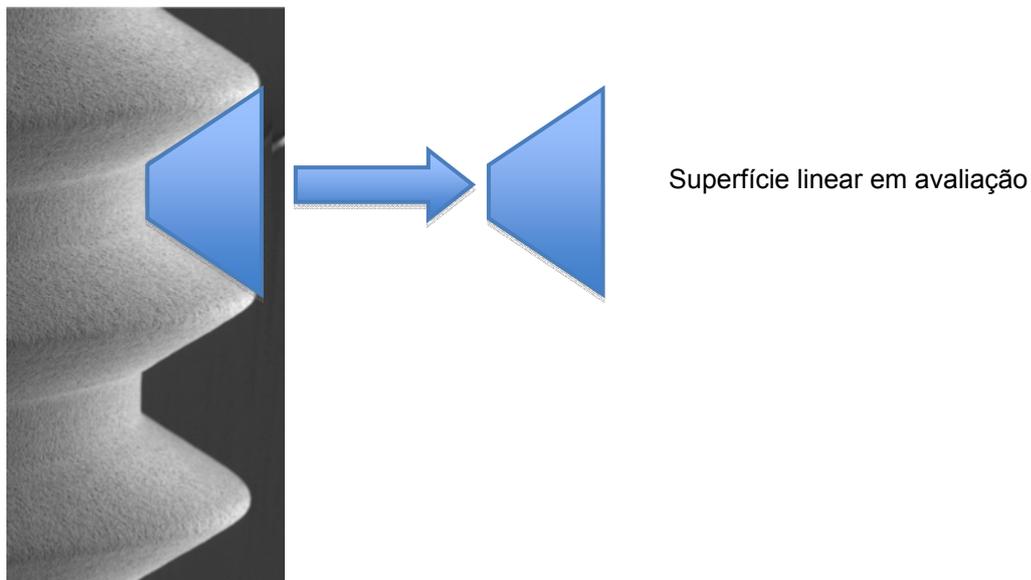


Figura 2 - A histomorfometria avalia na interface osso-implante a área de contato ósseo na região delimitada

Fonte: O autor (2008)

#### 4.5 ANÁLISE DOS DADOS

A análise estatística utilizada foi a de múltipla variância (ANOVA) para comparação dos resultados intra-grupo e inter-grupos ao longo de 30 e 60 dias. Subdivisões do teste ANOVA foram empregadas para conferência dos resultados obtidos. Neste momento foram comparados os resultados das áreas de contato ósseo na interface osso-implante associado aos vales e cristas de cada tratamento de superfície.

## 5 RESULTADOS DESCRITIVOS

### 5.1 RESULTADOS DESCRITIVOS DA MEV DE SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES

A MEV de superfície revelou características diferentes para os tratamentos e segue-se sua descrição.

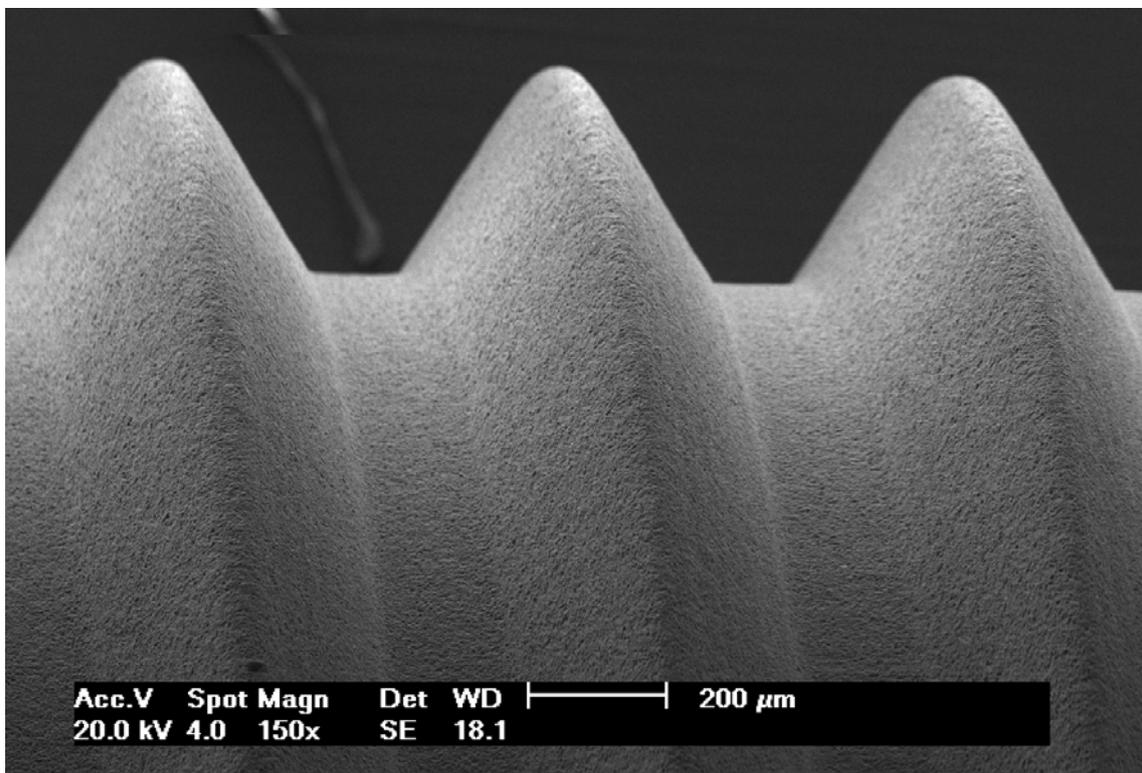


Figura 3 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 150x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 3 simetria de cristas e vales, ausência de contaminantes de superfície, ausência de ranhuras de usinagem, distribuição uniforme e linear da rugosidade de superfície produzida pela técnica de jateamento e ataque ácido da superfície do titânio.

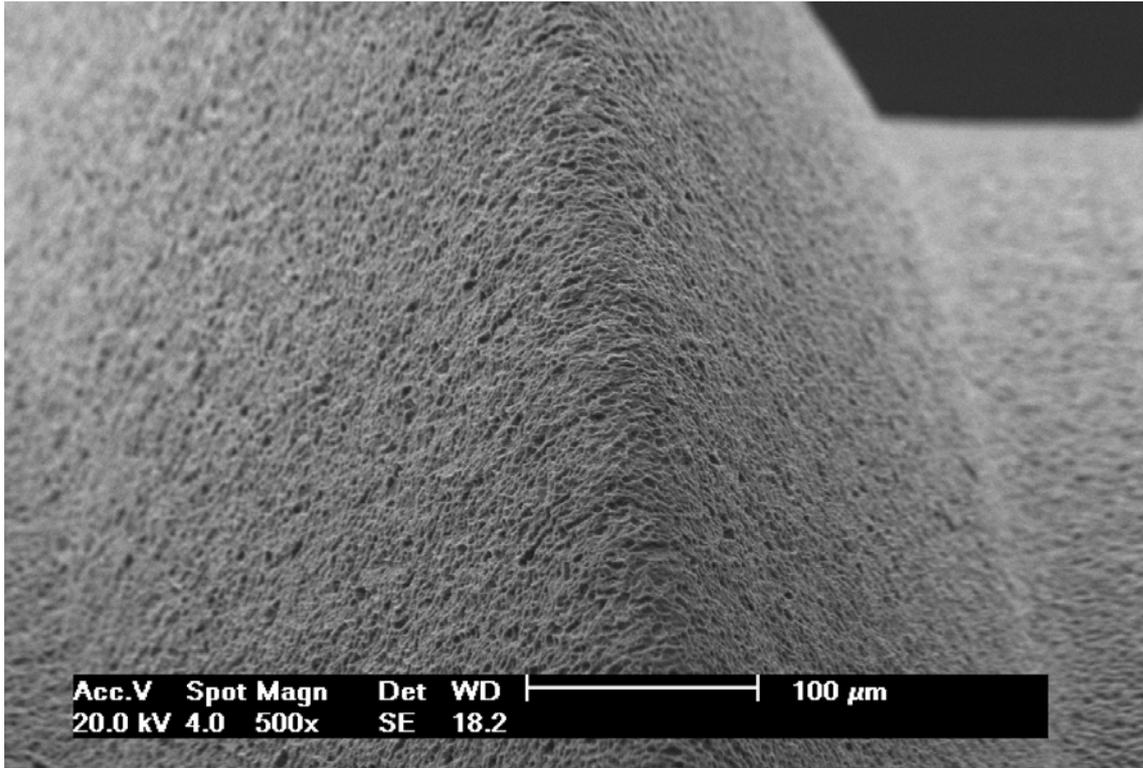


Figura 4 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 500x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 4 a ausência de contaminantes de superfície associada a crista de uma rosca e com vista parcial do vale, ao fundo, no lado direito. Em relação à rugosidade, ela está uniforme por toda a imagem assim como a distribuição dos poros na superfície que está homogênea.

