



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

CARACTERIZAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE UM NOVO IMPLANTE DENTÁRIO CERÂMICO

*Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
Para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária*

Por:

Mónica Célia Pereira Miranda

Viseu, 2015



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

CARACTERIZAÇÃO DE SUPERFÍCIE DE UM NOVO IMPLANTE DENTÁRIO CERÂMICO

*Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
Para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária*

Por:

Mónica Célia Pereira Miranda

Orientador: Mestre Tiago Marques

Co-Orientador: Mestre Filipe Araújo

Viseu, 2015

*"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar
o que ainda ninguém pensou sobre aquilo que toda a gente viu"*

Arthur Schopenhauer

DEDICATÓRIA

Aos meus Pais, por serem os meus pilares e a minha grande força, por todo o apoio incondicional e todos os ensinamentos e valores que me transmitiram. Acima de tudo, por acreditarem em mim e me permitirem seguir com os meus sonhos.

Aos meus Avós, pela paciência infinita, pelo carinho constante e pelo cuidado que sempre tiveram comigo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus Pais, pelos ensinamentos dados e por serem a razão da minha perseverança e coragem.

Ao meu Orientador Professor Tiago Marques e ao meu Co-Orientador Professor Filipe Araújo pelo apoio, pela confiança que depositaram em mim, pela motivação, paciência e grande disponibilidade, mas acima de tudo pela oportunidade que ambos me deram de realizar um estudo numa área que tanto me fascina.

Ao Professor André Correia e à Professora Maria José Correia pela disponibilidade e apoio dado.

À Universidade Católica Portuguesa, aos vários professores e funcionários que me acompanharam ao longo deste percurso académico, um agradecimento por toda a disponibilidade e ajuda.

Aos professores e técnicos do Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica e ao CICECO da Universidade de Aveiro, especialmente à Maria João Bastos, à Marta Ferro, ao Bruno Almeida, ao Artur Sarabando, à Professora Maria Helena Fernandes e ao Doutor Filipe Oliveira por toda a incansável ajuda, sem eles não seria possível realizar este estudo.

À Leonor, Carolina e Sílvia, que estiveram sempre do meu lado, nos bons e maus momentos.

À Inês, Lara e Mara, pela força constante e sincera amizade desde sempre.

Ao Fábio, que me ajudou a crescer.

Aos meus amigos que conheci neste percurso académico, pela amizade e momentos que partilhámos.

Aos meus familiares, por acreditarem em mim e me apoiarem a seguir o meu sonho.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Com a evolução das técnicas e biomateriais de reabilitação oral e com o aumento da exigência dos pacientes, o recurso ao uso de implantes dentários para substituição de dentes perdidos tem vindo a aumentar. A osteointegração do implante depende da superfície do próprio. Além dos aspectos biofuncionais, as questões estéticas começaram a ganhar relevância e assim surgiram os implantes cerâmicos (nomeadamente em zircónia) como alternativa aos implantes de titânio.

OBJECTIVOS: Caracterizar a superfície de implantes de titânio, titânio-zircónio e zircónia, já comercializados, investigando a relação entre características como a composição química e cristalográfica, a molhabilidade e a rugosidade nos resultados conhecidos de osteointegração.

MATERIAL E MÉTODOS: Um implante Straumann® Standard Plus SLA® tissue level de titânio, dois implantes Straumann® Roxolid® SLA® Loxim™ titânio e zircónio (um bone level e um tissue level), dois implantes Straumann® Pure Ceramic ZLA™ de zircónia. Os testes serão: difracção de raio-X; perfilometria óptica; medição do ângulo de contacto; microscopia electrónica de varrimento com espectrometria de energia dispersiva de raio-X e envelhecimento artificial.

RESULTADOS: Ao DRX todos os implantes confirmaram a existência dos seus elementos base; o implante de zircónia obteve valores de rugosidade mais baixos na zona rugosa; a fracção monoclinica do óxido de zircónio apresentou-se superior à fracção tetragonal antes e após envelhecimento artificial; ao SEM o implante de zircónia mostrou grãos finos e arredondados.

CONCLUSÃO: Associação entre o aspecto topográfico micrométrico como o aspecto nanométrico; observou-se a ausência de óxido na superfície do implante de titânio; verificou-se que a rugosidade do implante de zircónia é inferior aos implantes de titânio e de titânio-zircónio, sendo este último o que apresentou maiores valores de rugosidade; após envelhecimento, verificou-se que a percentagem de óxido de zircónio na fase monoclinica aumentou e se manteve acima da percentagem de fase tetragonal.

PALAVRAS-CHAVE: cerâmica, implante dentário, zircónia, titânio, caracterização de superfície.

ABSTRACT

INTRODUCTION: With the evolution of techniques and biomaterials of oral rehabilitation and with the increasing demand from patients, the use of dental implants to replace lost teeth is increasing. The osseointegration of the implant depends upon the surface itself. In addition to the biofunctional aspects, aesthetic considerations began to gain relevance, and thus came the ceramic implants (eg zirconia) as an alternative to titanium implants.

PURPOSE: To characterize the surface of titanium implants, titanium-zirconium and zirconia, already commercialized, investigating the relationship between characteristics such as chemical composition and crystallographic, wettability and roughness in the known results of osseointegration.

MATERIALS AND METHODS: A Straumann Standard Plus SLA[®] implant tissue level of titanium, two implants Straumann SLA[®] Roxolid[®] Loxim[™] titanium and zirconium (a level bone and tissue level), two Straumann zirconia implants Pure Ceramic ZLA[™]. The tests are: X-ray diffraction; optical profilometry; measurement of contact angle; scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectrometry and artificial aging.

RESULTS: In the X-ray diffraction analysis all implants have confirmed the existence of the base elements; the zirconia implant obtained lower roughness values on the rough area; the monoclinic fraction of zirconium oxide was superior to the tetragonal fraction before and after artificial aging; the zirconia implant on scanning electron microscopy showed fine and rounded grains.

CONCLUSION: Association between the topographical micrometer aspect with the nanometer one; we observed the absence of oxide on the surface of titanium implant; it was found that the roughness of the zirconia implant is lower than the titanium and the titanium-zirconium implants, the last one have larger surface roughness values; after aging, it was found that the proportion of zirconium oxide in the monoclinic phase increased and remained above the proportion of tetragonal phase.

KEY-WORDS: ceramic, dental implant, zirconia, titanium, surface characterization.

Índice Geral

1. Introdução	3
2. Revisão de literatura	7
2.1. Reabilitação de espaços desdentados com recurso a implantes	7
2.2. O osso	8
2.2.1. O processo de osteointegração	8
2.3. Materiais dos implantes	9
2.3.1. Titânio	9
2.3.2. Liga titânio-zircónio	10
2.3.3. Zircónia	11
2.4. Superfície dos implantes	14
2.4.1. Hidrofobicidade e hidrofiliçidade	14
2.4.2. Topografia de superfície e rugosidade vs. integração celular	15
2.5. Tratamentos de superfície	19
2.5.1. Jacteamto	20
2.5.2. Condicionamento ácido	21
2.5.3. Temperatura	22
2.5.4. Pulverização com plasma de titânio	22
2.6. Superfície dos implantes e a peri-implantite	23
2.7. Técnicas de caracterização de superfície	25
3. Problema em estudo	29
4. Metodologia	33
4.1. Materiais	33
4.1.1. Implantes dentários	33
4.2. Métodos de análise de superfície	33
4.2.1. Difraccão de raio-X	33
4.2.2. Perfilometria óptica	34
4.2.3. Ângulo de contacto	34
4.2.4. Microscopia electrónica de varrimento	35
4.2.5. Espectrometria de energia dispersiva de raio-X	36
4.2.6. Envelhecimento artificial	36
5. Resultados	39

5.1. Difraccão de raio-X.....	39
5.2. Perfilometria óptica.....	44
5.3. Ângulo de contacto	48
5.4. Microscopia electrónica de varrimento.....	52
5.4.1. Espectrometria de energia dispersiva de raio-X	56
5.5. Envelhecimento artificial	62
6. Discussão	69
7. Conclusão.....	81
8. Conflitos de interesse.....	85
9. Referências bibliográficas.....	89

Índice de Figuras

Fig. 1-Resultados DRX do implante de titânio superfície rugosa evidenciando a presença dos elementos titânio, carbonato de cálcio monoclinico e romboédrico.	40
Fig. 2-Resultados DRX do implante de titânio-zircônio tissue level superfície rugosa evidenciando a presença da liga titânio-zircônio, elemento titânio e carbonato de cálcio romboédrico (calcite).	40
Fig. 3-Resultados DRX do implante de titânio-zircônio bone level superfície rugosa evidenciando a presença da liga titânio-zircônio, elementos titânio, carbonato de cálcio monoclinico e romboédrico (calcite).....	41
Fig. 4-Resultados DRX de um dos implantes de zircônia (1) superfície rugosa evidenciando a presença dos elementos óxido de zircônio na fase tetragonal (T) e monoclinica (M) e carbonato de cálcio.....	41
Fig. 5-Resultados DRX de um dos implantes de zircônia (2) superfície rugosa evidenciando a presença dos elementos óxido de zircônio na fase tetragonal (T) e monoclinica (M) e carbonato de cálcio.....	42
Fig. 6- Resultados DRX do implante de zircônia revelando a presença de óxido de ítrio.....	42
Fig. 7- Resultados percentuais dos diversos elementos químicos presentes nas superfícies dos implantes de a) titânio; b) titânio-zircônio tissue level; c) titânio-zircônio bone level; d) zircônia 1; e) zircônia 2.	43
Fig. 8- Imagens a três dimensões conseguidas através do perfilômetro confocal da superfície da zona polida dos implantes de titânio (a); titânio-zircônio (b) e zircônia (c).	45
Fig. 9-Imagens a três dimensões conseguidas através do perfilômetro confocal da superfície da zona rugosa dos implantes de titânio (a); titânio-zircônio tissue level (b); titânio-zircônio bone level (c) e zircônia (d).....	46
Fig. 10-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de zircônia 1 na área do coto (b), colo polido (c), zona rugosa coronária (d) e zona rugosa apical (e).	50
Fig. 11-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de titânio na área do colo polido (b), zona rugosa coronária (c) e zona rugosa apical (d).....	50

Fig. 12-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de titânio-zircónio tissue level na área do colo polido (b), zona rugosa coronária (c) e zona rugosa apical (d)..	51
Fig. 13-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de titânio-zircónio bone level na zona rugosa coronária (b) e zona rugosa apical (c).....	51
Fig. 14-Resultados do SEM da zona rugosa dos diversos implantes a baixa ampliação, a 30x e 100x.	53
Fig. 15-Resultados do SEM da zona rugosa (vale) dos diversos implantes a alta ampliação, a 3000x (3k x), 10.000x (10k x) e 70.000x (70k x).....	54
Fig. 16- Resultados do SEM da zona polida e da transição da zona rugosa para a polida dos diversos implantes com diversas ampliações especificadas nas respectivas imagens.	55
Fig. 17- Resultados EDS implante de titânio na zona rugosa a) e b) e polida c).....	57
Fig. 18- Resultados EDS implante de titânio-zircónio tissue level na zona rugosa a) e b) e polida c).	58
Fig. 19- Resultados EDS implante de titânio-zircónio bone level na zona rugosa a) e b) e no pequeno colo polido c).....	59
Fig. 20- Mapa EDS da distribuição dos elementos na superfície com captação de imagem SEM dos implantes de titânio-zircónio tissue level (a) e bone level (b).....	60
Fig. 21- Resultados EDS implante de zircónia 1 na zona rugosa a) e b) e polida c). ...	61
Fig. 22- Resultados DRX antes (a) e após envelhecimento (b) do implante de zircónia 2.....	63
Fig. 23- Distribuição dos elementos químicos na superfície do implante de zircónia 2 antes (a) e após o envelhecimento (b).....	63
Fig.24-Resultados SEM do implante de zircónia 2 após envelhecimento das zonas polidas e rugosas a baixa e alta ampliação.....	64
Fig. 25- Resultados EDS do implante de zircónia 2 após envelhecimento com os respectivos elementos químicos (a) presentes na superfície mostrada (b).	65

Índice de Tabelas

Tabela 1-Resultados da perfilometria óptica com os respectivos valores de Sa (μm) e Sdr (%) nas diversas zonas dos vários implantes.....	47
Tabela 2-Resultados do ângulo de contacto da gota de SBF com a superfície rugosa (zona coronária e apical) e polida dos diversos implantes.....	49

Lista de Abreviaturas

- DRX: Difraccção de raio-X
- SEM: Microscopia electrónica de varrimento
- EDS: Espectrometria de energia dispersiva de raio-X
- Y-TZP: yttria-tetragonal zirconia policristal
- Ra: parâmetro de rugosidade num perfil (linha)
- Sa: parâmetro de rugosidade numa superfície (área)
- Sdr: parâmetro híbrido da rugosidade
- Ti: titânio
- TiO₂: óxido de titânio
- Zr: zircónio
- ZrO₂: zircónia
- Al₂O₃: alumina
- H₂SO₄: ácido sulfúrico
- HCl: ácido clorídrico
- HNO₃: ácido nítrico
- HF: ácido fluorídrico
- mm: milímetro
- µm: micrómetro
- nm: nanómetro
- BIC: contacto osso-implante
- TPS: pulverização de plasma de titânio
- HA: hidroxiapatite

1. Introdução

1. Introdução

A reabilitação com recurso a implantes assume uma grande relevância no restabelecimento da função mastigatória e da estética do paciente com perda de uma única peça dentária ou de várias, podendo, desta forma, melhorar a sua saúde e o seu bem-estar.