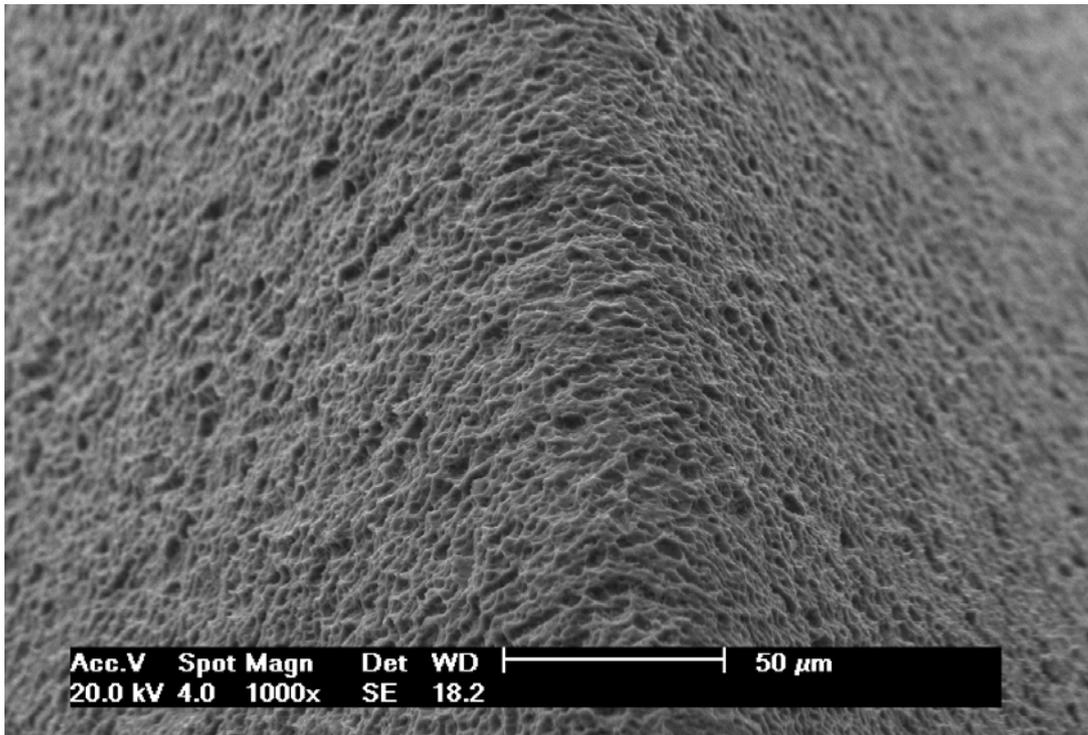


Figura 5 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 1000x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 5 observa-se ausência de falhas no preparo da superfície. Nesta imagem a crista de uma rosca está ao centro e o mesmo padrão uniforme de rugosidade está presente. Os poros apresentam-se distribuídos de forma adequada em ambos os vértices da crista da rosca.

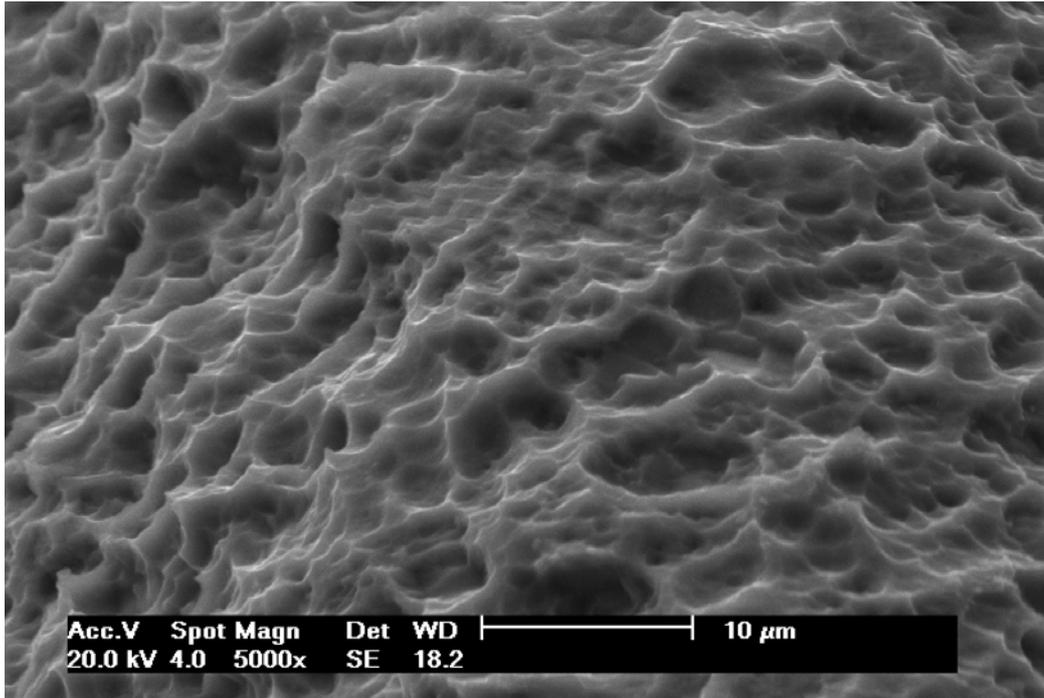


Figura 6 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 5000x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 6 observa-se a ultraestrutura da superfície de titânio. A imagem demonstra poros na superfície iguais ou menores que  $10\mu\text{m}$ . A superfície apresenta-se livre de contaminantes e com a porção interna dos poros totalmente regular. A superfície é rugosa em sua estrutura superior e regular no interior dos poros.

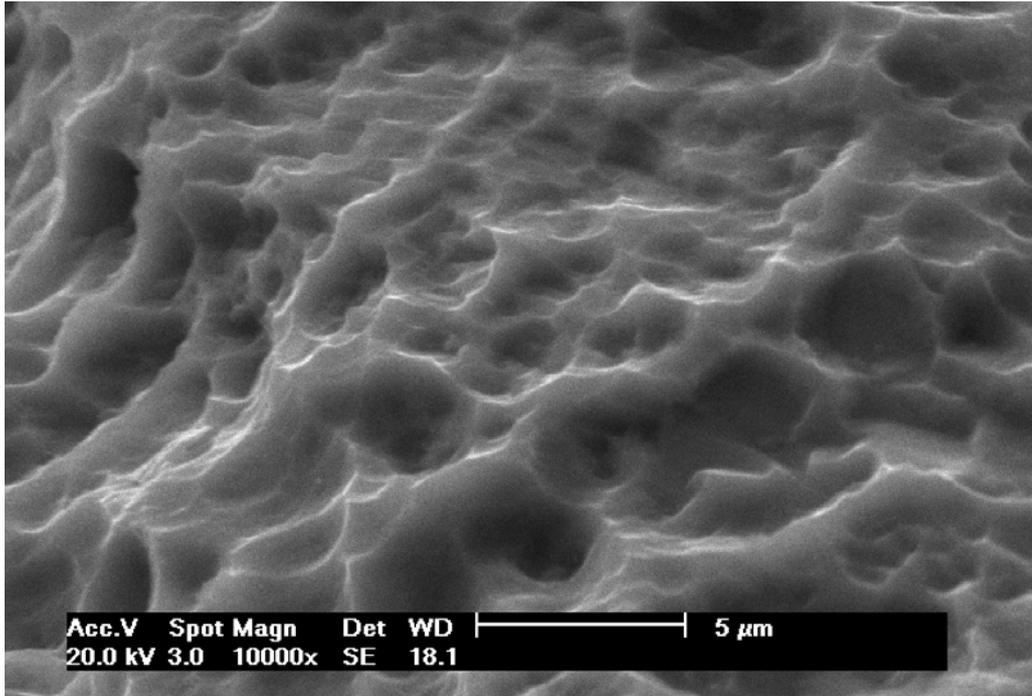


Figura 7 - Superfície de Jato+ácido. Aumento de 10000x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 7 a ultraestrutura interna dos poros, que se apresentam com medidas médias de 5 $\mu$ m de diâmetro. A superfície interna dos poros apresenta-se uniforme e livre de contaminantes. Os poros são irregulares em forma e apresentam profundidades variáveis.

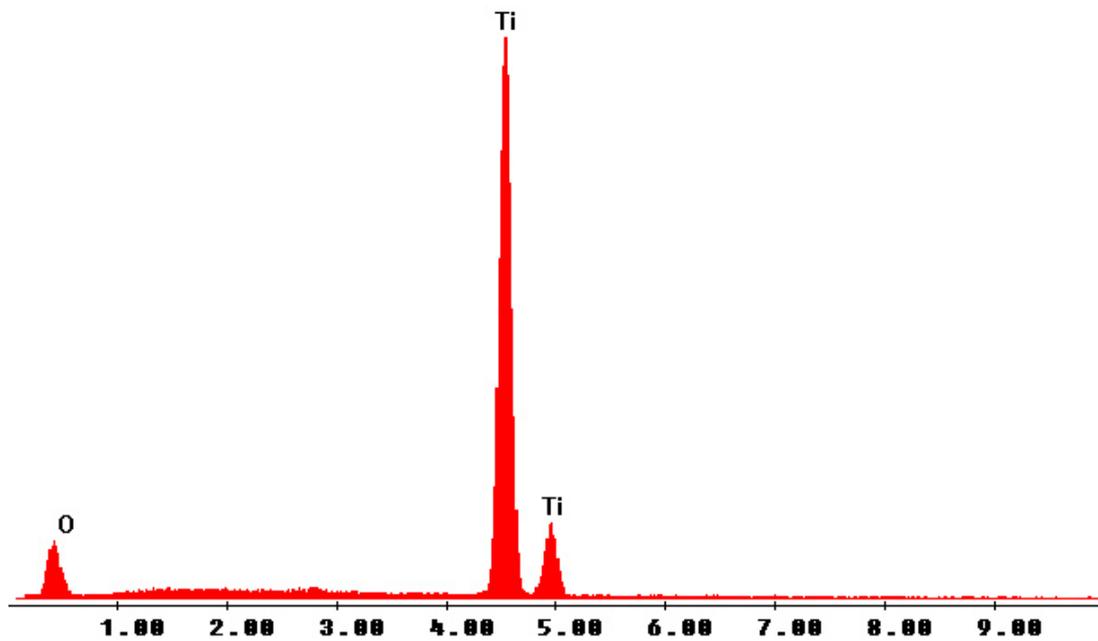


Gráfico 1 - EDS da superfície Jato+ácido  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se no gráfico 1 a identificação de somente um elemento metálico da tabela periódica – titânio.

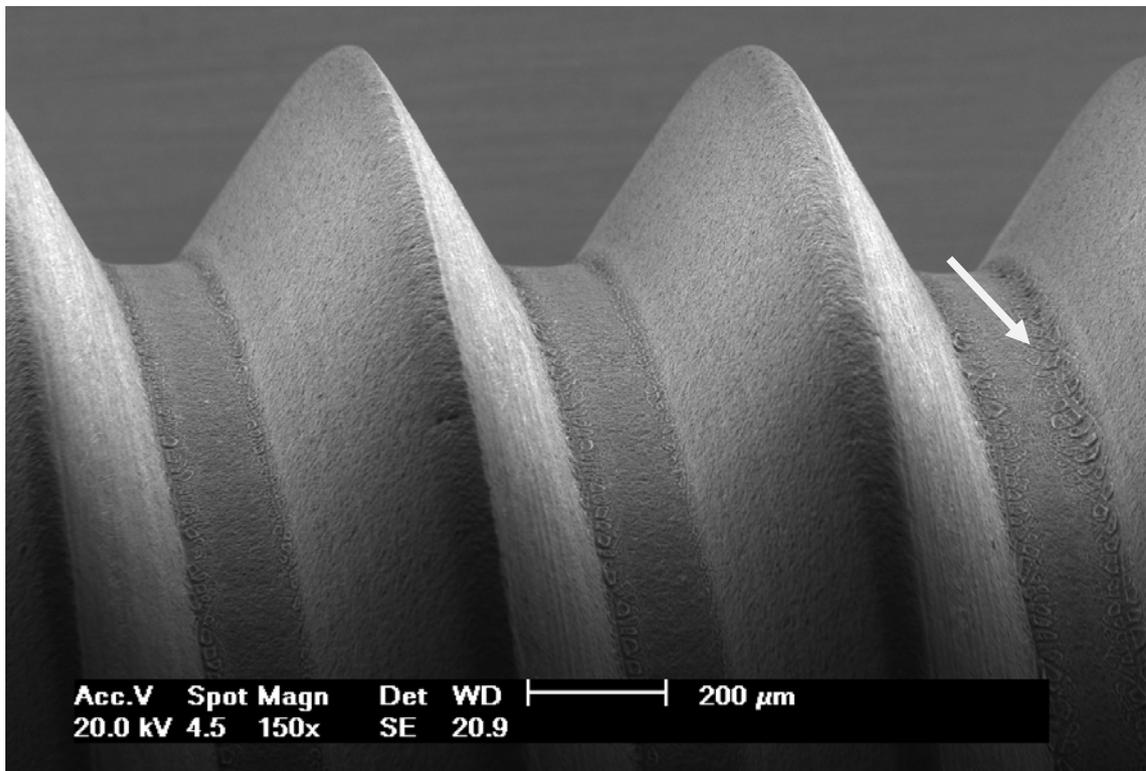


Figura 8 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 150x  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 8 ausência de contaminantes de superfície e falhas na usinagem das roscas. Uniformidade de superfície em nível das cristas das roscas. Presença de crostas (seta) em nível do vale em ambos os ângulos de contato com os vértices da crista.

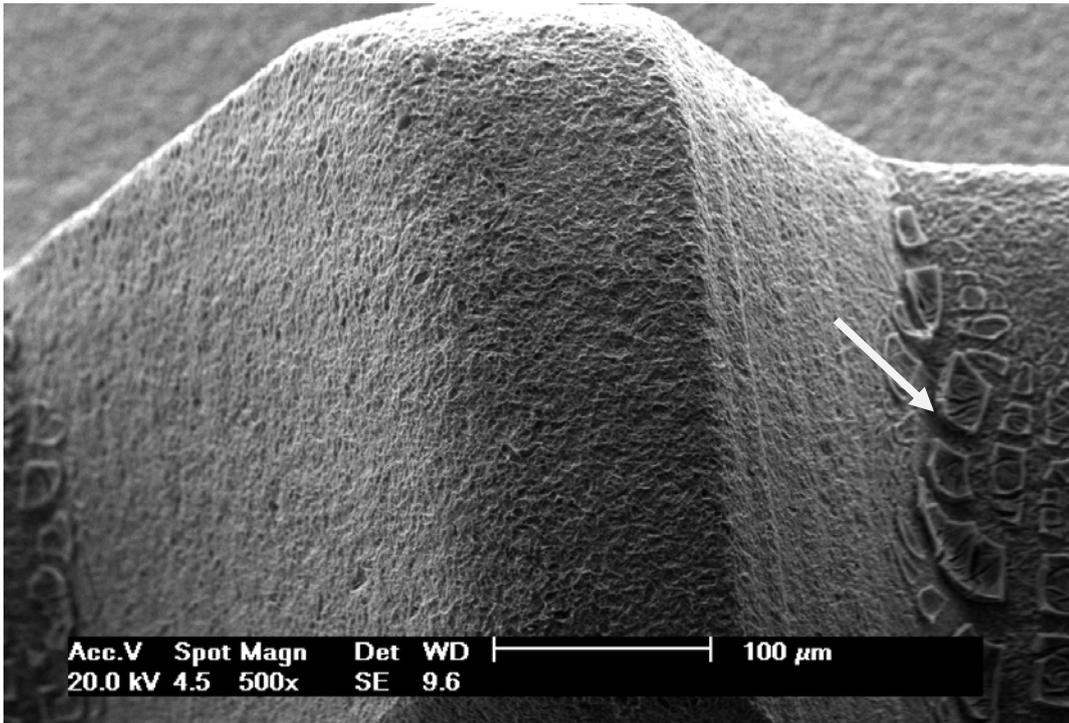


Figura 9 - Superfície Nanométrica. Aumento de 500x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 9 observa-se a uniformidade de rugosidade na superfície da crista da rosca. Ausência de contaminantes na superfície e falhas na usinagem. Ao nível do vale se observa crostas irregulares elevadas em relação à superfície (seta).

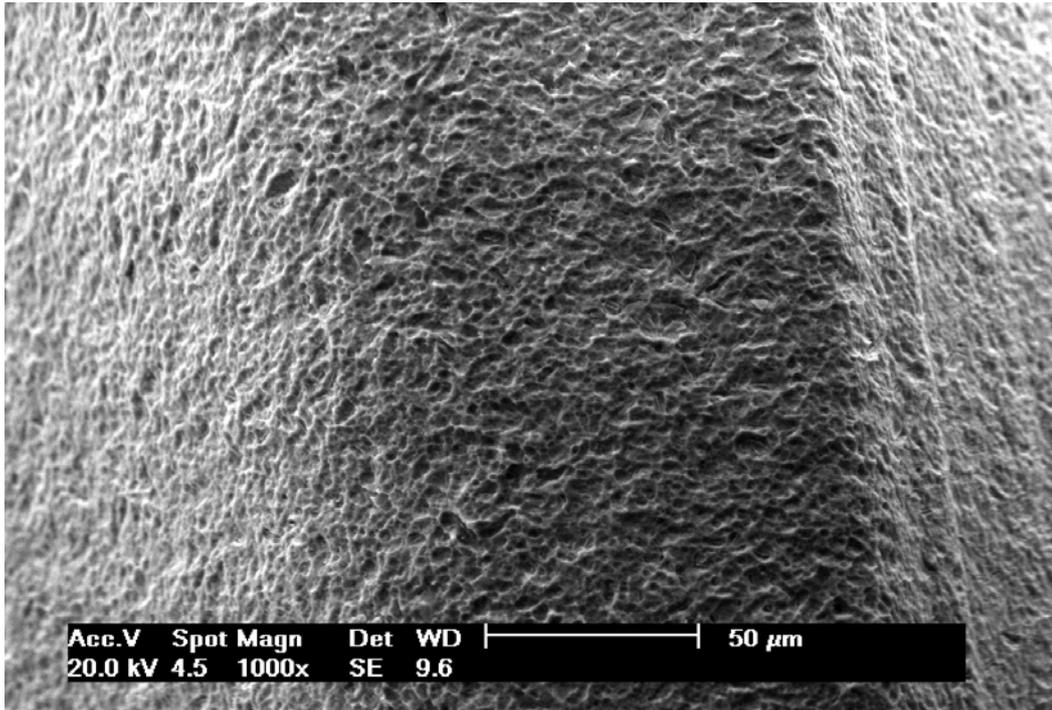


Figura 10 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 1000x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 10 observa-se a nível da crista da rosca a uniformidade do tratamento do titânio, rugosidade de superfície com poros de diâmetros variados, ausência de contaminantes.

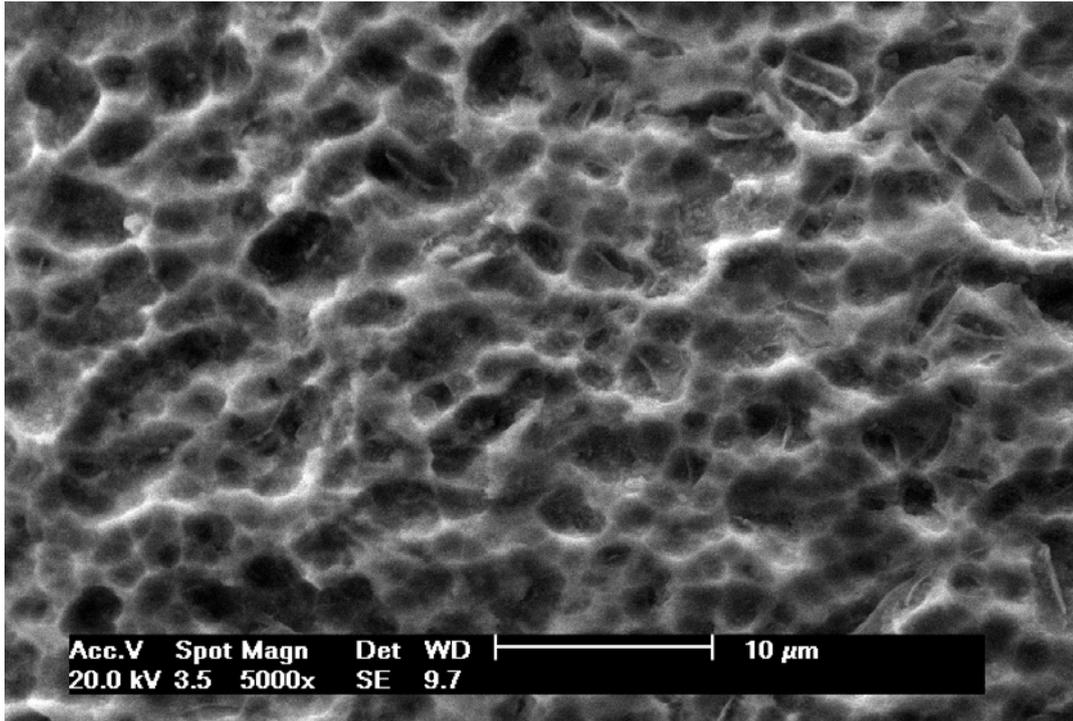


Figura 11 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 5000x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 11 a ultraestrutura da superfície rugosa com seus poros com no máximo 10 $\mu$ m de diâmetro. Ao fundo dos poros observa-se estruturas menores circulares e em forma de filamentos.