Devido à tendência crescente de envelhecimento da população espera-se que o número de pacientes que procuram reabilitar as arcadas dentárias com implantes venha a aumentar. Como tal, torna-se necessário perceber as características e influência dos materiais existentes no mercado na futura longevidade do implante.

A biocompatibilidade do material do implante depende das suas propriedades químicas, físicas e estruturais, que por sua vez influenciam a resposta celular na interface implante-osso. As propriedades químicas da superfície, bem como a sua topografia e rugosidade afectam a quantidade e qualidade de formação de novo tecido ósseo. Assim, não só o material em si, mas também a estrutura da sua superfície é um dos factores mais importantes para o sucesso da osteointegração, que é crucial para a cicatrização óssea peri-implantar.

A complexidade da interface implante-tecido também ocorre ao nível dos tecidos moles, na denominada zona polida dos implantes. Assim sendo é igualmente de extrema importância reconhecer o potencial de características da superfície polida do implante para influenciar a biologia da interface implante-tecido mole.

Só através de uma completa caracterização destas superfícies (rugosa e polida) é que se pode avançar em direcção ao desenvolvimento da superfície ideal de implantes dentários com a melhor interface implante-tecido, de modo a atingir o maior sucesso possível a longo-prazo.

Este estudo tem uma importância acrescida, uma vez que a utilização de um implante sem o devido conhecimento da sua verdadeira rugosidade pode originar a que a reparação óssea possa ser mais fraca do que o esperado, o que é altamente indesejável, especialmente em casos críticos.

O número de artigos científicos publicados em revistas internacionais sobre a topografia de implantes de titânio, titânio-zircónio e zircónia é vasta. Porém, não existe nenhum artigo publicado, que seja do nosso conhecimento, sobre o novo implante de zircónia Straumann® Pure Ceramic ZLA™.

Pretende-se com este estudo revelar a topografia de superfície e investigar se a rugosidade das superfícies de implantes comercializados a nível nanométrico se relaciona com a sua rugosidade a nível micrométrico. Esta caracterização é essencial para estabelecer a importância da rugosidade das superfícies dos implantes e a sua relação na osteointegração.

Avaliaram-se três tipos de implantes existentes no mercado, um tissue level de titânio, um tissue level e um bone level de titânio-zircónio e dois implantes de zircónia de peça única considerados tissue level. Estes implantes foram cedidos pela marca Suíça Straumann®.

Os diversos estudos topográficos das superfícies dos implantes mencionados ocorreu desde Dezembro de 2014 até Abril de 2015, no Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica e CICECO, na Universidade de Aveiro.

A estruturação do trabalho realizou-se com base numa sequência lógica, partindo de uma fundamentação teórica. Esta foi realizada através de uma revisão da literatura existente entre o ano de 2000 e 2015, com recurso esporádico a alguns artigos clássicos. Esta pesquisa abrangeu, de uma forma geral, a relação do aspecto micrométrico e nanométrico de vários implantes comercializados e a osteointegração. De uma forma mais pormenorizada, abordou a topografia de superfície de cinco implantes de três materiais diferentes.

Após a revisão de literatura encontram-se os objectivos do trabalho bem como a metodologia para os alcançar, seguindo-se os resultados e a discussão dos mesmos, tendo em consideração os resultados obtidos por outros autores em estudos semelhantes. De notar que a relação dos resultados das superfícies dos implantes com a futura osteointegração dos mesmos é meramente teórica e baseada na revisão de literatura realizada.

Por fim, encontra-se a conclusão do trabalho.

2. Revisão de literatura

2. Revisão de literatura

A perda de dentes naturais tem acompanhado o ser humano ao longo da sua história.(1) Na sociedade primitiva a maioria dos dentes perdidos eram devido a trauma, enquanto que na actualidade esta perda é mais frequentemente devida a doenças da cavidade oral, sendo as mais prevalentes a cárie dentária e a doença periodontal.(1)

Quando ocorre a perda de uma ou várias peças dentárias, tanto o paciente como o Médico Dentista assumem um papel importante no processo de reabilitação oral.(1) Existe uma diferença entre a melhor opção para a substituição de um dente perdido e a opção possível, uma vez que critérios relacionados com o paciente, com o cirurgião, com o prostodontista e com os biomateriais a usar devem ser avaliados, tornando-se de extrema importância que tanto o paciente como o Médico Dentista estejam de comum acordo.

2.1. Reabilitação de espaços desdentados com recurso a implantes

Os implantes dentários oferecem um tratamento eficaz para a substituição de dentes perdidos.(2) Estes são um substituto fixo da raiz do dente.(2) Desde o trabalho pioneiro de Brånemark nos anos 60, vários milhões de implantes de titânio foram produzidos e colocados em pacientes, sendo que se reporta que o seu número irá aumentar de ano para ano.(2, 3) Este aumento deve-se à cada vez maior tendência dos Médicos Dentistas proporem aos seus pacientes a colocação de implantes dentários de modo a melhorarem a sua qualidade de vida (estética, mastigação e estabilidade a longo prazo). (2, 3)

Actualmente, o tipo de implante com a superfície texturizada endóssea cilíndrica feito de titânio comercialmente puro é considerado o *gold-standard* para o fabrico de implantes dentários. (4)

2.2. O osso

O osso é um tecido conjuntivo especializado que é responsável não só pelo suporte e protecção dos órgãos, mas também pela locomoção.(5) O osso contém componentes orgânicos e inorgânicos, sendo que os constituintes orgânicos são fibras de colagénio do tipo I e outras moléculas orgânicas que constituem até 70% da composição total do osso.(5) A maioria dos componentes inorgânicos são cristais nanométricos de hidroxiapatite e relacionam-se com os 30% restantes.(5) Os componentes inorgânicos são responsáveis pela dureza e os orgânicos são responsáveis pela elasticidade.(5)

Estruturalmente o osso da cavidade oral é um material compósito poroso constituído primariamente por colagénio tipo I e minerais, que juntos providenciam as suas propriedades mecânicas.(6) Uma vez que os implantes dentários dependem do processo de osteointegração para o seu sucesso clínico, torna-se fundamental a compreensão deste tecido de características muito peculiares.

2.2.1. O processo de osteointegração

Para além da componente mineral do osso, a arquitectura do colagénio é um dos principais determinantes das propriedades mecânicas dos tecidos.(7) A presença de colagénio na matriz óssea é crítica para determinar a quantidade de energia necessária para produzir uma falha da matriz quando sob carga mecânica.(6, 8)

Quando o implante é carregado há um efeito na organização do osso peri-implantar traduzido pela aplicação de uma tensão na interface, o que faz aumentar a tensão na estrutura óssea.(9) Este facto está relacionado com a forma do implante e com a macroarquitECTURA do osso, enquanto que o nível de tensão dentro do osso está relacionado com a microestrutura do tecido, como a orientação das fibras de colagénio e a densidade mineral.(9, 10)

O fenómeno molecular em relação à superfície e à microestrutura podem explicar o processo de osteointegração após a colocação do implante.(6) Demonstrou-se que superfícies rugosas parecem beneficiar a nova formação óssea devido à adesão inicial de proteínas não-colagénicas, como a osteopontina e a sialoproteína do osso, à superfície do implante.(11, 12) Posteriormente, a nucleação do fosfato de cálcio nos locais de ligação do cálcio nas proteínas referidas

anteriormente continua o processo de osteointegração, que fica completo pelo crescimento cristalino e a produção de colagénio com a mineralização.(13)

A formação do osso induzida pelas células osteoblásticas na interface implante-tecido é um processo complexo, que envolve um número de funções celulares, tais como a fixação celular, migração e proliferação seguido da expressão de marcadores do fenótipo osteoblasto e a síntese, a deposição e a mineralização de uma matriz óssea.(14) Estes eventos sequenciais são regulados pelas hormonas sistémicas e pela produção de factores locais.(14)

2.3. Materiais dos implantes

2.3.1. Titânio

O titânio é usado em várias áreas da Medicina Dentária devido à sua biocompatibilidade, à alta resistência à corrosão e devido às suas boas propriedades mecânicas.(4, 15) No que diz respeito ao seu uso em implantes dentários, estas propriedades são atribuídas maioritariamente devido à formação de uma camada estável de óxido de titânio na superfície dos mesmos.(15) Apesar do titânio possuir boas propriedades mecânicas, estas estão limitadas no caso de implantes dentários de diâmetro pequeno.(16)

A nível estético, a cor cinzenta do titânio pode ser um problema na zona maxilar anterior, incluindo a região dos pré-molares, especialmente em biótipos gengivais finos, em que a cor escura pode fazer-se notar através da fina mucosa peri-implantar.(17, 18)

Por outro lado, apesar da reconhecida biocompatibilidade da superfície da liga de titânio, constituída por uma camada de protecção de óxido, a libertação de iões metálicos tem sido motivo de preocupação ao longo da última década.(19) Verificou-se que esta libertação/dissolução no ambiente oral pode provocar ou contribuir para o desenvolvimento de peri-implantite em fases posteriores.(20) Observou-se também um aumento da concentração de titânio nos tecidos ao redor da superfície do implante e em nódulos linfáticos regionais.(19) Foram reportados alguns casos, embora raros, de descoloração dos tecidos e de reacções alérgicas em pacientes que estiveram em contacto com titânio.(4) Apesar da relevância clínica destas constatações ser incerta, a

procura por tratamentos sem a presença de metal tem aumentado na prática da Medicina Dentária.(19)

Relativamente ao óxido criado naturalmente na superfície do titânio (TiO_2) este ocorre na natureza em três fases polimorfas cristalinas: anatase (tetragonal), brookite (ortorrômbica) e rutilo (tetragonal), sendo esta última a fase de equilíbrio estável em todas as temperaturas.(21) Curiosamente, a fase rutilo parece demonstrar que aumenta a resposta de osteoblastos e que é menos propensa a iniciar uma resposta inflamatória.(22) Além disso, tem sido sugerido que a dissolução de íons de metal de óxido de titânio na fase rutilo tem uma ordem de magnitude mais baixa do que a partir da anatase, tornando-se assim mais biocompatível.(22) A fase rutilo encontra-se na superfície de implantes de titânio da marca Straumann[®] em maiores quantidades quando comparado com outras marcas e com a fase anatase.(22)

2.3.2. Liga titânio-zircónio

O elemento químico zircónio (Zr) é um metal conhecido por apresentar propriedades químicas semelhantes às do titânio e não originar efeitos tóxicos locais ou sistémicos.(23, 24)

A liga metálica constituída por titânio e zircónio, com o nome de marca “Roxolid[®]”, foi desenvolvida para superar as limitações mecânicas do titânio puro, sendo que apresenta uma dureza 2,5 vezes superior.(16, 23) Esta apresenta uma estabilidade mecânica significativamente superior no que diz respeito à resistência à fadiga, melhor resistência à corrosão e menor resposta tecidual inflamatória quando comparada com titânio grau IV.(15, 16)

Esta liga metálica, em Implantologia, surgiu como forma de oferecer uma maior resistência mecânica aos implantes de menor diâmetro, uma vez que tal não seria totalmente garantido com implantes apenas de titânio.(16)

Muitos metais são conhecidos por inibir o crescimento dos osteoblastos (por exemplo vanádio e nióbio), porém tanto o titânio como o zircónio não o fazem, apresentando capacidades de osteointegração.(16)

2.3.3. Zircónia

Com a finalidade de contornar as desvantagens do titânio, as cerâmicas começaram a ser utilizadas como um bom substituto.(25) Estas são amplamente usadas em Medicina Dentária devido à sua capacidade para mimetizar as características ópticas do esmalte e dentina, à sua biocompatibilidade, durabilidade e principalmente estabilidade química.(25)

Dentro das cerâmicas dentárias, as propriedades mecânicas da zircónia (dióxido de zircónio) são altamente atractivas para a área da Implantologia, em que a robustez e a estética são parâmetros importantes.(26)

O dióxido de zircónio (ZrO_2), conhecido como zircónia é um óxido de zircónio cristalino e branco.(27) Apesar de o óxido de zircónio puro não ocorrer na natureza, ele é encontrado nos minerais badeleíta e zircão.(27)

O interesse inicial no uso da zircónia como um biomaterial de cerâmica deriva do facto de possuir uma boa estabilidade química, resistência à flexão e compressão e tenacidade à fractura com um módulo de Young satisfatório (cerca de 200GPa).(19, 28)

A zircónia pura tem uma estrutura cristalina monoclinica à temperatura ambiente e transita para a forma tetragonal ou cúbica a temperaturas mais elevadas.(28) A expansão de volume provocada pela transformação da forma cúbica para a tetragonal e desta para a monoclinica induz severas tensões e pode causar micro-fissuras durante o arrefecimento, após altas temperaturas.(28) Para prevenir que a zircónia pura fracture à temperatura ambiente são adicionados diversos óxidos com a finalidade de estabilizar a fase tetragonal e/ou cúbica.(28) Especificamente os óxidos usados são: óxido de magnésio (MgO), óxido de ítrio (Y_2O_3), óxido de cálcio (CaO), óxido de cério (Ce_2O_3).(28)