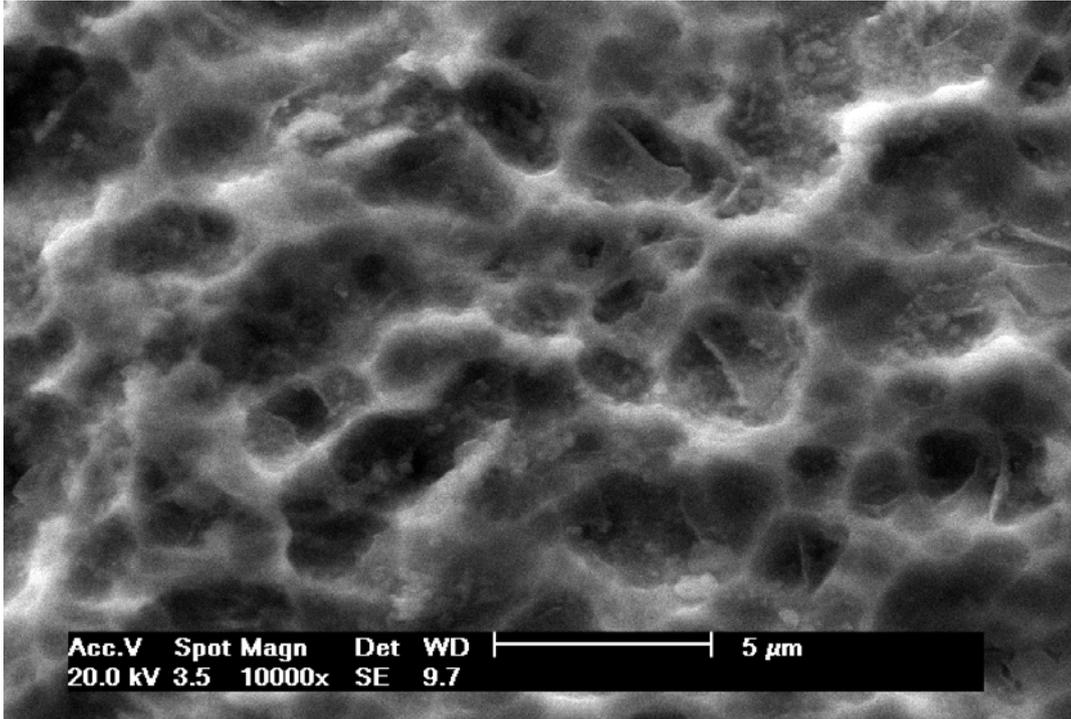


Figura 12 - Superfície Nanoparticulada. Aumento de 10000x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 12 observa-se a ultraestrutura da superfície rugosa com seus poros e conteúdo de nanopartículas de titânio. O diâmetro médio dos poros é de  $5\mu\text{m}$  e sua superfície interna apresenta subdivisões menores de titânio de forma esférica e em forma de filamentos. Estas nanopartículas não estão dispostas uniformemente em relação aos poros, mas são observados em todos os poros visíveis.

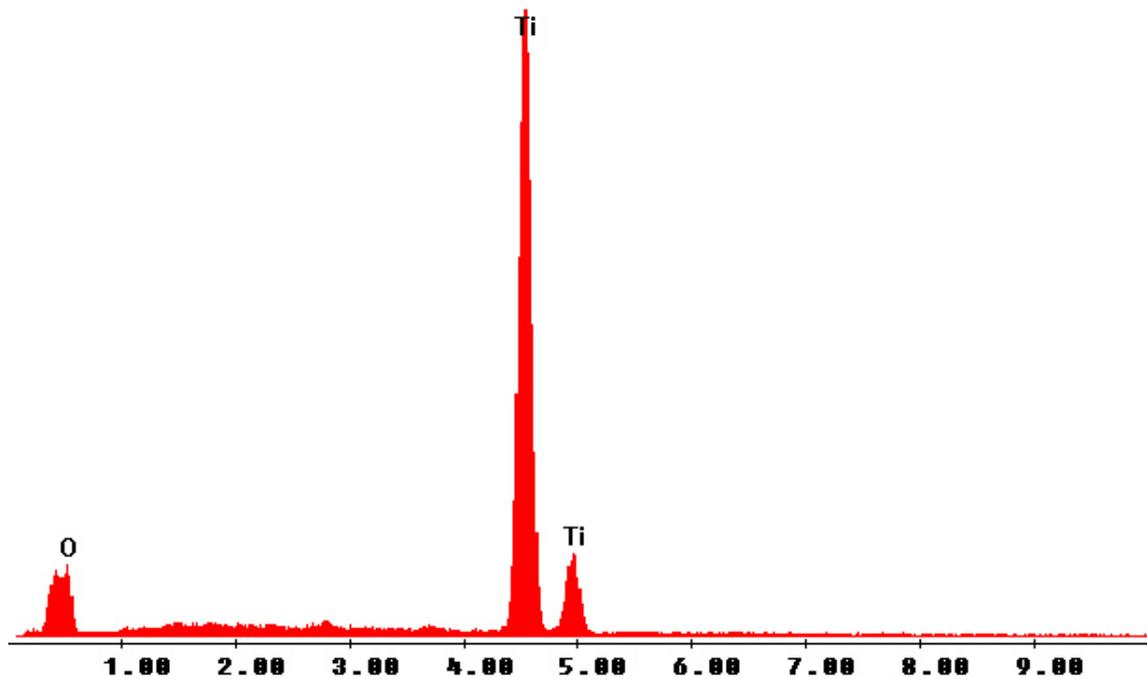


Gráfico 2 - EDS da superfície Nanoparticulada  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se no gráfico 2 que o único elemento metálico da tabela periódica encontrado foi o titânio.

## 5.2 RESULTADOS DESCRITIVOS DA MEV EM RELAÇÃO À OSTEINTEGRAÇÃO

A osteointegração foi obtida em ambas as superfícies segundo os períodos de 30 e 60 dias. Diferenças foram encontradas em relação ao contato osso-implante nas imagens. Segue-se a descrição ultraestrutural das amostras, segundo os seus tempos de osseointegração e tratamentos de superfície:

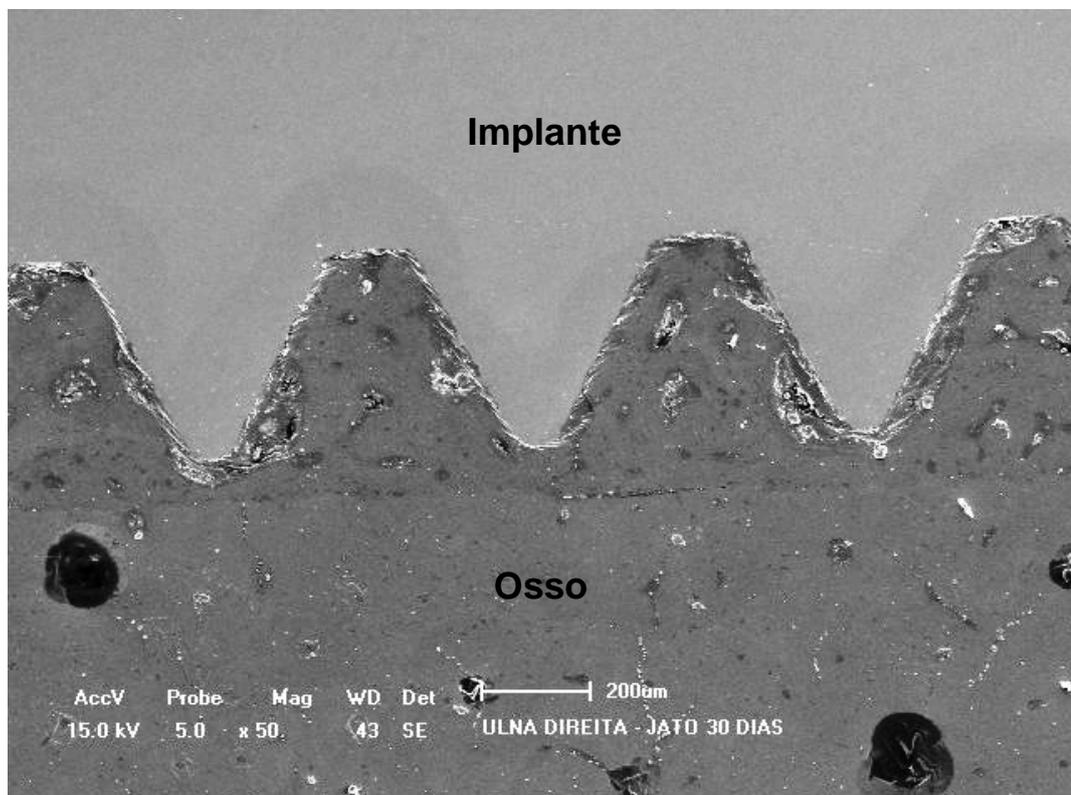


Figura 13 - Superfície Jato+ácido 30 dias. Aumento de 50x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 13 a integração óssea em relação à superfície do titânio. Neste corte de 30 dias a interface osso-implante apresentou osseointegração dentro dos padrões esperados.