No sistema de zircónia estabilizada por óxido de ítrio (o mais utilizado para fins médicos) é também possível obter cerâmicas formadas à temperatura ambiente apenas com a fase tetragonal, designada de yttria-tetragonal zirconia polycrystals (Y-TZP), aumentando a resistência à fractura, elevando o grau de confiança e tempo de vida.(28)

A zircónia é mais utilizada no seu estado estabilizado.(28) A fase tetragonal é metaestável e uma vez presente em quantidades suficientes, quando aplicada uma tensão, esta pode causar a conversão da fase tetragonal para a monoclinica com

expansão de volume associada.(28) Esta transformação de fase pode colocar a fissura sob compressão retardando a sua propagação e aumentando a resistência à fractura, elevando o grau de confiança e tempo de vida dos produtos feitos com zircónia estabilizada especialmente por ítria, como é o caso dos implantes do presente estudo (Y-TZP). (28) Como resultado, usando óxido de ítrio (ítria) a 3% como agente estabilizador é possível produzir uma cerâmica especial de óxido de zircónio feito de 100% de pequenos grãos tetragonais metaestáveis.(28)

De maneira geral, mesmo com estabilizador, a resistência à tensão dos materiais cerâmicos (nos quais a zircónia está incluída) decresce ao longo dos anos.(29)

Outra vantagem da zircónia é o facto de ter uma reduzida afinidade à placa bacteriana, baixando assim o risco de alterações inflamatórias nos tecidos moles adjacentes, o que se torna de extrema importância na área de Implantologia.(30)

A zircónia em pó contém pequenas quantidades de radionuclídeos provenientes do urânio-rádio (^{226}Ra) e tório (^{228}Th). (31-33) Devido a estas impurezas radioactivas, levantaram-se diferentes preocupações no início dos anos 90 sobre o uso de cerâmicas de zircónia para aplicações médicas e dentárias.(27) A radioactividade pode ser quantificada em unidades diferentes: Becquerel (Bq, deterioração/segundo) que é a unidade de medida para a actividade de um material/substância radioactiva ou Sievert (Sv, energia/kg) que é a unidade de medição para o efeito biológico de uma dose de radiação absorvida pelo tecido.(27) No entanto, após os procedimentos de purificação, os pós de zircónia com baixa radioactividade ($<100 \text{ Gyh}^{-1}$) podem ser alcançados.(34) Estes valores estão abaixo dos limites Europeus de radiação para exposição externa do corpo humano ou para exposição interna local de órgãos e tecidos e comparáveis aos valores de alumina e da liga de Co-Cr.(35) Após a purificação, a concentração de urânio no pó de zircónia varia entre 0,001 e 0,007 Bq/g (máximo: 1,0 Bq/g de acordo com a norma ISO 6872).(27, 36) Portanto, os níveis de radiação dos pós de zircónia comercialmente disponíveis estão em conformidade com as recomendações da Comissão Internacional para Protecção contra a Radiação (ICRP) e são normalmente encontrados em valores mais baixos do que a radioactividade ambiental normal induzida por radiação natural.(24, 31)

Além disso, a Organização Internacional para Padronização (ISO) recomenda, através da norma 13356, que a actividade de massa da zircónia usada como cerâmica cirúrgica seja inferior a 200 Bq/kg.(37) Tal facto verifica-se a nível dos implantes orais de zircónia, em que a sua actividade de massa é cerca de 20-50 Bq/kg.(27)

Em conclusão, uma vez que a radioactividade da cerâmica Y-TZP pode ser gerida de forma eficaz por procedimentos de purificação segundo normas adequadas, a zircónia pode ser considerada viável para aplicações biomédicas.(31) No entanto, é altamente recomendável que cada pó de zircónia deva ser regularmente validado e controlado antes da sua utilização para aplicações biológicas.(31, 34)

A nível de densidade óssea peri-implantar e contacto osso-implante, estudos de Gahlert *et al.*, Bormann *et al.* e Depprich *et al.* comprovam que não existem diferenças significativas entre os implantes de zircónia tratados com condicionamento ácido e os de titânio com superfície SLA[®] ou apenas com condicionamento ácido.(38-40)

Pelos motivos apresentados, a utilização de implantes de zircónia foi proposta como uma alternativa às ligas metálicas para implantes dentários, uma vez que é uma opção viável para preencher os parâmetros estéticos e funcionais, principalmente quando existe um biótipo tecidual fino.(19, 41, 42) Devido aos poucos estudos a longo prazo realizados em implantes de zircónia, deve-se ter cuidado na escolha dos mesmos na prática clínica diária, sendo necessário conhecer os biomateriais e estabelecer um bom planeamento.(43)

2.4. Superfície dos implantes

Conforme definido por Albrektsson e Wennerberg, existem três propriedades em relação à qualidade da superfície do implante: propriedades mecânicas, propriedades topográficas e propriedades fisico-químicas.(44)

A nível dos implantes orais, sabe-se que, o seu sucesso ou falha está directamente relacionado com o grau de integração do material do implante e a sua capacidade de se rodear por tecido duro e mole *versus* formação de biofilme.(45) Esta capacidade depende, entre outros factores, da topografia da superfície, especialmente da rugosidade, que afecta a resposta osso-implante, sendo que se verificou que há uma relação positiva entre o contacto osso-implante e a rugosidade da superfície.(22)

Por outro lado, a rugosidade da superfície e a sua hidrofobicidade/hidrofilicidade, assim como a composição química do implante, a arquitectura e as propriedades físicas são consideradas as características chave das superfícies dos implantes dentários para a osteointegração, integração tecidular e a formação de biofilme. (45, 46)

A composição e as características de superfície dos diferentes substractos utilizados para componentes de pilares de implantes pode influenciar directamente a adesão e a manutenção do biofilme oral e, conseqüentemente, facilitar ou dificultar a colonização e crescimento de espécies microbianas encontradas na cavidade oral.(47)

2.4.1. Hidrofobicidade e hidrofilicidade

As superfícies dos implantes dentários podem-se dividir, a nível de molhabilidade, em hidrofóbicas ou hidrofílicas.(48)

Os estudos e implantes desenvolvidos pela empresa Suíça Straumann® caracterizam-se por ter propriedades de molhabilidade diferentes. A superfície SLActive foi lançada por esta empresa, com base numa elevada energia livre superficial, ou seja, um baixo ângulo de contacto, sendo mais hidrofílico do que o implante previamente apresentado pela mesma empresa, o SLA.(49)

A superfície SLA é, em princípio, produzida por jacteamto com grão grosso de cerca de 0,25-0,5mm (250-500µm) com uma pressão de 5bar, seguido por condicionamento ácido.(49) A superfície SLActive é produzida com o mesmo jacteamto e condicionamento ácido que a SLA, mas é lavada sob protecção de

azoto para prevenir a exposição ao ar e evitar a contaminação com agentes atmosféricos, e, em seguida, armazenada num tubo de vidro selado contendo uma solução isotónica de cloreto de sódio (NaCl).(49)

Sendo a superfície SLActive hidrofílica sugere um baixo ângulo de contacto e uma elevada energia livre superficial, enquanto que a superfície SLA sendo hidrofóbica é característica de um elevado ângulo de contacto e uma baixa energia livre superficial.(49)

A diferença de superfície indica que a SLActive tem um maior número de picos/vales em toda a superfície em comparação com a SLA.(49) Além disso, existe uma diferença distinta na nanorugosidade entre SLA e SLActive, sendo maior o valor de rugosidade nesta última.(50)

A maioria dos estudos *in vitro* e *in vivo* relatam uma resposta óssea mais forte a curto prazo para implantes com superfície SLActive quando comparados com implantes de SLA, mas a diferença desaparece em muitos casos *in vivo* durante as primeiras 6-8 semanas, sendo que os valores de perda óssea são semelhantes em ambas as superfícies.(51-56)

2.4.2. Topografia de superfície e rugosidade vs. integração celular

Pode-se dividir as superfícies dos implantes orais em baixa, moderada e alta rugosidade.(57) A zona rugosa dos implantes é adequada para o envolvimento por tecido duro, enquanto que a zona polida corresponde à que irá ser envolvida por tecido mole.(57) Estas superfícies têm estruturas medidas na escala de comprimento em milímetros (mm), micrómetros (μm) e nanómetros (nm).(57)

A rugosidade da superfície pode ser um dos principais factores que determinam o prognóstico e o sucesso do implante.(58-60)

Uma vez que diversos estudos e relatórios experimentais de Aboushelib *et al.*, Svanborg *et al.* e Wennerberg *et al.* demonstraram que as nanoestruturas podem ser relevantes no processo de osteointegração, verificando-se que há uma resposta óssea mais rápida em superfícies rugosas comparando com superfícies polidas, é de extremo interesse estudar o aspecto a nível nanométrico da rugosidade da superfície dos implantes.(46, 61, 62)

O tecido mole ao redor dos implantes dentários forma uma barreira entre o ambiente oral e osso peri-implantar e é um factor crucial para o sucesso a longo prazo.(63) Esta barreira é de grande importância uma vez que Dorkhan *et al.* comprovaram que bactérias comensais podem afectar a adesão de células de tecidos moles à superfície do implante *in vivo*.(64)

Relativamente à rugosidade da superfície do implante, esta tem um efeito significativo sobre o comportamento celular, uma vez que com o aumento da rugosidade existem mais superfícies de contacto e portanto uma maior possibilidade para a deposição e futura integração das células.(65, 66) Por exemplo, a topografia de superfície do titânio modifica a ligação, orientação, espalhamento, proliferação e diferenciação de células, bem como a expressão protéica.(67) Em particular, a rugosidade da superfície do titânio induz a expressão alterada de subunidades de integrina (proteína de adesão presente na membrana celular) e de produção de proteínas da matriz extracelular relacionadas com o osso por osteoblastos humanos.(68, 69) Propôs-se, após estudos realizados por Bornstein *et al.* e Trisi *et al.*, que as interacções celulares com diferentes superfícies de implantes traduzem-se numa melhoria da osteointegração a nível clínico.(70, 71)

Embora os efeitos da rugosidade da superfície tenham sido bem caracterizados a nível de osteoblastos e osso, a crescente ênfase na gestão dos tecidos moles e estética associada a implantes dentários requer uma retribuição similar para as interacções celulares gengivais em superfícies de implantes.(67) Estas interacções com o ambiente extracelular dependem principalmente dos receptores de integrina, que são uma família de glicoproteínas da transmembrana e o principal tipo de receptores através dos quais as células se ligam às moléculas extracelulares tais como o colagénio e a fibronectina.(72, 73) Um certo número de subunidades de integrina foi identificado em células do periodonto, especificamente no tecido gengival.(67) Com o papel crítico de ligação da integrina na regulação da actividade celular e nas interacções extracelulares, os padrões específicos de expressão de integrinas em fibroblastos gengivais podem ter um impacto directo sobre a interface polida tecido-implante.(67) Além disso, a expressão da integrina no periodonto é dependente da topografia da superfície do implante, sendo que as suas subunidades contribuem de forma importante para a fixação de células de fibroblastos gengivais em superfícies de titânio (tanto polida como rugosa).(67) Também é de consenso, em diversos estudos, que a rugosidade da superfície pode alterar a orientação celular.(65, 74-76)

Interessantemente, as células cultivadas sobre as superfícies polidas tendem a quebrar facilmente quando a amostra é processada para microscopia electrónica de varrimento, enquanto que as cultivadas nas superfícies rugosas parecem ser mais resistentes à decomposição e a grande maioria aparece intacta, podendo-se especular que há uma maior capacidade de resistência e fixação das células sobre as superfícies rugosas.(67) O aumento da rugosidade da superfície foi associado a aumentos na expressão de integrina para as células osteoblásticas.(69, 77) Conseguiu-se, então, demonstrar que a morfologia do fibroblasto gengival, consistente com o comportamento osteoblástico é influenciada pelas características de rugosidade da superfície dos implantes orais.(67).

Bachle *et al.*, relacionaram a ligação de células osteoblásticas ao material do implante, tendo relatado que uma superfície micro-rugosa ($Ra < 1\mu m$) favorece o crescimento e a ligação celular quando em comparação com uma superfície polida, que se comprovou através da observação de células cultivadas que apareceram mais pequenas e mais arredondadas na superfície polida em comparação com células maiores e mais achatadas observadas em superfícies micro e nano-rugosas.(78) O aumento da rugosidade da superfície usando partículas maiores verificou-se não melhorar a ligação de células e a sua viabilidade, o que indica que a rugosidade excessiva não melhora a fixação celular.(78)

Relativamente à osteointegração em implantes colocados em locais com defeitos marginais, Botticelli *et al.*, verificaram que a mesma é influenciada pelas características da superfície do implante, sendo que os defeitos ao redor de implantes de superfície rugosa, como a SLA, exibiu após quatro meses de cura um preenchimento ósseo substancial e um alto grau de osteointegração, quer após a instalação de implantes tissue level (nível gengival) ou bone level (nível ósseo).(79)

Segundo Mustafa *et al.*, estudos sobre o efeito de modificação de superfície sobre a diferenciação dos osteoblastos e o metabolismo são limitados e um tanto contraditórios.(14) Alguns estudos demonstram que as superfícies rugosas favorecem a diferenciação dos osteoblastos mas inibem a proliferação celular, enquanto que outros mostram que a proliferação osteoblástica aumenta em superfícies rugosas.(80-83) Estes resultados sugerem que a rugosidade da superfície do implante modula a proliferação osteoblástica, a diferenciação e a produção da matriz *in vitro* e podem alterar a expressão fenotípica das células *in vivo*.(14)

No que diz respeito à superfície do implante em termos de rugosidade e microtextura, esta pode afectar a organização das fibras de colagénio na zona de interface implante-osso/tecido, uma vez que tem a capacidade de modificar a arquitectura e função celular, aumentando o metabolismo e orientação das células e a sua expressão fenotípica e proporcionando um melhor apoio gengival.(6, 84) Também as estruturas nanométricas são de extrema importância, porque influenciam o modo e o tempo em que as proteínas se unem à superfície do implante, o que por sua vez pode modificar os estados iniciais de cicatrização óssea e conseqüentemente saber quando é apropriado exercer carga nos implantes, após a sua colocação.(61) A este nível, verificou-se que modificações à nanoescala de superfícies endósseas de implantes de titânio podem alterar as respostas celulares e tecidulares, que por sua vez beneficiam a osteointegração e a terapia com implantes dentários.(85, 86)

Por outro lado, observou-se que a rugosidade aumenta e a composição química é reforçada sobre a superfície dos implantes de zircónia com micro-ranhuradas.(87) Estas micro-ranhuradas modificam a morfologia e orientam o tamanho e o alinhamento dos osteoblastos fetais humanos.(87)

A nível químico, a superfície do implante parece afectar o comportamento das células apenas em momentos iniciais.(84)

Resumindo, uma superfície topograficamente rugosa é desejável para aumentar o processo de integração óssea, sendo que superfícies com rugosidade moderada mostram melhor resposta óssea, quando comparadas com rugosidade baixa e alta.(44) Superfícies polidas são, por outro lado, as mais viáveis para a proliferação de tecidos moles.(88)

2.5. Tratamentos de superfície

Na última década, a atenção tem sido focada na otimização da superfície de implantes dentários, utilizando diferentes abordagens na tentativa de melhorar o seu desempenho.(46)

Para melhorar o desempenho mecânico e a biocompatibilidade dos implantes, diversos tratamentos de superfície têm sido recentemente aplicados, entre os quais a deposição de hidroxiapatite ou fosfato de cálcio em nanocamadas, a implantação de iões de magnésio, o jacteamto com partículas de óxido de alumínio (alumina) e o condicionamento com ácidos fortes tais como o ácido clorídrico, ácido fluorídrico ou ácido sulfúrico.(89) Actualmente, a combinação de jacteamto com condicionamento ácido (SLA) é um dos tratamentos de superfície mais utilizadas para implantes de titânio.(46) Para a zircónia, a escolha permanece entre a manutenção de uma superfície relativamente polida (superfície com marcas característicos da técnica de processamento) ou jacteamto com os métodos sugeridos de tratamentos de superfície.(46) Segundo Fischer *et al.*, estes tratamentos conseguem ser realizados, dentro de determinados limites, sem afectar a morfologia da superfície da zircónia e a sua fracção monoclinica, o que se torna um facto relevante que sugere que não há riscos na ocorrência de micro-fissuras que podem levar a futuras fracturas do material.(90)

Estas técnicas microtexturizadas físicas e químicas são actualmente aplicadas em implantes dentários para produzir diferentes geometrias e graus de rugosidade da superfície (nanoporos).(89) A aplicação destas técnicas de modificação visa melhorar as interacções célula-superfície e estimular a actividade celular (por exemplo, o crescimento celular dos osteoblastos através das microestruturas) sendo que o objectivo final passa por melhorar a osteointegração e a força e resistência da interface osso-implante para a carga funcional a longo prazo.(89, 91).

2.5.1. Jacteamento

O jacteamento é uma técnica em que normalmente se usam partículas de óxido de alumínio (alumina), ou outra cerâmica dura, com a finalidade de criar micro-rugosidades na superfície do implante.(92) O impacto das partículas de alumina (Al_2O_3) está limitado pelo tamanho dos seus grãos, pela pressão e pela distância entre a superfície do implante e a agulheta.(90) Segundo um estudo de Fischer *et al.* realizado em implantes de zircónia, o jacteamento cria uma rugosidade máxima de $1,2\mu\text{m}$ (valores de Ra) após quatro ciclos, sendo que para além deste número o jacteamento não acrescenta nenhum efeito adicional à superfície.(90) A fracção monoclinica da zircónia aumenta à medida que o número de ciclos de jacteamento também aumenta, até à fracção dos 16%.(90) Com as amostras de ensaio de resistência à flexão, demonstrou-se que a zircónia com uma camada de superfície enriquecida com a fase monoclinica, aumentou a resistência do implante em 15%.(93) No entanto, deve ser considerado que o jacteamento, apesar de aumentar a resistência estática, diminui a resistência à fadiga.(94).

A alumina é frequentemente incorporada na superfície do implante e o resíduo permanece mesmo após a limpeza ultra-sónica, a passivação de ácido e a esterilização.(92) Esta cerâmica é insolúvel em ácido e, portanto, difícil de remover da superfície de titânio.(92) Em alguns casos, estas partículas são libertadas para os tecidos circundantes e interferem com a osteointegração dos implantes.(92) Além disso, essa heterogeneidade química da superfície do implante pode reduzir a excelente resistência à corrosão do titânio num ambiente fisiológico.(95)

O óxido de titânio também é utilizado para jacteamento de implantes dentários de titânio.(92) Partículas de óxido de titânio com um tamanho médio de $25\mu\text{m}$ produzem uma superfície moderadamente rugosa, na gama dos $1-2\mu\text{m}$.(92) Um estudo experimental de Ivanoff *et al.* que usou micro-implantes em humanos demonstra uma melhoria significativa do contacto osso-implante (BIC) para os implantes jacteados com TiO_2 em comparação com superfícies maquinadas.(96) Wennerberg *et al.* demonstraram que o jacteamento abrasivo com TiO_2 ou partículas de Al_2O_3 apresentam valores semelhantes de contacto osso-implante, mas aumentam drasticamente a fixação biomecânica dos implantes quando comparados com titânio polido.(97) Estes estudos confirmam que a rugosidade dos implantes dentários de titânio aumenta a sua fixação mecânica ao osso, mas não a sua fixação biológica.(92)

Uma terceira possibilidade para tornar rugosa a superfície de implantes dentários de titânio consiste em utilizar um material para jacteamo biocompatível, osteocondutor e reabsorvível.(92) Os fosfatos de cálcio, tais como a hidroxiapatite (HA) e o fosfato beta-tricálcico têm sido considerados materiais úteis para este fim uma vez que são reabsorvíveis, levando a uma superfície texturizada do implante, limpa e pura.(92) Estudos experimentais de Novaes *et al.* e Piattelli *et al.* têm demonstrado um maior contacto osso-implante com estas superfícies quando comparadas com superfícies maquinadas.(98, 99) Por outro lado, Müller *et al.* demonstraram um contacto osso-implante semelhante ao observado com os outros tipos de superfícies jacteadas quando a osteointegração é atingida.(100)

2.5.2. Condicionamento ácido

O condicionamento ácido é outra técnica de tratamento de superfície de implantes que remove as partículas de grão.(101) Este é realizado com ácidos fortes, tais como ácido clorídrico (HCl), ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido nítrico (HNO₃) ou ácido fluorídrico (HF).(92) O condicionamento ácido produz micro-cavidades em superfícies de titânio com tamanhos que variam de 0,5µm a 2µm de diâmetro.(102, 103)

A imersão de implantes de titânio durante vários minutos numa mistura de HCl concentrado e H₂SO₄ aquecido acima de 100°C (duplo condicionamento ácido) é utilizada para produzir uma superfície micro-rugosa.(92) Este tipo de superfície promove uma rápida osteointegração, mantendo o sucesso a longo prazo.(104) Verificou-se que as superfícies com duplo condicionamento ácido melhoram o processo osteocondutivo através da ligação de células osteogénicas e fibrina, resultando na formação de osso directamente sobre a superfície do implante.(105) Na área peri-implantar foi descrito por Trisi *et al.* tecido ósseo com trabeculado fino projectando-se nos implantes.(71) Estudos de Davies *et al.* e Trisi *et al.* formulam a hipótese de que os implantes tratados pelo duplo condicionamento ácido têm uma topografia específica capaz de se ligar ao *scaffold* de fibrina, para promover a adesão de células osteogénicas, e, assim, promover a aposição óssea.(11, 106) Investigações experimentais de Trisi *et al.* e Cochran *et al.* reportaram um maior contacto osso-implante e uma menor reabsorção óssea com superfícies sujeitas a duplo

condicionamento ácido em comparação com superfícies maquinadas ou sujeitas a pulverização de plasma de titânio (TPS).(107, 108)

O condicionamento ácido realizado à superfície rugosa dos implantes, segundo Zhao *et al.*, Gruber *et al.* e Oliva *et al.* aumenta ligeiramente a sua micro-rugosidade, quer em implantes de titânio puro, de liga titânio-zircónio e de zircónia.(45, 101, 109) A rugosidade da superfície é determinada pela microestrutura e o tamanho de grão, o que explica que o condicionamento ácido prolongado não poderia aumentar a rugosidade.(90)

2.5.3. Temperatura

Uma outra técnica de tratamento de superfície passa pela temperatura, tendo-se verificado que esta não apresenta nenhuma influência sobre a micro-morfologia da superfície.(90) Esta observação pode ser explicada pelo facto de o ácido, que é normalmente utilizado na fase anterior, já ter arredondado as zonas mais afiadas e as arestas da superfície.(90) Num estudo realizado por Fischer *et al.*, após 1h de tratamento com temperatura, de amostras condicionadas com ácido, a fracção monoclinica da zircónia reduziu dramaticamente, que pode facilmente ser explicado pelo facto de que a 1250°C apenas a fase tetragonal ser estável.(90)

2.5.4. Pulverização com plasma de titânio

Outro método de produzir superfícies rugosas em implantes é a pulverização de plasma de titânio (TPS).(92) Este método consiste na injeção de pós de titânio num maçarico de plasma a uma temperatura elevada.(92) As partículas de titânio são projectadas sobre a superfície dos implantes, onde condensam e fundem em conjunto, formando uma película de cerca de 30µm de espessura.(92) O revestimento resultante do TPS tem uma rugosidade média de 7µm, o que aumenta a área de superfície do implante.(92) Tem-se demonstrado que esta topografia tridimensional aumenta a resistência à tracção na interface osso-implante.(110) No entanto, as partículas de titânio são, por vezes, encontradas no osso adjacente a estes implantes.(111) Num estudo clínico realizado por Rocuzzo *et al.*, comparando superfícies de implantes

SLA e TPS, não foi observada nenhuma diferença clínica entre estas duas superfícies, sendo que acabou por se abandonar este tipo de tratamento de superfície.(112)

2.6. Superfície dos implantes e a peri-implantite

Um dos grandes insucessos muitas vezes relacionado com a superfície dos implantes é a peri-implantite.(113) A peri-implantite é considerada uma doença infecciosa multifactorial caracterizada pela perda de suporte ósseo e sangramento à sondagem, muitas vezes associada a um aumento de profundidade da bolsa peri-implante, recessão da mucosa, ou supuração.(113) Esta doença é desencadeada pela colonização subgingival do implante com microrganismos Gram-negativos, além de factores de risco tais como a má higiene oral peri-implantar, o tabagismo e história de doença periodontal prévia.(113) A peri-implantite causa reabsorção óssea marginal e pode levar à falha do implante, sendo que os materiais do mesmo não podem impedir completamente a adesão bacteriana e a consequente colonização das superfícies por substratos.(114) Esta colonização é realizada por espécies bacterianas normalmente encontradas na fase inicial da formação de biofilme (*Streptococcus* spp. e *L. casei*), bem como por agentes patogénicos periodontais (*T. denticola*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*).(114)

Nascimento *et al.* compararam a adesão bacteriana entre pilares de vários materiais e concluíram que a zircónia possuía os valores mais baixos de adesão, seguida do titânio puro maquinado e do titânio polido (fundido), sendo que este último foi o único que mostrou a presença de *A. actinomycetemcomitans* em 100% das amostras (bactéria reportada em infecções periodontais e peri-implantares de difícil remoção).(114) Noutro estudo semelhante, Bürgers *et al.* demonstraram que ocorre maior adesão bacteriana em titânio jactado quando comparado com titânio puro.(115)

Investigações realizadas por Quiryneen *et al.* têm relatado que a penetração de bactérias através da interface implante-pilar pode constituir um risco potencial de inflamação dos tecidos de suporte, que se não for controlada pode comprometer o sucesso a longo prazo das restaurações implanto-suportadas.(116, 117) Outros estudos desenvolvidos por Qian *et al.* e Albrektsson *et al.* não encontraram evidência entre a infecção primária e a reabsorção óssea marginal em si, associando-a sim à

combinação da superfície e desenho do implante, do manuseamento clínico e das características do paciente, podendo mesmo ser provocada por uma resposta desequilibrada do organismo a um corpo estranho.(118, 119) No entanto, uma vez que o dano tecidual foi causado por factores combinados, a inflamação e/ou infecção podem desenvolver-se secundariamente e, em seguida, resultar numa peri-implantite que pode precisar de especial tratamento clínico, que depende por sua vez das características da superfície do implante.(118, 120)

Quirynen *et al.* abordaram a superfície do implante como um factor de risco para infecções peri-implantares mostrando que os pacientes com implantes muito rugosos parecem ser mais susceptíveis a peri-implantite ou perda tardia do implante.(121) Verificou-se também, que a perda óssea marginal na área do colo do implante parece ocorrer qualquer que seja a sua configuração.(122) Por outro lado, algumas investigações levadas a cabo por Quirynen *et al.*, Bürgers *et al.* e Hahnel *et al.* sugeriram que a energia livre de superfície pode influenciar a colonização bacteriana, sendo que se demonstrou que a rugosidade é o principal factor que favorece a adesão de microrganismos em superfícies de titânio, enquanto que outros estudos relataram que a energia livre de superfície parece ser mais importante na formação inicial fúngica de biofilme em superfícies de zircónia.(117, 123, 124) Ou seja, o aumento de rugosidade e de energia livre de superfície facilita a formação de biofilme na superfície do implante ou do pilar e promove respostas ósseas mais fortes.(49, 125)

O uso de agentes anti-microbianos naturais na superfície do implante é uma solução encontrada para diminuir a formação de biofilme e assim reduzir a placa bacteriana, com a finalidade de diminuir o risco de infecções futuras.(126)

2.7. Técnicas de caracterização de superfície

Existem diversas técnicas disponíveis hoje em dia para a caracterização de superfície de implantes dentários.