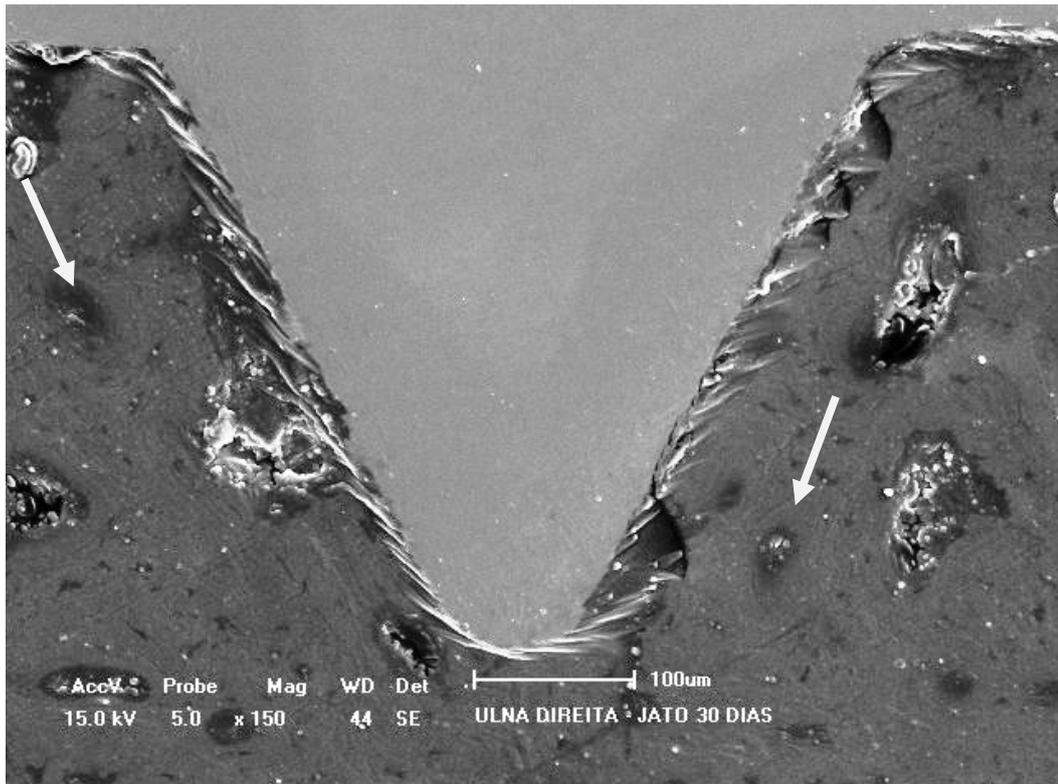


Figura 14 - Superfície Jato+ácido 30 dias. Aumento de 150x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 14 observa-se o vale e as arestas de duas cristas com preenchimento de osso. Sistemas e canais de Havers visíveis (seta) como pontos mais densos demonstrando que o osso cortical apresenta-se com função normal em regiões associadas à crista e vale da rosca. Rebarbas são visualizadas como linhas esbranquiçadas em meio à interface.

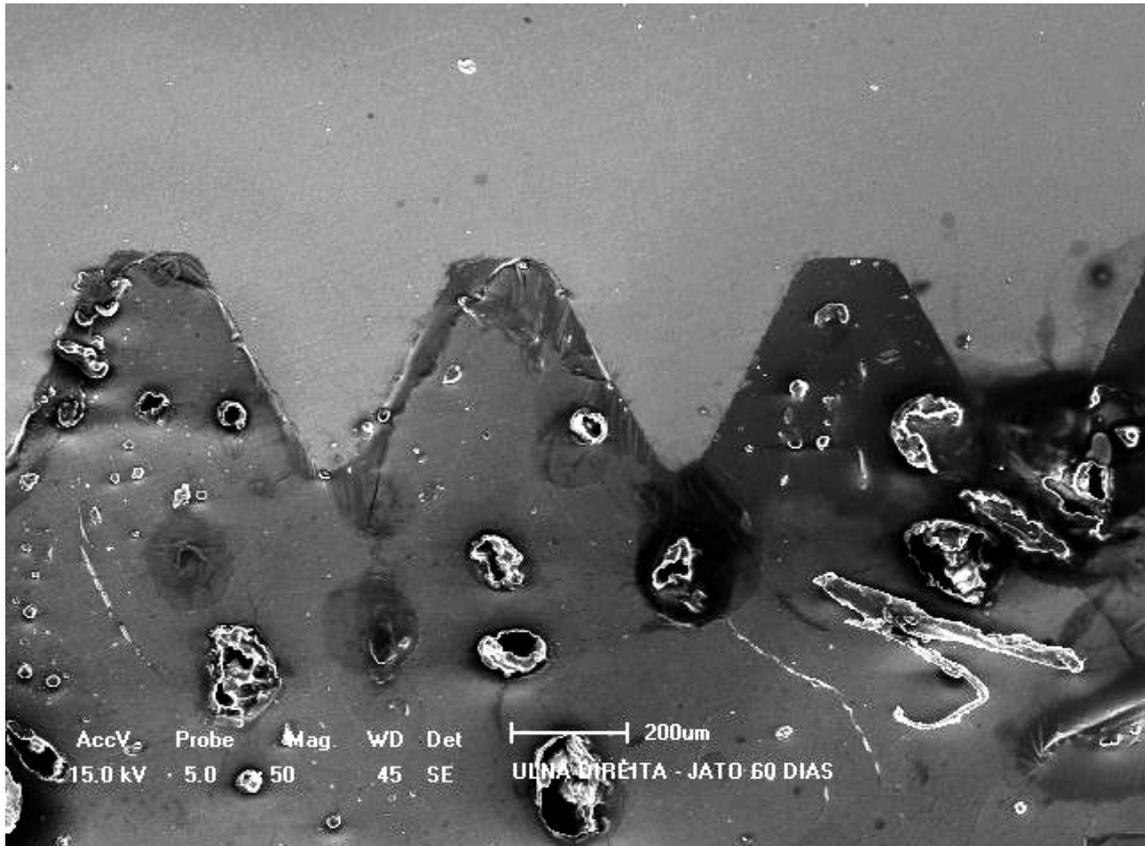


Figura 15 - Superfície Jato+ácido 60 dias. Aumento de 50x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 15 observa-se a osteointegração com aumento da densidade óssea associada à superfície do implante em relação às áreas ósseas mais distantes. Rebarbas de titânio em formas circulares e lineares estão dispersas em meio a superfície óssea.

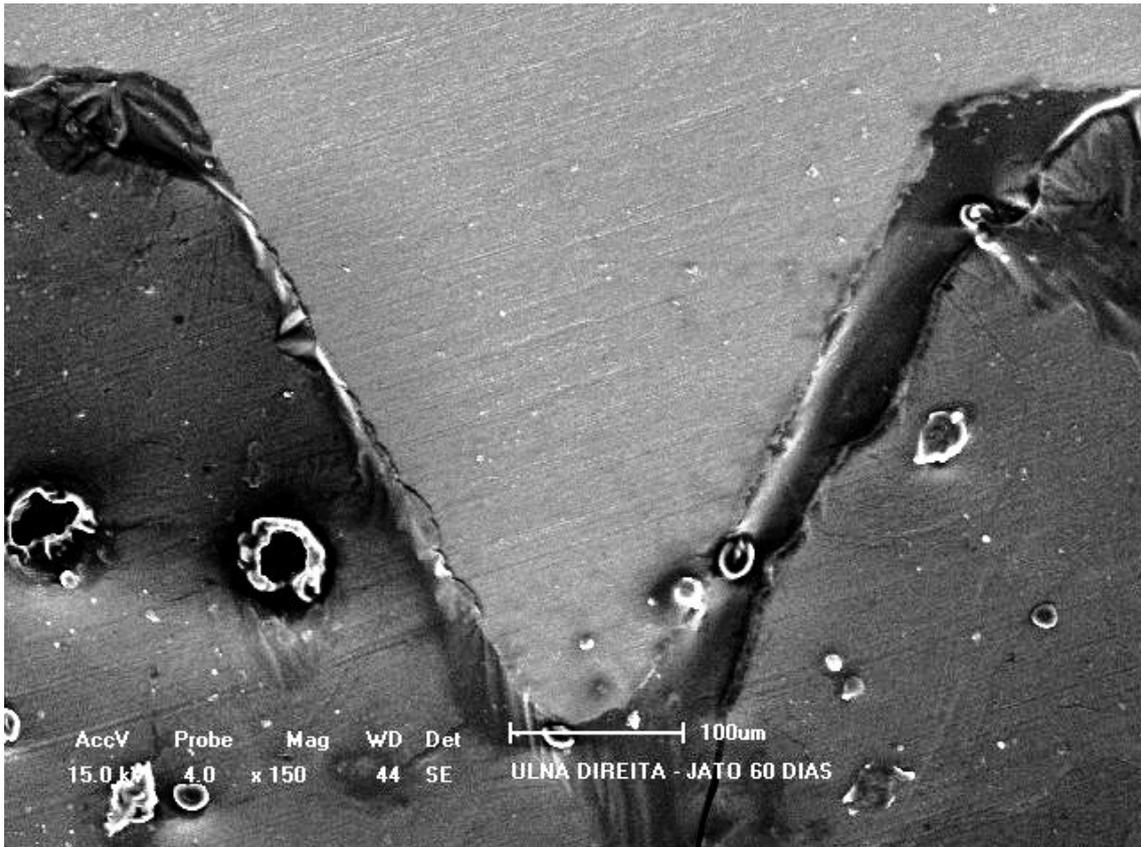


Figura 16 - Superfície Jato+ácido 60 dias. Aumento de 150x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se nesta imagem a justaposição óssea em relação ao titânio. Aumento da densidade óssea representada pelo leve escurecimento da imagem na porção mais inferior da mesma.