Os principais materiais utilizados em superfícies de implantes (TiO_2 , zircónia, HA) mostram uma arquitectura cristalina específica.(127) Como referido anteriormente, o TiO_2 pode ser encontrado na fase amorfa ou em três formas cristalinas principais (anatase, rutilo, brookite) sobre uma superfície de implante, com diferentes rácios.(128) A forma de rutilo é a mais comum e estável, mas o tratamento de superfície influencia consideravelmente a composição e estrutura cristalina da superfície.(129, 130) A este nível, a difracção de raios-X (DRX) permite determinar parâmetros estruturais, tais como as proporções das várias fases cristalinas, a principal orientação cristalina, granulometria (tamanho dos grãos), cristalinidade e deformação.(131) Actualmente, estes pontos foram poucas vezes avaliados em superfícies comercialmente disponíveis e podem ser adicionados à classificação se forem apresentados dados relevantes no futuro.(132)

A topografia de uma superfície é caracterizada tipicamente pela sucessão de picos e vales, que podem ser quantificados usando instrumentos de perfil óptico a duas ou três dimensões, sendo que existe uma vasta gama dos mesmos.(127) Este é um método de medição de rugosidade atractivo uma vez que são de não-contacto, ou seja, não destrutivos.(62) Recentemente, a avaliação da rugosidade a três dimensões (S_a) foi introduzida e considerada como um método mais importante e confiável do que a medição da rugosidade a duas dimensões, R_a .(50) O R_a corresponde à rugosidade média do perfil (parâmetro de amplitude), definido como o integral do valor absoluto de altura de picos e vales avaliada ao longo do perfil (linha), enquanto que o S_a , também ele um valor de amplitude, representa o desvio de altura médio da superfície (área), calculado em padrões 2D e estendido para padrões 3D.(127) Outro parâmetro avaliado é o S_{dr} , que é dado em percentagem e corresponde ao parâmetro híbrido integrando tanto o número como a altura dos picos numa determinada superfície, e expressa a densidade espacial.(127) O S_{dr} é definido como a razão entre a área da superfície desenvolvida e uma superfície plana/lisa de referência, sendo que expressa o incremento da área de superfície interfacial em relação a um plano de linha de base plana.(127) Para uma superfície totalmente plana/lisa, o valor de S_{dr} é de 0%, sendo que quando o S_{dr} é de 100% significa que a rugosidade de uma superfície

duplicou a sua área planificada.(127) Os instrumentos de perfil óptico são normalmente mais rápidos e têm uma melhor resolução do que os de contacto mecânico, sendo que têm sido usados principalmente em estudos experimentais que avaliam discos ou cilindros.(62)

A técnica de SEM (microscopia electrónica de varrimento) é o *gold standard* para a caracterização da morfologia tanto a nível micrométrico como nanométrico.(127) Acoplado ao aparelho do SEM, encontra-se um detector auxiliar de EDS (espectrometria de energia dispersiva de raio-X) que permite identificar eficientemente a composição elementar das estruturas observadas e é importante para materiais com modificações químicas.(127) Esta é uma análise elementar simples que permite identificar os elementos até à nanoescala, e, assim, identificar partículas ou estruturas observadas com o SEM.(127)

Outro método de caracterização de superfície é através da medição do ângulo de contacto entre uma gota e a superfície do implante.(48) O resultado dirá se a superfície é hidrofóbica se o ângulo for maior que 90° ou hidrofílica, caso o ângulo seja menor que 90°.(48) O facto da superfície do implante ser hidrofóbica ou hidrofílica pode alterar a capacidade de osteointegração.(133) Por exemplo, uma superfície hidrofílica promove o aumento da deposição óssea no implante em estados iniciais de regeneração óssea.(133)

O envelhecimento ocorre experimentalmente na zircónia, principalmente numa atmosfera húmida ou em água.(134) A degradação a baixa temperatura tem sido associada a vários biomateriais à base de Y-TZP.(134) Por conseguinte, a norma ISO 13356 recomenda que as amostras de YTZP sejam colocadas num autoclave adequado e exposto ao vapor a 134°± 2, sob uma pressão de 0,2 MPa (2bar), durante um período de 5h, com o objectivo de criar um envelhecimento artificial.(37) Preconiza-se que este envelhecimento corresponde a 10-20 anos do implante de zircónia em boca.(2)

3. Problema em estudo

3. Problema em estudo

O objectivo deste estudo passa por caracterizar a superfície de implantes de titânio, titânio-zircónio e zircónia, já comercializados, investigando se a rugosidade das suas superfícies a nível nanométrico se relaciona com a rugosidade a nível micrométrico, a relação entre características como a composição química e cristalográfica, a molhabilidade e a rugosidade nos resultados conhecidos de osteointegração. Esta caracterização é essencial para estabelecer a importância da rugosidade das superfícies dos implantes e a sua relação na integração tecidual.

4. Metodologia

4. Metodologia

4.1. Materiais

4.1.1. Implantes dentários

Um implante Straumann® Standard Plus SLA® tissue level de titânio (diâmetro: 4.1mm, comprimento: 8mm).

Dois implantes Straumann® Roxolid® SLA® Loxim™ titânio e zircônio: um bone level (diâmetro: 3.3mm, comprimento: 8mm) e um tissue level (diâmetro: 4.1mm, comprimento: 8mm).

Dois implantes (designados de 1 e 2) Straumann® Pure Ceramic ZLA™ de zircônia (diâmetro: 4.1mm, comprimento: 8mm, AH: 4mm) peça única, considerados tissue level.

As superfícies destes implantes são, segundo a marca, jacteadas e sofrem condicionamento ácido.

4.2. Métodos de análise de superfície

4.2.1. Difraccção de raio-X

As fases cristalinas dos cinco implantes foram detectadas num difractómetro de raios-X (X'PERT-PRO), com radiação de cobre $K\alpha$, $\lambda = 1,54\text{\AA}$.

Os seguintes parâmetros foram estipulados para obtenção dos dados: 2θ de 4° - $99,9^\circ$; passo 2θ de largura de $0,0130^\circ$; tempo por etapa de 498,27s; contínua, com temperatura de medição de 25°C ; gerador de 40mA e 45kV; com rotação (spinning); duração de 5h (cada um).

As fases cristalinas presentes na superfície dos implantes foram identificadas utilizando uma base de dados. Utilizaram-se todos os implantes nesta técnica.

Numa segunda fase, o implante de zircônia que sofreu envelhecimento (2), voltou a ser avaliado no DRX após o mesmo, com as mesmas condições descritas anteriormente, com a finalidade de verificar se ocorreram mudanças de fase cristalina durante o procedimento.

4.2.2. Perfilometria óptica

Para medir a rugosidade dos implantes, utilizou-se a técnica de perfilometria óptica com recurso a um perfilómetro confocal (S neox Non-contact 3D optical profiler, Sensofar-Tech, SL.). A técnica utilizada foi a microscopia de varrimento a laser confocal, que é um sistema de detecção de foco que permite medir, através de um foco de luz, a rugosidade da superfície dos implantes a três dimensões sem contacto com a amostra. Torna-se, assim, um teste não destrutivo.

Utilizaram-se, para esta técnica, os implantes de titânio, titânio-zircónio (tissue level e bone level) e o implante de zircónia 1. Procedeu-se à deposição de carbono na superfície do implante de zircónia, de modo a permitir uma melhor absorção da luz e, portanto, uma correcta visualização das características da superfície.

As imagens foram captadas nas zonas polida e rugosa (coronária, apical, topo e vale de uma espira) dos vários implantes com uma ampliação de 50x e uma área medida de 350x260µm.

As medições realizaram-se em cada imagem captada numa área de 52.84x52.84µm². O valor final de cada área consistiu numa média de cinco medidas dos valores de Sa. Os valores de Sdr de cada imagem foram dados automaticamente pelo programa após a captação da mesma.

Não se anularam a curvatura nem a ondulação, nem se usou o filtro de Gaussian.

4.2.3. Ângulo de contacto

Realizou-se a técnica de medição do ângulo de contacto (Optical Contact Angle Meter & Interfacial Tensiometer SL200HT, USA Kino Industry Co. Ltd.) com a finalidade de verificar a molhabilidade de um líquido sobre as superfícies dos implantes, ou seja, concluir se as mesmas são hidrofóbicas ou hidrofílicas.

O líquido que se utilizou foi o SBF (simulated body fluid), que é uma solução com uma concentração de iões próxima à do plasma de sangue humano, mantida sob condições de pH moderadas e temperatura fisiológica idêntica.

Uma gota com o volume de 1µl de SBF deixou-se cair em cada uma das superfícies dos diversos implantes (apenas se utilizou para o efeito um dos implantes

de zircónia, o 1). Este procedimento realizou-se na zona rugosa (coronária e apical) e na zona polida dos mesmos.

Os ângulos de contacto entre a gota e a superfície dos diversos implantes foram posteriormente calculados de acordo com os valores correspondentes de Sdr para cada área, fornecidos na perfilometria óptica, de modo a considerar o rácio da rugosidade (r). Este valor calculou-se através da expressão $r=1+Sdr/100$.

4.2.4. Microscopia electrónica de varrimento

A técnica de microscopia electrónica de varrimento utilizou-se para a análise da morfologia topográfica micro e nanométrica da superfície dos implantes. Para tal usou-se o aparelho Hitachi SU-70, Hitachi High-Technologies Europa, GmbH, Alemanha, com uma voltagem de aceleração de 15kV e uma corrente de feixe de 43 μ A.

Para esta técnica utilizaram-se todos os implantes à excepção de um dos implantes de zircónia (2).

As amostras foram colocadas num suporte de alumínio e fixadas com cola/pasta de carbono, com a finalidade de melhorar a condução de electrões. Após fixar-se os implantes sobre o suporte, depositou-se carbono na superfície do implante de titânio e de zircónia, através de um evaporador de carbono (Emitech K950 X), de modo a melhorar a condução do feixe de electrões e a torná-la mais estável, para uma observação e caracterização mais eficaz.

Depois da deposição seguiu-se então para a fase de observação através do varrimento da superfície dos diversos implantes com captação de imagens, já dentro do aparelho electrónico, a baixa ampliação (30x, 100x) e a alta ampliação (3000x, 10.000x e 70.000x). Observaram-se tanto as zonas rugosas como as zonas polidas dos diversos implantes.

Posteriormente, esta técnica utilizou-se após o envelhecimento do implante de zircónia 2, com as mesmas condições descritas.

4.2.5. Espectrometria de energia dispersiva de raio-X

A análise de composição dos implantes realizou-se por difracção de electrões secundários (EDS, Hitachi SU-70, Hitachi High-Technologies Europa, GmbH, Alemanha) durante a técnica anterior. Também aqui se verificou a presença de elementos químicos na zona rugosa (coronária e apical) e na zona polida dos vários implantes. Numa primeira fase estudaram-se os implantes de titânio, titânio-zircónio e zircónia 1 e numa segunda fase, após o envelhecimento, estudou-se o implante de zircónia 2.

4.2.6. Envelhecimento artificial

Esta técnica realizou-se segundo as normas ISO 13356 para implantes cirúrgicos feitos de materiais cerâmicos com base em zircónia tetragonal estabilizada com ítria (Y-TZP), apenas a um implante de zircónia (2).(37) Utilizou-se o 2, uma vez que no 1 foi depositado carbono na sua superfície nas técnicas anteriores, podendo levar a alterações nos resultados.

O teste realizou-se com o objectivo de acelerar o envelhecimento da superfície da zircónia e observar as suas alterações topográficas e de fase cristalina.

As amostras foram colocadas num autoclave adequado (Raypa) e exposto a vapor de água a $134 \pm 2^\circ\text{C}$ sob uma pressão de 0,2MPa (2bar), durante um período de 5h (realizaram-se dois ciclos de 2h e um ciclo de 1h). Após este período, arrefeceu-se o autoclave, retirou-se e secou-se o implante de zircónia. Este teste corresponde a 10-20 anos *in vivo*.

De seguida verificou-se a fase cristalina da zircónia no DRX, observou-se a amostra no SEM com as mesmas ampliações realizadas anteriormente e a análise química através de EDS.

5. Resultados

5. Resultados

5.1. Difraccção de raio-X

Relativamente à difracção de raio-X, o implante Straumann® Standard Plus SLA® tissue level de titânio apresenta na sua composição química de superfície os elementos titânio, carbonato de cálcio na fase romboédrica e na fase monoclinica (Figura 1). O ponto a) da Figura 7 mostra percentualmente a distribuição dos mesmos elementos.

O implante Straumann® Roxolid® SLA® Loxim™ de titânio e zircónio tissue level apresenta a liga titânio-zircónio, o elemento titânio e carbonato de cálcio na fase romboédrica (calcite) (Figura 2). O ponto b) da Figura 7 mostra as percentagens dos elementos, sendo que dada a quantidade ínfima do elemento titânio puro na superfície do implante, o mesmo não está representado no gráfico. No que diz respeito ao bone level, este apresenta os mesmos elementos que o tissue level, acrescentando o carbonato de cálcio na fase monoclinica (Figura 3), sendo que as percentagens se encontram diferenciadas no ponto c) da Figura 7.

Relativamente aos dois implantes de zircónia Straumann® Pure Ceramic ZLA™, ambos apresentam na sua constituição química os elementos óxido de zircónio na fase tetragonal e monoclinica e carbonato de cálcio (Figura 4 e 5), apenas diferenciando as suas percentagens (ponto d) e e) da Figura 7). Também se verificou que o estabilizador óxido de ítrio (íttria) estava presente na superfície de ambos os implantes, apenas se tendo colocado uma imagem do mesmo (Figura 6).

Os resultados percentuais mostrados na Figura 7 são representativos e não completamente rigorosos.

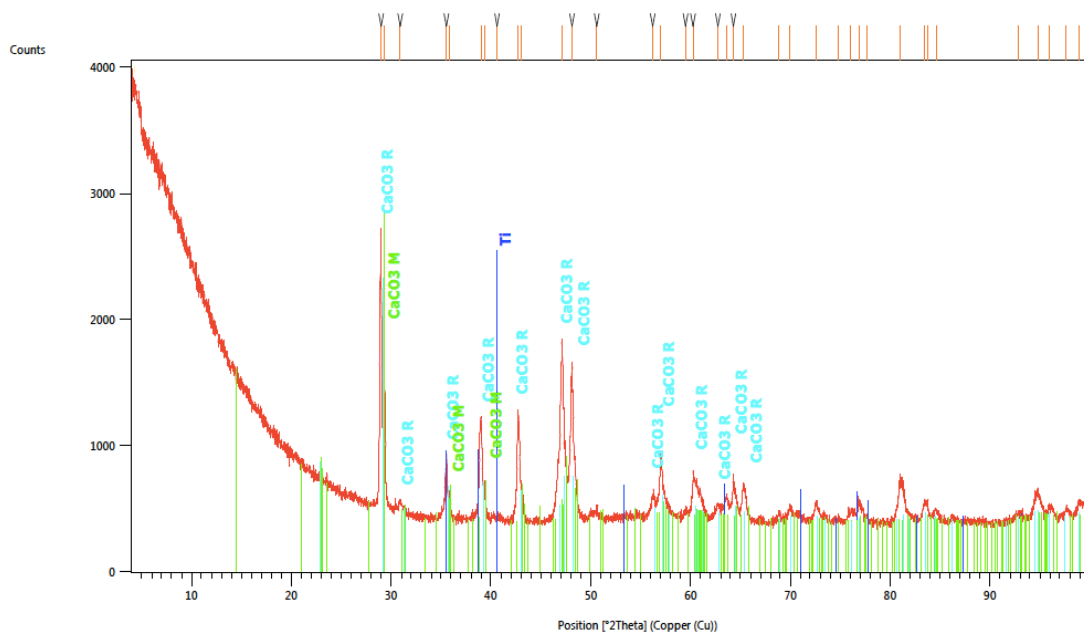


Fig. 1-Resultados DRX do implante de titânio superfície rugosa evidenciando a presença dos elementos titânio, carbonato de cálcio monoclínico e romboédrico.

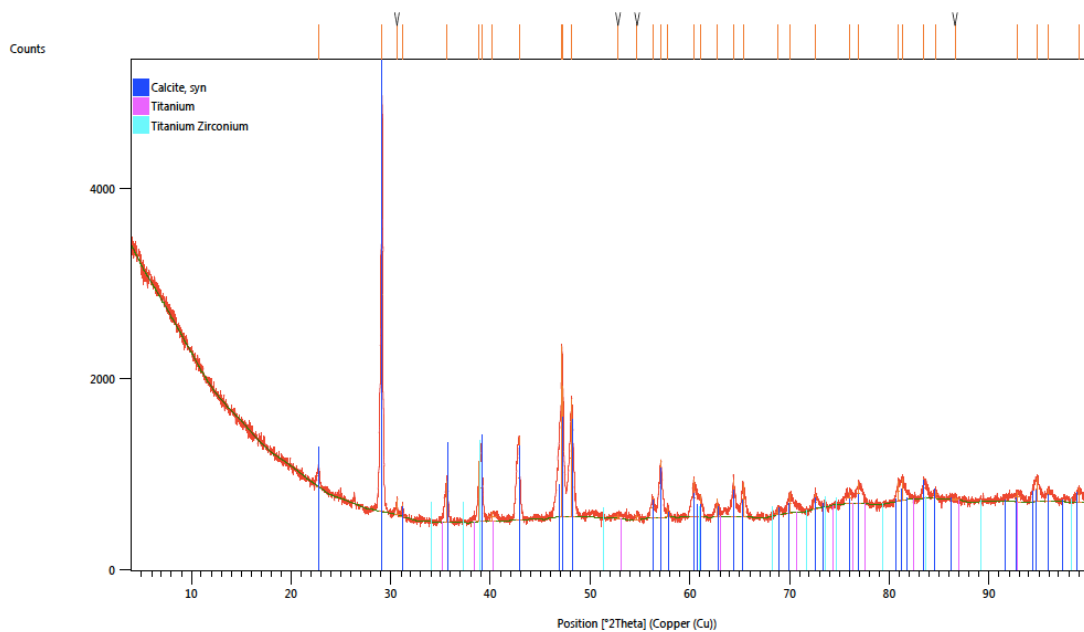


Fig. 2-Resultados DRX do implante de titânio-zircônio tissue level superfície rugosa evidenciando a presença da liga titânio-zircônio, elemento titânio e carbonato de cálcio romboédrico (calcite).

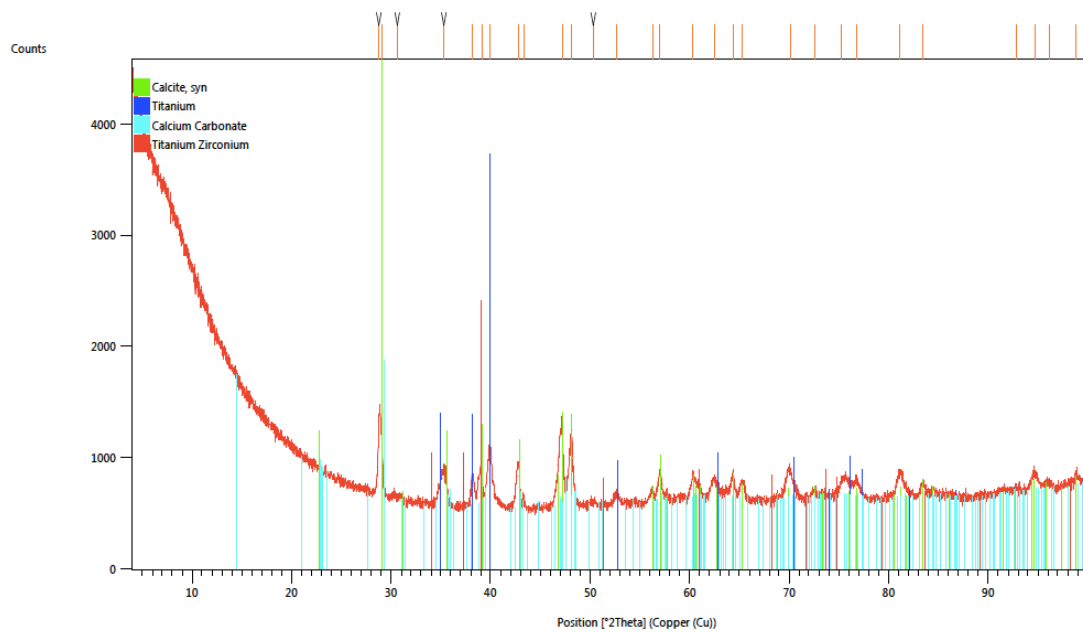


Fig. 3-Resultados DRX do implante de titânio-zircônio bone level superfície rugosa evidenciando a presença da liga titânio-zircônio, elementos titânio, carbonato de cálcio monoclínico e romboédrico (calcite).

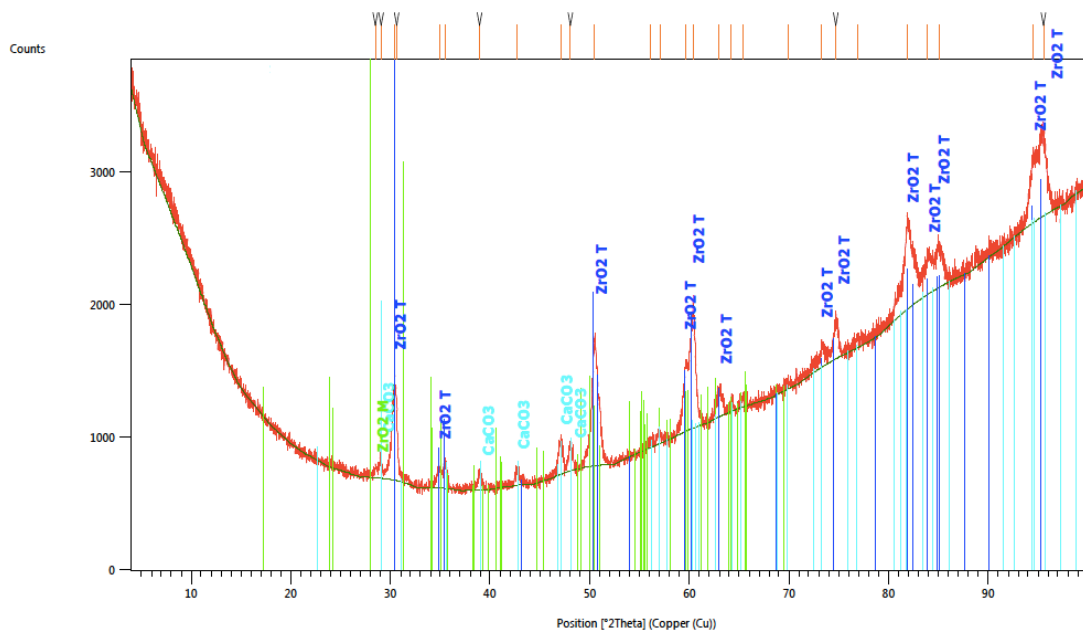


Fig. 4-Resultados DRX de um dos implantes de zircônia (1) superfície rugosa evidenciando a presença dos elementos óxido de zircônio na fase tetragonal (T) e monoclínica (M) e carbonato de cálcio.

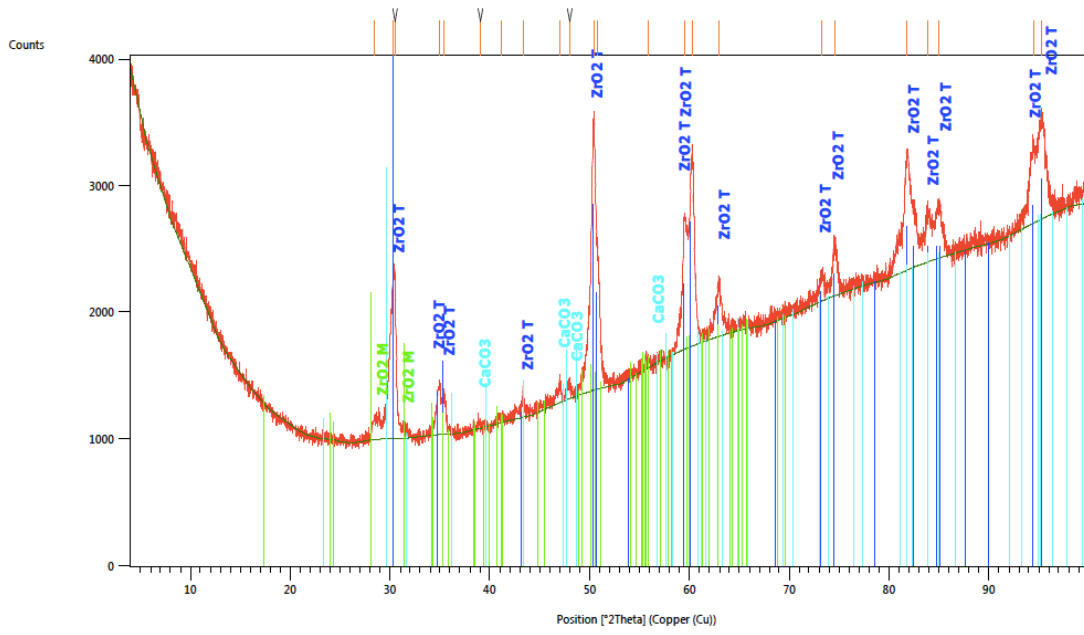


Fig. 5-Resultados DRX de um dos implantes de zircónia (2) superfície rugosa evidenciando a presença dos elementos óxido de zircónio na fase tetragonal (T) e monoclinica (M) e carbonato de cálcio.