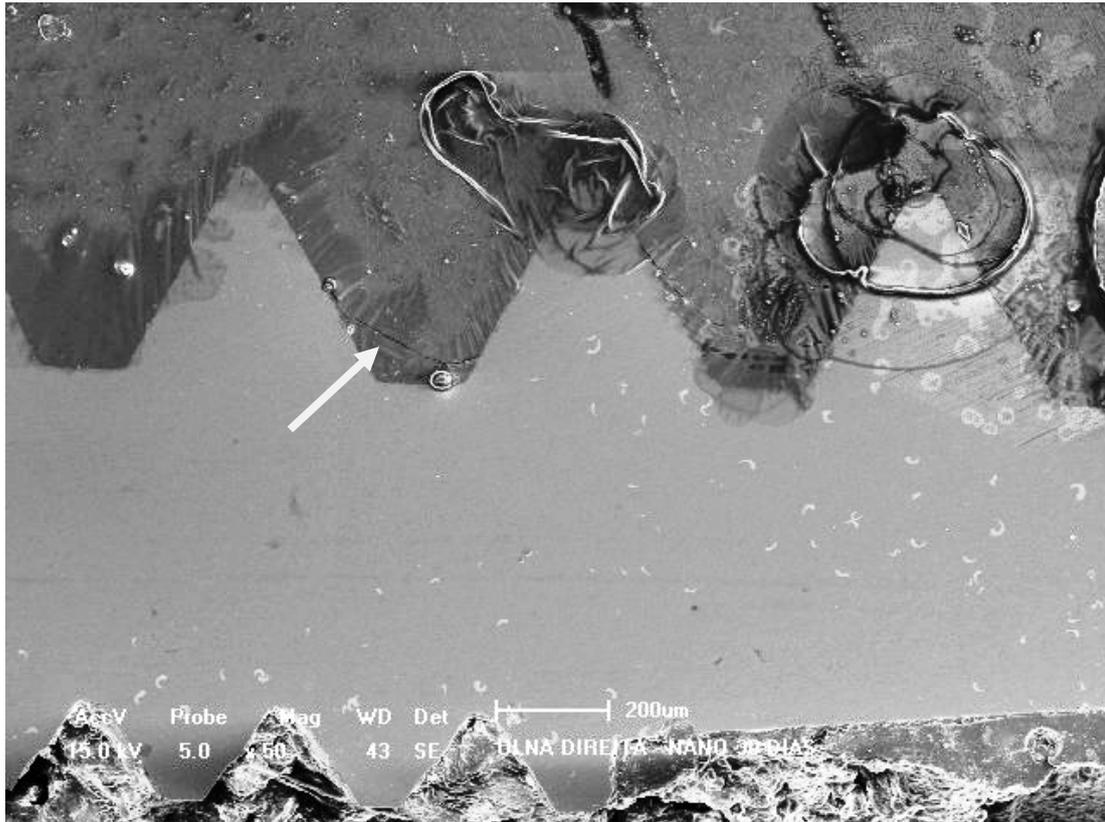


Figura 17 - Superfície Nanoparticulada 30 dias. Aumento de 50x em MEV  
 Fonte: O autor (2008)

Nesta imagem observa-se justaposição óssea associada à superfície do titânio, com aumento da densidade ao redor das cristas representada pelo tom de cinza nestas regiões. Excesso de deposição de metalização nas regiões elevadas (centro e a direita). Pequena linha de artefato de ponto crítico – aspecto de rachadura – em meio a um vale das roscas (seta).

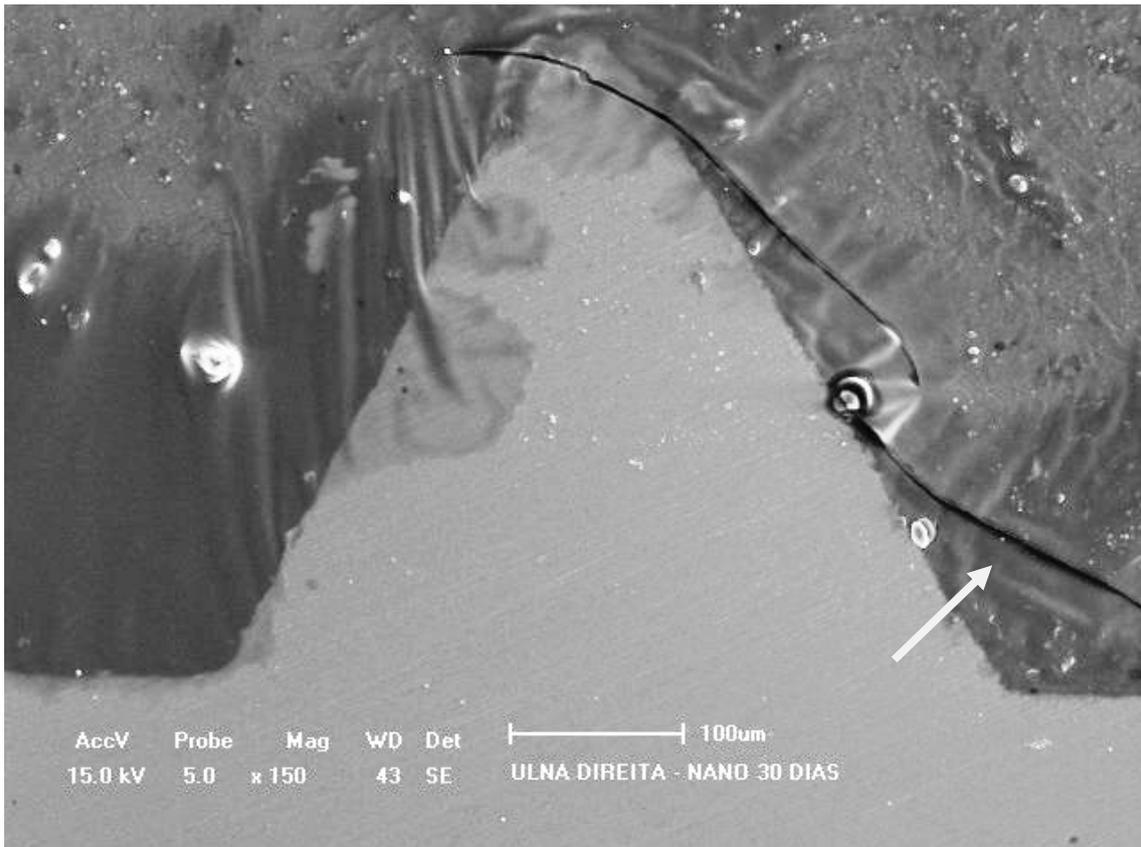


Figura 18 - Superfície Nanoparticulada 30 dias. Aumento de 150x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Esta figura evidencia em melhor grau o artefato de ponto crítico (seta). Maior densidade óssea na região do vale a esquerda.

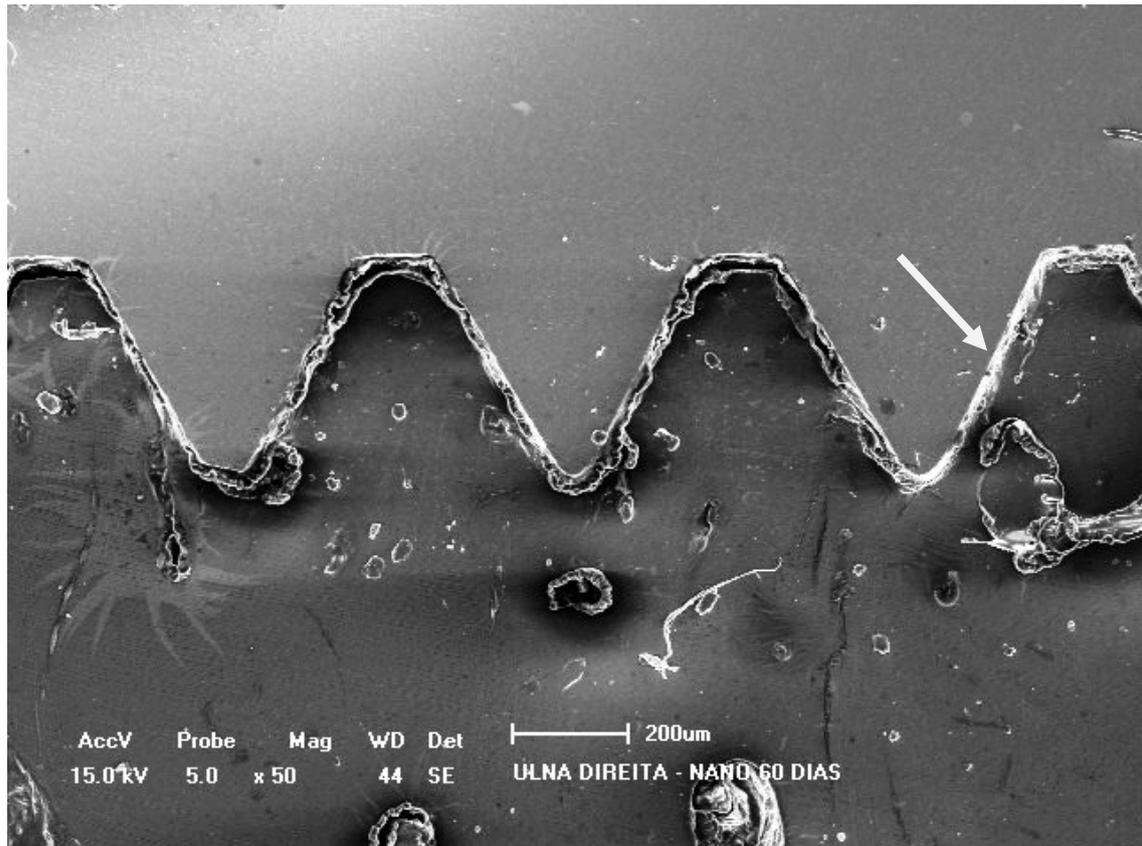


Figura 19 - Superfície Nanoparticulada 60 dias. Aumento de 50x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Na figura 19 observa-se diminuição do contato ósseo com a superfície do titânio em todas as roscas presentes. Linha opaca surge em contato com as cristas e vales das roscas (seta).