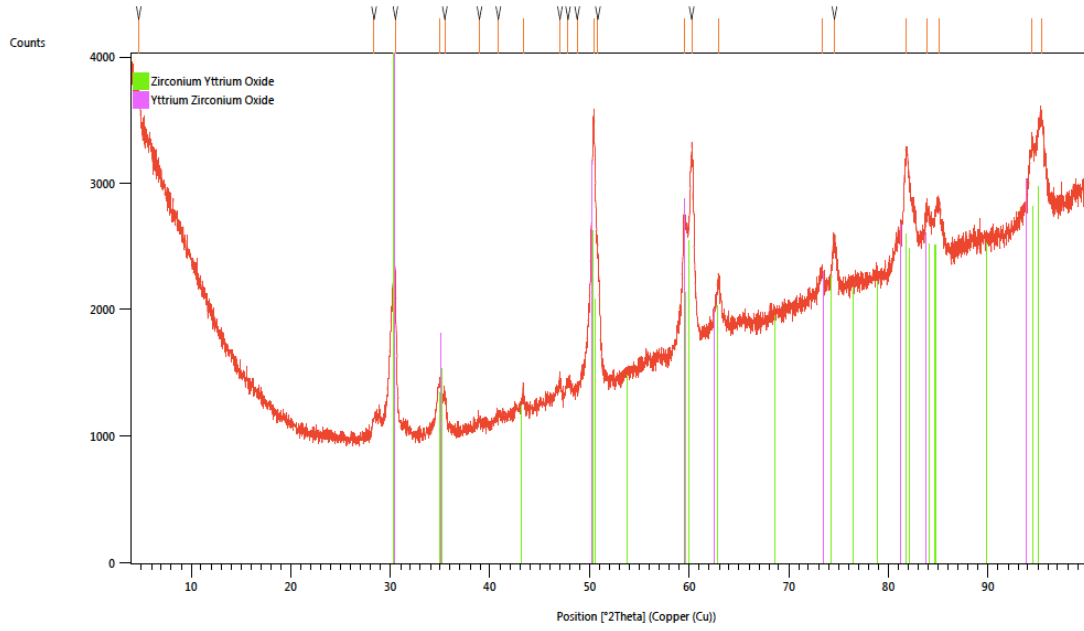


Fig. 6- Resultados DRX do implante de zircónia revelando a presença de óxido de ítrio.

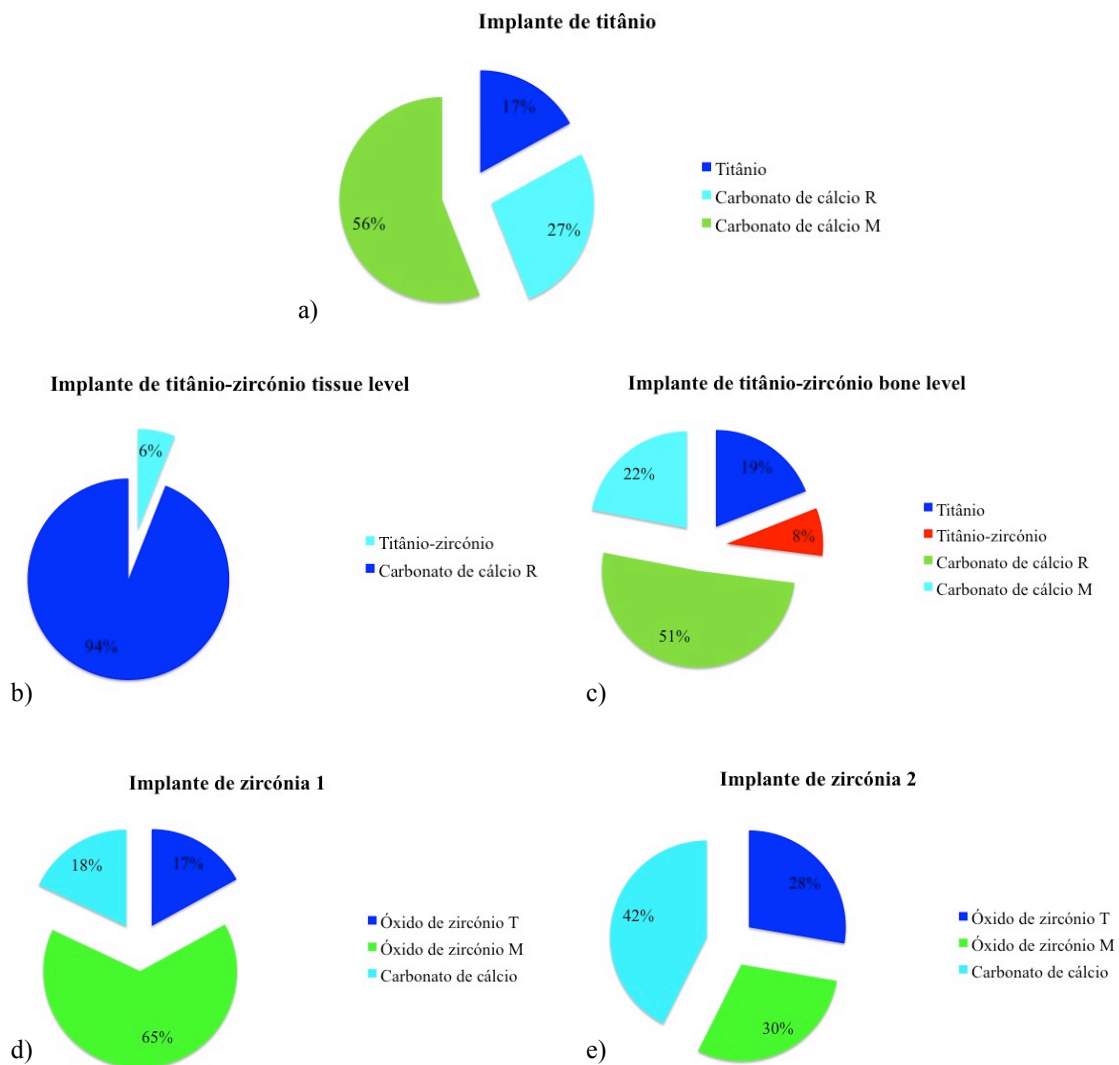


Fig. 7- Resultados percentuais dos diversos elementos químicos presentes nas superfícies dos implantes de a) titânio; b) titânio-zircônio tissue level; c) titânio-zircônio bone level; d) zircônia 1; e) zircônia 2.

5.2. Perfilometria óptica

A caracterização de superfície dos diversos implantes através da perfilometria óptica revelou resultados das diferentes rugosidades a três dimensões (S_a) e o valor híbrido (S_{dr}). A Figura 8 mostra as imagens da zona polida do implante de titânio (a), titânio-zircónio (b) e zircónia (c) conseguidas através desta técnica. Nestas imagens é possível verificar a baixa rugosidade destas estruturas e visualizar linhas transversais micrométricas. Relativamente à zona rugosa dos implantes de titânio (a), titânio-zircónio tissue level (b), titânio-zircónio bone level (c) e zircónia (d), a comparação das imagens a três dimensões das mesmas (Figura 9) permite visualizar a semelhança da topografia de superfície dos implantes de titânio (a) e titânio-zircónio (b, c) e a sua diferença com a do implante de zircónia (d). Este último demonstra uma altura de picos e vales menor que os outros implantes. Apesar de se terem captado imagens das diversas zonas rugosas dos implantes descritas anteriormente, optou-se, por motivos representativos, por apenas colocar uma imagem de cada implante para comparação geral.

Os valores de rugosidade a três dimensões S_a e os valores de S_{dr} estão resumidos na Tabela 1. Através das medições realizadas pode-se verificar que o implante com menor rugosidade na zona polida é o de titânio. A nível da zona rugosa, em todas as áreas seleccionadas (coronária, apical, topo e vale) o implante de zircónia apresenta os menores valores de rugosidade (S_a), sendo os implantes de titânio-zircónio que se verificaram ter os valores mais elevados. Relativamente aos valores de S_{dr} , tanto o implante de titânio como os de titânio-zircónio apresentaram valores mais elevados em comparação com o implante de zircónia.

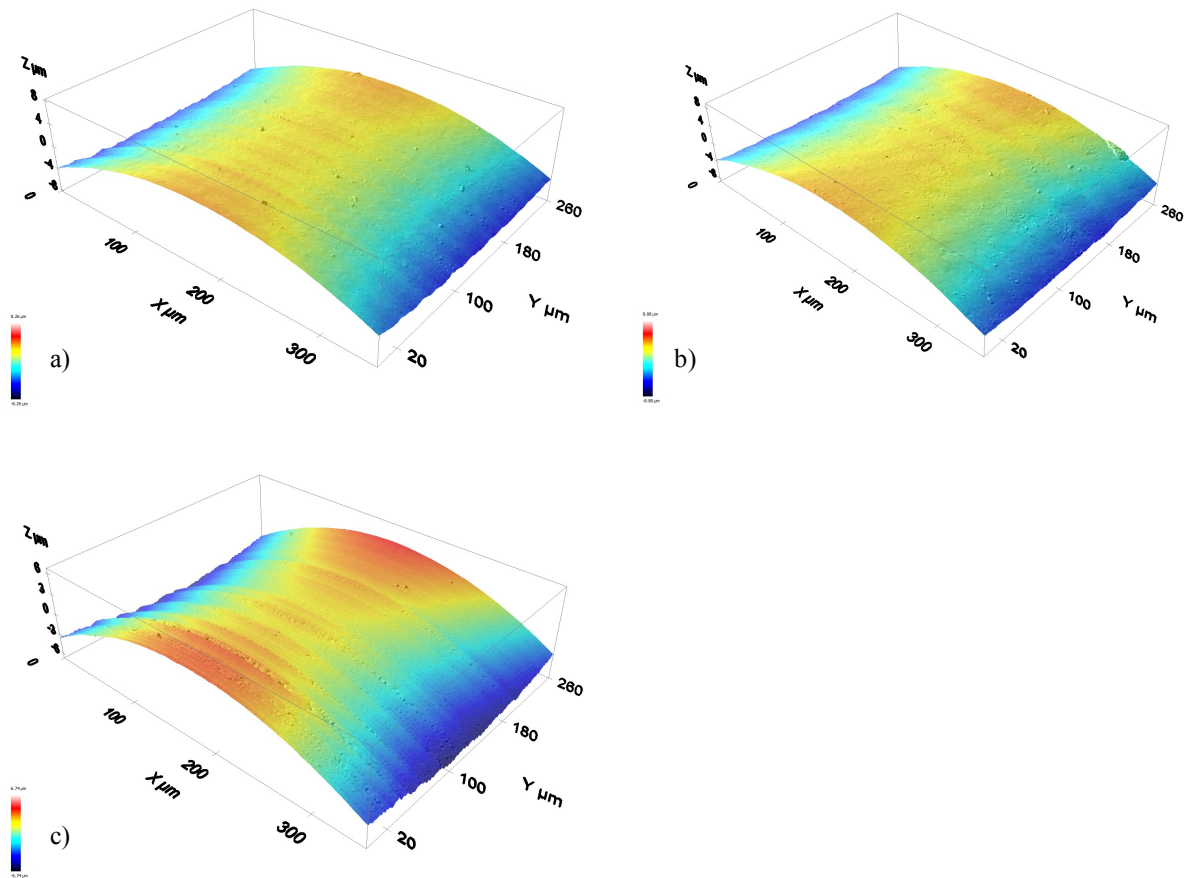


Fig. 8- Imagens a três dimensões conseguidas através do perfilómetro confocal da superfície da zona polida dos implantes de titânio (a); titânio-zircónio (b) e zircónia (c).