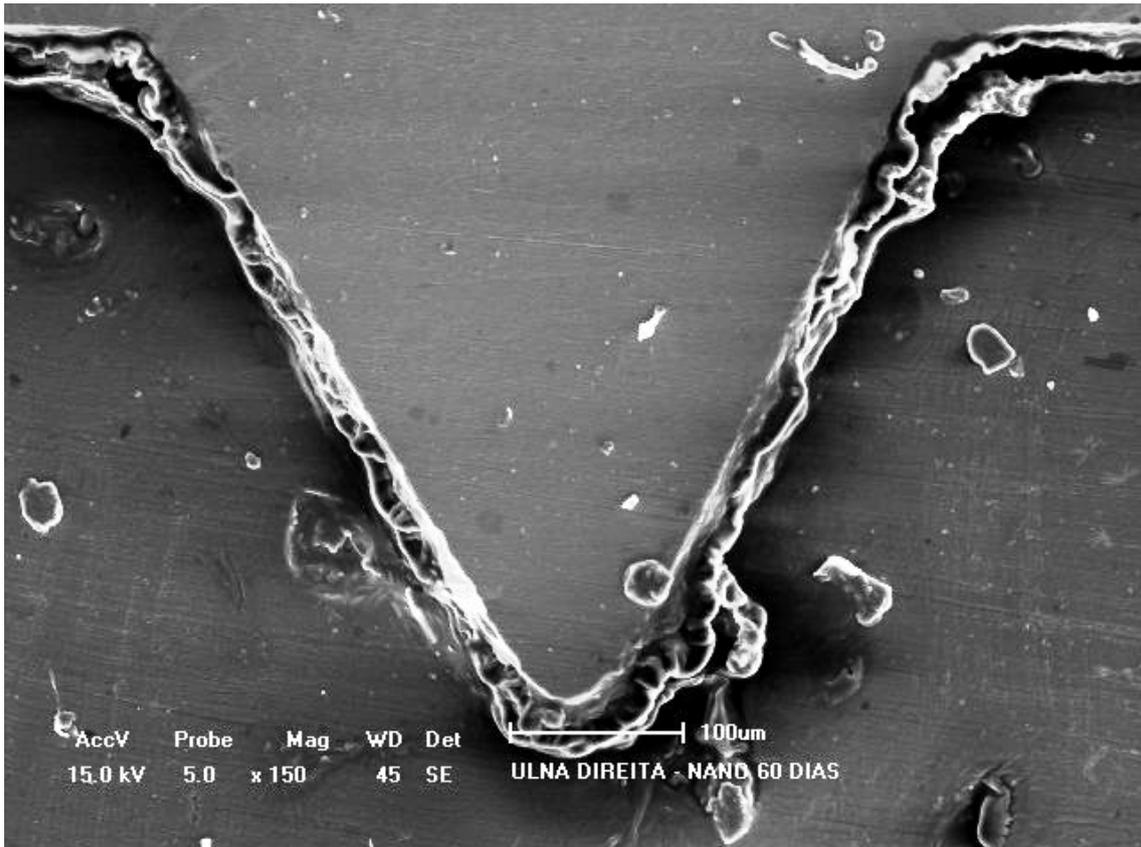


Figura 20 - Superfície Nanoparticulada 60 dias. Aumento de 150x em MEV  
Fonte: O autor (2008)

Observa-se na figura 20 em maior aumento a perda do contato osso-implante em relação à crista da rosca. Espaços presentes preenchidos por tecido mole.

## 6 RESULTADOS ESTATÍSTICOS

Os resultados estatísticos a seguir apresentados foram obtidos a partir de testes ANOVA com suas variantes com um  $p < 0,05$  (95% de intervalo de confiança).

Os resultados estão apresentados em tabelas e gráficos. Foram comparados dois grupos Jato+Ácido e Nanoparticulado nos tempos 30 e 60 dias. As medidas foram tabuladas e foram aplicados os testes estatísticos.

**Tabela 1 - Médias marginais de contato ósseo**

GRUPO	TEMPO	Média %	Desvio Padrão	n
Jato+Ácido	30	85,598	3,62054	5
	60	85,772	7,06051	5
	Total	85,685	5,29058	10
Nano	30	87,198	3,01207	5
	60	65,172	17,40578	5
	Total	76,185	16,53615	10
Total	30	86,398	3,25104	10
	60	75,472	16,57357	10
	Total	80,935	12,90483	20

Fonte: O autor (2008)

Resultados obtidos a partir das porcentagens totais em relação ao contato ósseo linear na superfície de titânio, em ambos os grupos, sem observar o tempo:

**Tabela 2 - Osseointegração em relação ao tempo**

GRUPO	Média	Desvio Padrão	Limite inferior %	Limite superior %
Jato	85,685	3,062	79,194	92,176
Nano	76,185	3,062	69,694	82,676

Fonte: O autor (2008)

Apresentação das médias em relação ao tempo, independente do grupo de superfície:

**Tabela 3 - Tempo em relação às médias marginais em percentual**

TEMPO	Média %	Desvio padrão	Limite inferior %	Limite superior %
30 dias	86,398	3,062	79,907	92,889
60 dias	75,472	3,062	68,981	81,963

Fonte: O autor (2008)

**Tabela 4 - Médias com relação aos tempos e grupos de superfícies em estudo**

GRUPO	TEMPO	Media	Desvio Padrão	Limite inferior %	Limite superior %
Jato	30 dias	85,598	4,330	76,419	94,777
	60 dias	85,772	4,330	76,593	94,951
Nano	30 dias	87,198	4,330	78,019	96,377
	60 dias	65,172	4,330	55,993	74,351

Fonte: O autor (2008)

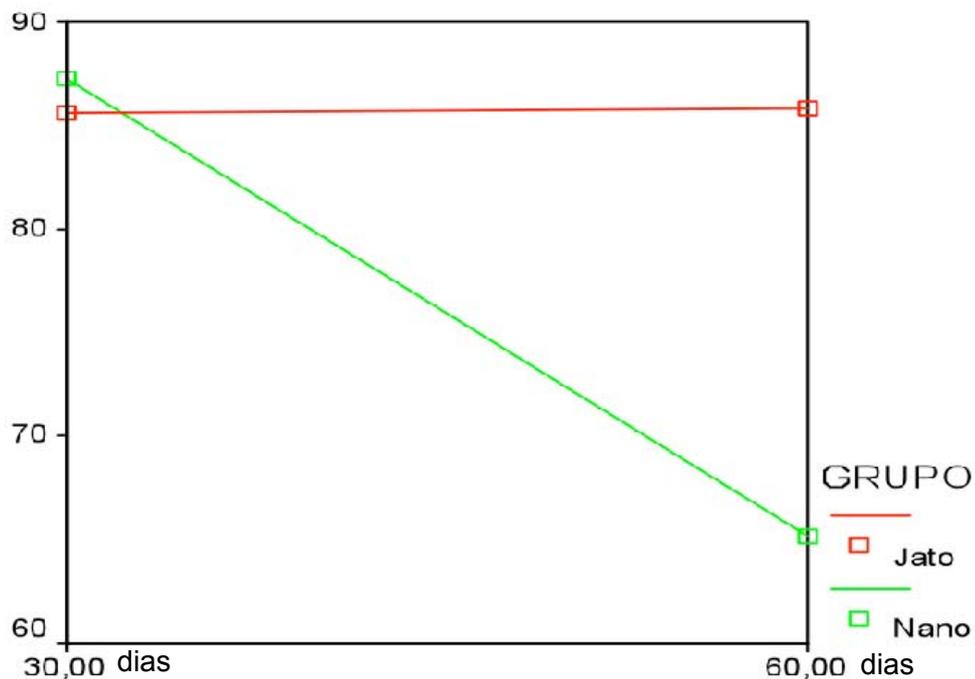


Gráfico 3 - Tempo em 30 e 60 dias x médias marginais em percentual dos respectivos Grupos  
Fonte: O autor (2008)

Legenda: No eixo das abscissas encontra-se o tempo em 30 e 60 dias. No eixo das ordenadas, as médias marginais em percentual dos respectivos grupos.

## 7 DISCUSSÃO

Este foi um estudo experimental que utilizou como modelo animal a ovelha, que se mostra adequado para pesquisas com cirurgia e implantes. Apesar do porte, é de fácil manejo, permite uma intubação orotraqueal controlada, reage bem a medicamentos antibióticos e antiinflamatórios e possuem excelente recuperação. Mesmo com ambas as ulnas e as tíbias acessadas simultaneamente, o animal ainda conseguia se locomover normalmente, sem dificuldades. Animal de excelente recuperação e de simples cuidados no pós-operatório. Entretanto, na fase laboratorial percebeu-se que na cortical e na medular óssea, tanto da tíbia quanto da ulna, mesmo com adequada fixação com glutaraldeído a 2%, houve a presença de excessiva liberação de substância gordurosa, o que dificultou a completa desidratação das amostras. Isso acarretou em um aumento no tempo de preparo das amostras. Estas foram preparadas de acordo com o manual da Struers. (ALAVA, 2005). Observou-se ainda que a retenção de gordura pela superfície óssea dificultou a confecção das amostras durante o período de lixamento e polimento, o que acarretou rebarbas de titânio em meio ao tecido ósseo. Mesmo na presença desses artefatos a análise das imagens obtidas com MEV, por meio do software *Image J* foi adequada.

Esta pesquisa utilizando modelo animal foi inédita no desenvolvimento de uma nova superfície de implante que foi aqui denominada como superfície nanoparticulada. O desenvolvimento dessas superfícies é complexo e demanda alto grau de sofisticação tecnológica e de processo de fabricação. Neste primeiro momento as imagens da microscopia eletrônica de varredura demonstram que são necessários ajustes na fase final do preparo da superfície para obtenção de uma superfície de titânio nanoestruturada. A técnica de confecção de superfície provocou crostas elevadas em relação à superfície nas áreas de vales das roscas dos implantes (Figura 9). Portanto neste momento discute-se que essas áreas possam ser a causa da perda do potencial da osteointegração durante o período de 60 dias quando comparado com o jato + ácido.

No grupo de 30 dias, a superfície nanoparticulada apresentou potencial de reparo ósseo idêntico em relação à superfície jato+ácido. Entretanto, com os

resultados obtidos não é possível declarar a presente superfície nanoparticulada como uma nanosuperfície totalmente desenvolvida, mas se pode observar que neste primeiro projeto com a deposição de uma camada de óxido de titânio nanoparticulada, o implante apresentou um potencial para acelerar o reparo ósseo nos períodos iniciais, ou seja, em 30 dias.

A superfície jato + ácido serve como um excelente teste, pois já está no mercado com excelentes índices de sucesso clínico. Do ponto de vista desse grupo, a superfície comporta-se de forma adequada ao longo do tempo de 30 dias, com excelente grau de contato ósseo na interface com o titânio e esse grau se mantém estável ao longo do tempo da pesquisa, ou seja, 60 dias. Com base nas medidas e nas imagens de MEV pode-se dizer que ao final de 30 dias a superfície jato + ácido demonstra estágios iniciais de osseointegração e que aos 60 dias a densidade óssea está maior.

Do ponto de vista restrito da osseointegração, ambas osseointegraram, mas os resultados de 60 dias da superfície nanoparticulada podem estar associados a perdas progressivas do contato ósseo, o que acarretaria perda da função mecânica. Outro fator importante a ressaltar é que os implantes permaneceram por todo o período da pesquisa sem cargas mecânicas e, portanto, os processos de reparo ósseo não foram prejudicados, nem sofreram interferências externas. Neste experimento, demonstramos que a superfície nanoparticulada é altamente reativa inicialmente, mas perde o potencial após 30 dias.

O processo de confecção desta camada nanoparticulada é complexo e requer refinamento e novos estudos *in vivo* e com MEV para aferir as melhorias da técnica do potencial da osteointegração. Os resultados demonstram ser uma superfície reativa, porém ainda necessita de melhorias.

Outro ponto a ser pesquisado é se a perda da osseointegração seria progressiva ou se foi somente uma diminuição do potencial de reparo. O objetivo de outras pesquisas será o refinamento nos processos de fabricação da superfície nanoestruturada, para que os resultados da osseointegração com esse tipo de superfície se perpetuem ao longo da função dos implantes.

Devido à inúmera quantidade de empresas que produzem implantes odontológicos, das mais variadas marcas e sistemas, deve-se antes de qualquer comercialização, realizar estudos experimentais em animais e após isso, uma

pesquisa clínica bem controlada que demonstre a eficácia do novo produto estabelecido para usufruto dos pacientes.

## 8 CONCLUSÃO

A superfície jato + ácido se mostrou ultraestruturalmente uma superfície simétrica e sem defeitos de usinagem. Porém, a superfície tratada com nanopartículas apresentou falhas na usinagem das roscas, com presença de crostas irregulares e elevadas em relação à superfície, que podem ser a causa da perda do potencial da osseointegração, necessitando assim de melhorias no refinamento durante o processo de fabricação.

A partir dos resultados obtidos em modelo animal conclui-se que os implantes do grupo nanoparticulado apresentaram potencial para a osseointegração nos estágios iniciais do reparo ósseo, porém este se perdeu ao longo do experimento. Já o grupo jato + ácido não apresentou perda de contato osso-implante ao longo da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

ALAVA, J. I. et al. Simultaneous preparation of a materialographic and histological thin section: Investigation of bone integration on dental implants. **Journal of Materialography**, Denmark, v. 6, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 5832-2**: implantes para cirurgia – materiais metálicos parte 2: titânio puro. Rio de Janeiro, 2001. 3 f.

**ASTM Designation**: C633-01, Standard test method for Adhesion or Cohesion Strength of Thermal Sprayed Coatings. West Conshohocken, USA, 2001. 7 f.

BECKER, W. et al. A prospective multicenter clinical trial comparing one- and two-stage titanium screw-shaped fixtures with one-stage plasma-sprayed solid-screw fixtures. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**; v. 2, n.3, p.159–65, 2000.

BRETT, P. M. et al. Roughness response genes in osteoblasts. **Bone**, New York, 2004, v. 35, n. 1, p.124-33.

BUSER, D. et al. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. **Journal of Biomedical Materials Research**, Hoboken, v.25, n. 7, p.889-902, Jul. 1991.

\_\_\_\_\_ et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. **Journal of Dental Research**, Washington, v. 83, n.7, p. 529-533, jul. 2004.

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

CONFORTO, E. et al. Rough surfaces of titanium and titanium alloys for implants and prostheses. **Materials Science and Engineering C: Biomimetic materials, sensors and systems**, Lausanne, v. 24, n. 5, p. 611-618, Nov. 2004.

CUNHA, A. et al. A Surgical procedure using sheep as an animal model to evaluate osseointegration. **Journal of Dental Clinics and Research**, Curitiba, v. 3, n.1, p.59-62, jan./abr. 2007.

DELIGIANNI, D. D. et al. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone narrow cell response and on protein adsorptions. **Biomaterials**, Surrey, v. 22, n. 11, p.1241-1251, June 2001.

LAUSMAA, J. Surface spectroscopic characterization of titanium implants materials. **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, Amsterdam, v. 81, n.3, p. 343-361, Sep. 1996.

LE GUÉHENNEC, L. et al. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**, Kidlington, v.23, n. 10, p. 844-854, 2007.

MISCH, C. E. **Contemporary implant dentistry**. St Louis: Mosby, 1999.

ROSA, A. L.; BELOTI, M. M. Effect of cp Ti surface roughness on human bone narrow cell attachment, proliferation, and differentiation. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.14, n.1, p.16-21, Jun. 2003.

RONOLD, H.J; ELLINGSEN, J. E. Effect of micro-roughness produced by TiO<sub>2</sub> blasting – tensile testing of bone attachment by using coin-shaped implants. **Biomaterials**, Surrey, v. 23, n. 21, p.4211-4219, Nov. 2002.

\_\_\_\_\_; ELLINGSEN, J. E. The use of a coin shaped implant for direct in situ measurement of attachment strength for osseointegrating biomaterial surfaces. **Biomaterials**, Surrey, v.23, n.10, p.2201-2209, May 2002.

\_\_\_\_\_; LYGSTADAAS, S. P; ELLINGSEN, J. E. Analysing the optimal value for titanium implant roughness in bone attachment using a tensile test. **Biomaterials**, Surrey, v. 24, n. 25, p.4559-4564, Nov. 2003.

SMITH, D. C.; ZARB, G. A. Criteria for success of osseointegrated endosseous implants. **Journal of Prosthetic Dentistry**, Saint Louis, v.62, n. 5, p.567-572, Nov. 1989.

TURNER, A. S. et al. Changes in bone mineral density and bone-specific alkaline phosphatase in ovariectomized ewes. **Bone**, New York, v. 17, Suppl. 4, p.395S-402S, Oct. 1995.

ZECHNER, W. et al. Osseous healing characteristics of three different implant types. A histologic and histomorphometric study in mini-pigs. **Clinical Oral Implant Research**, Copenhagen, v. 14, n. 2, p. 150-157, Apr. 2003.

ZHAO, G. et al. High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. **Journal of Biomedical Material Research - Part A**, Hoboken, v. 74, n. 1, p. 49-58, Jul. 2005.

WENG, D. et al. Osseotites vs. machined surface in poor bone quality. A study in dogs. **Clinical Oral Implant Research**, Copenhagen, v.14, n. 6, p. 703-708, Dec. 2003.

WENNERBERG, A. et al. A histomorphometric evaluation of screw-shaped implant seach prepared with two surface roughnesses. **Clinical Oral Implant Research**, Copenhagen, v. 9, n. 1, p.11-9, Feb. 1998.

\_\_\_\_\_ et al. Histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. **Clinical Oral Implant Research**, Copenhagen, v. 6, p.24-30, Mar. 1995.

## ANEXO A – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PUCRS



*Comissão Científica e de Ética  
Faculdade de Odontologia da PUCRS*

---

Porto Alegre 26 de novembro de 2008

O Projeto de: Dissertação

Protocolado sob nº: 0062/08

Intitulado: Estudo estrutural e ultraestrutural da interface osso-implante em ovelhas

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira

Pesquisadores Associados Fabiano Goulart Azambuja

Nível: Mestrado

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 03 de setembro de 2008.

*Este projeto deverá ser imediatamente encaminhado ao CEUA/PUCRS*

**Prof. Dr. Eraldo Luiz Batista Júnior**  
Presidente da Comissão Científica e de Ética da  
Faculdade de Odontologia da PUCRS

## ANEXO B – CARTA DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PUCRS



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS



Ofício 035/09 - CEUA

Porto Alegre, 06 de abril de 2009.

Senhor Pesquisador:

O Comitê de Ética para o Uso de Animais apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 08/00064, intitulado: **“Estudo estrutural e ultraestrutural da interface osso-implante em ovelhas”**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios do andamento do projeto devem ser entregues a este Comitê.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Anamaria Feijó  
Coordenadora do CEUA – PUCRS

Ilmo. Sr.  
Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira  
Faculdade de Odontologia  
N/Universidade

PUCRS

Campus Central

Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar sala 314- CEP: 90610-000

Fone/Fax: (51) 3320-3345

E-mail: [ceua@pucrs.br](mailto:ceua@pucrs.br)