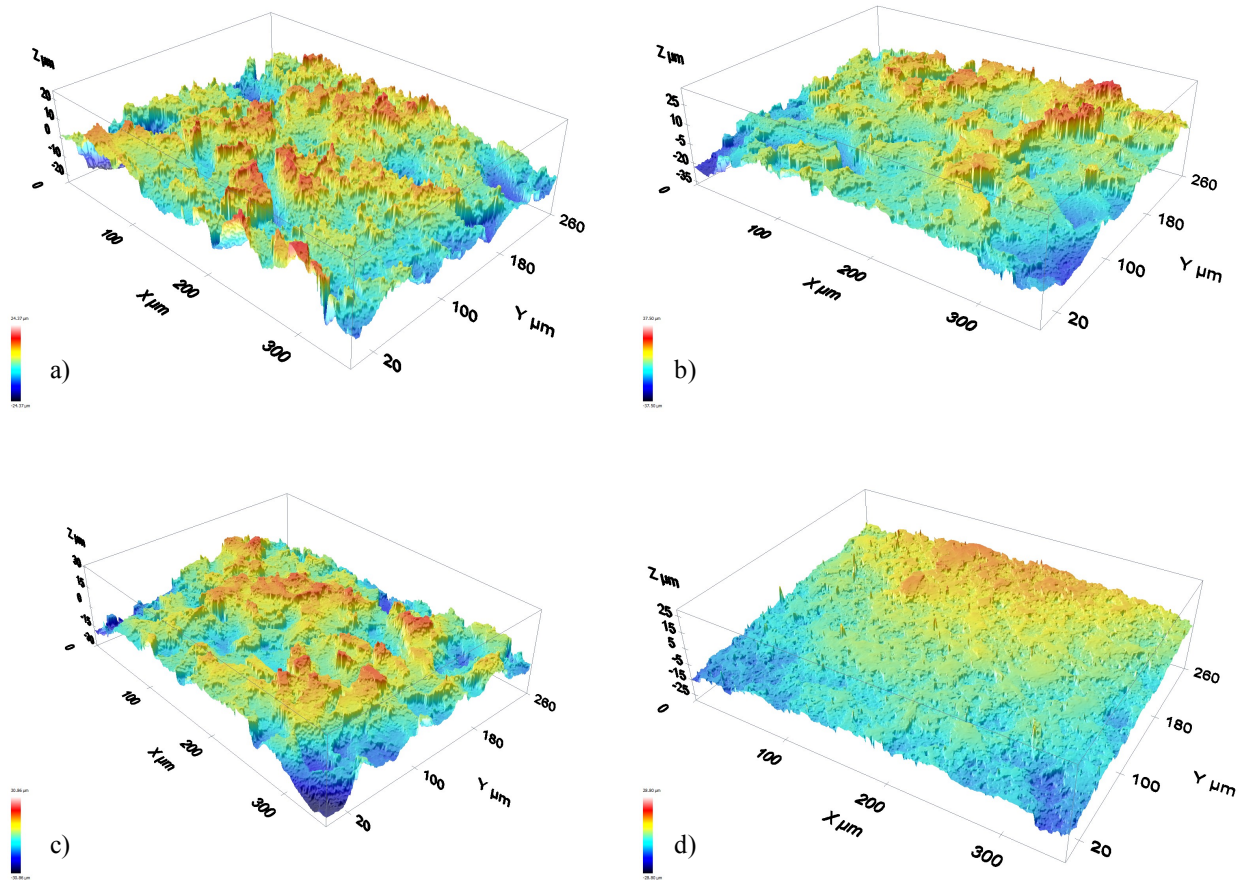


Fig. 9-Imagens a três dimensões conseguidas através do perfilômetro confocal da superfície da zona rugosa dos implantes de titânio (a); titânio-zircônio tissue level (b); titânio-zircônio bone level (c) e zircónia (d).

Tabela 1-Resultados da perfilometria óptica com os respectivos valores de Sa (μm) e Sdr (%) nas diversas zonas dos vários implantes.

<u>ZrO2</u>	Polida	Coronário	Apical	Topo	Vale
Sdr (%)	0,572	65,136	38,548		
Sa (μm) 52.84x52.84 μm^2	0,2423	1,630	1,1828	1,389	1,426
<u>Ti</u>	Polida	Coronário	Apical	Topo	Vale
Sdr (%)	0,213	142,410	185,840		
Sa (μm) 52.84x52.84 μm^2	0,127	2,825	2,649	2,822	2,862
<u>TiZr tissue level</u>	Polida	Coronário	Apical	Topo	Vale
Sdr (%)	0,182	164,608	149,237		
Sa (μm) 52.84x52.84 μm^2	0,146	3,607	2,871	4,627	3,899
<u>TiZr bone level</u>	Polida	Coronário	Apical	Topo	Vale
Sdr (%)	não tem	174,500	150,800		
Sa (μm) 52.84x52.84 μm^2	não tem	3,664	4,147	3,841	3,331

5.3. Ângulo de contacto

Os resultados da medição do ângulo de contacto dos diversos implantes estão apresentados na Tabela 2. Em todos os implantes e nas diversas zonas verificou-se que as superfícies são hidrofóbicas. A nível da zona polida observou-se que o implante de titânio tinha o maior valor de ângulo de contacto e o de zircónia o menor. No que diz respeito à zona rugosa, a nível coronário o implante de titânio apresentou o maior valor do ângulo de contacto e a zircónia o menor, enquanto que a nível apical, a zircónia apresentou maior valor do ângulo e o implante de titânio-zircónio bone level apresentou menor valor. Consideram-se os valores acima de 80° como se fossem 90°.

As imagens do teste realizado às superfícies dos implantes representam o momento em que a gota cai e se estabiliza, sendo que não ocorreu espalhamento da mesma (Figuras 10-13). A zona apical do implante de titânio-zircónio tissue level não permitiu a medição do ângulo de contacto como nos restantes implantes, uma vez que não era suficientemente plana para amparar a gota sem a mesma escorregar, tendo-se usado outra zona na mesma área (Figura 12 d).

O valor do ângulo de contacto corrigido é o resultado final após a aplicação da expressão descrita na metodologia, que teve em conta o valor de Sdr para o rácio da rugosidade (r). Sendo que $r > 1$ é sinal de superfície rugosa e $r = 1$ representa que a superfície é polida. De acordo com os resultados obtidos na Tabela 2, confirma-se que as zonas polidas dos implantes são polidas e as zonas rugosas apresentam maior rugosidade.

Tabela 2-Resultados do ângulo de contacto da gota de SBF com a superfície rugosa (zona coronária e apical) e polida dos diversos implantes.

<u>ZrO₂</u>	Polida	Rugosa coronário	Rugosa apical
Sdr (%)	0,572	65,136	38,548
r	1,00572	1,65136	1,38548
Ângulo de contacto (°)	90,95	78,999	117,941
Ângulo de contacto corrigido (°)	90,944	83,364	109,766
<u>Ti</u>	Polida	Rugosa coronária	Rugosa apical
Sdr (%)	0,213	142,410	185,840
r	1,00213	2,4241	2,8584
Ângulo de contacto (°)	105,026	126,584	116,923
Ângulo de contacto corrigido (°)	104,994	104,233	99,114
<u>TiZr tissue level</u>	Polida	Rugosa coronária	Rugosa apical
Sdr (%)	0,182	164,608	149,237
r	1,00182	2,64608	2,49237
Ângulo de contacto (°)	94,616	82,964	99,533
Ângulo de contacto corrigido (°)	94,607	87,3467	93,8101
<u>TiZr bone level</u>	Polida	Rugosa coronária	Rugosa apical
Sdr (%)	não tem	174,500	150,800
r	não tem	2,745	2,508
Ângulo de contacto (°)	---	96,404	98,278
Ângulo de contacto corrigido (°)	---	92,328	93,291

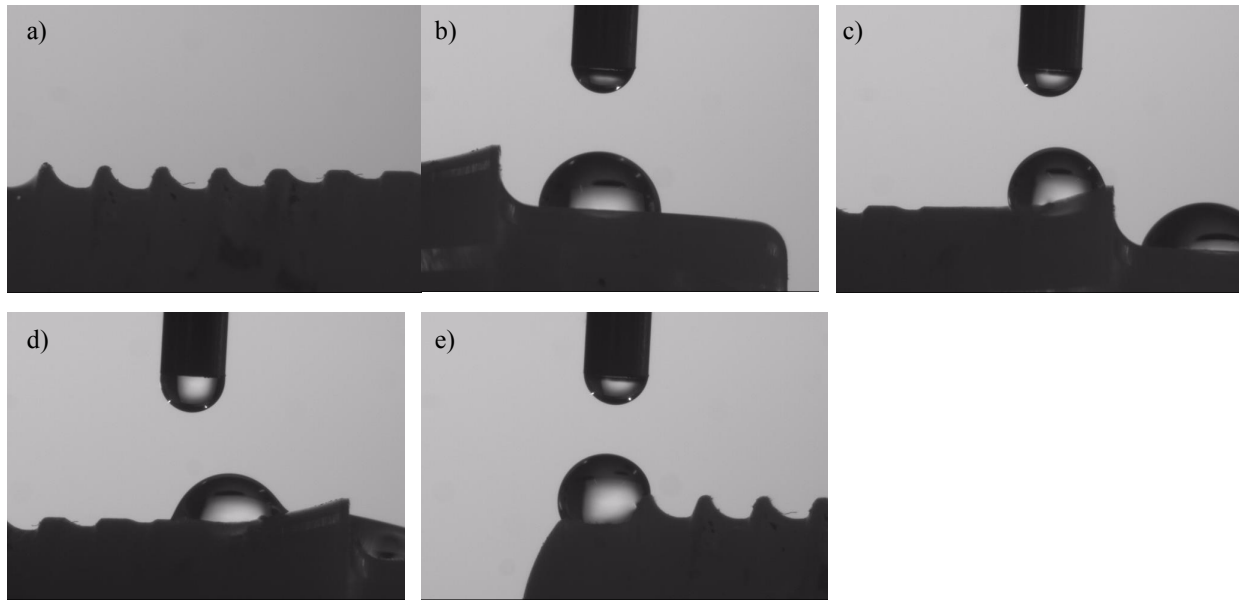


Fig. 10-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de zircónia 1 na área do coto (b), colo polido (c), zona rugosa coronária (d) e zona rugosa apical (e).

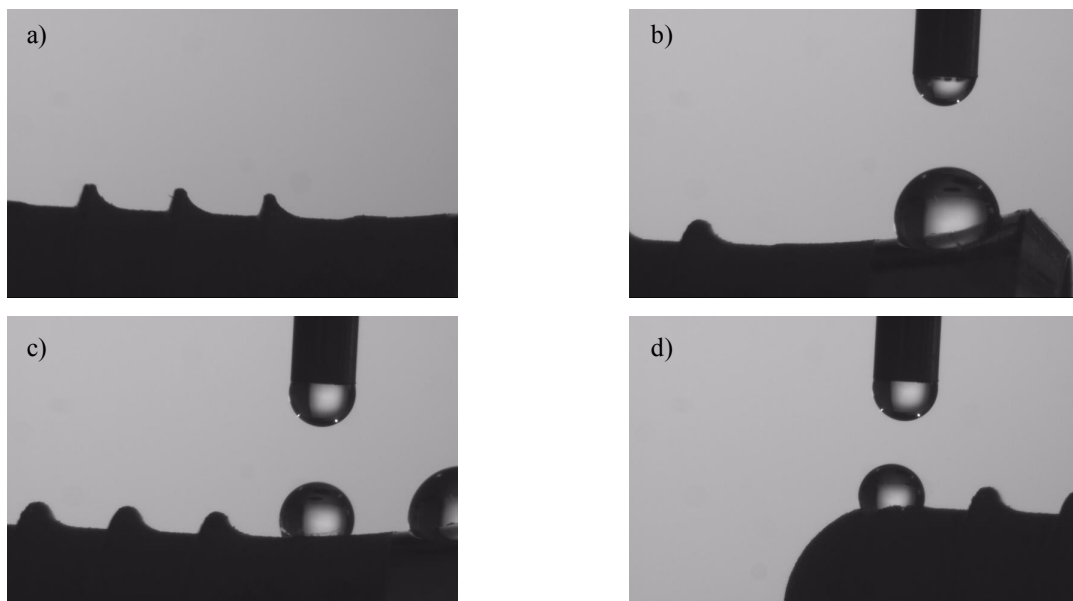


Fig. 11-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de titânio na área do colo polido (b), zona rugosa coronária (c) e zona rugosa apical (d).

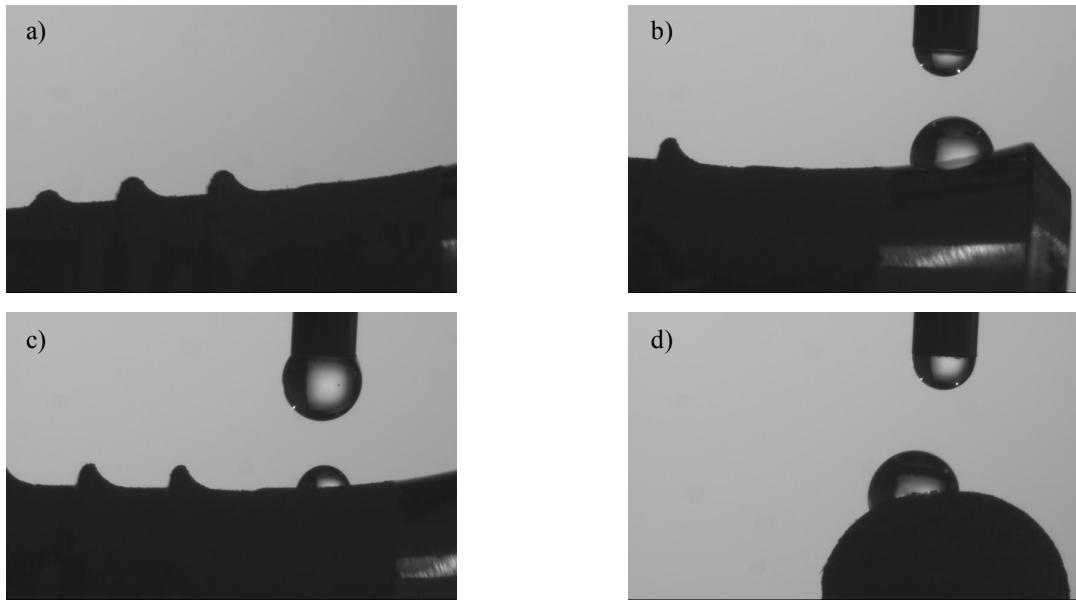


Fig. 12-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de titânio-zircónio tissue level na área do colo polido (b), zona rugosa coronária (c) e zona rugosa apical (d).

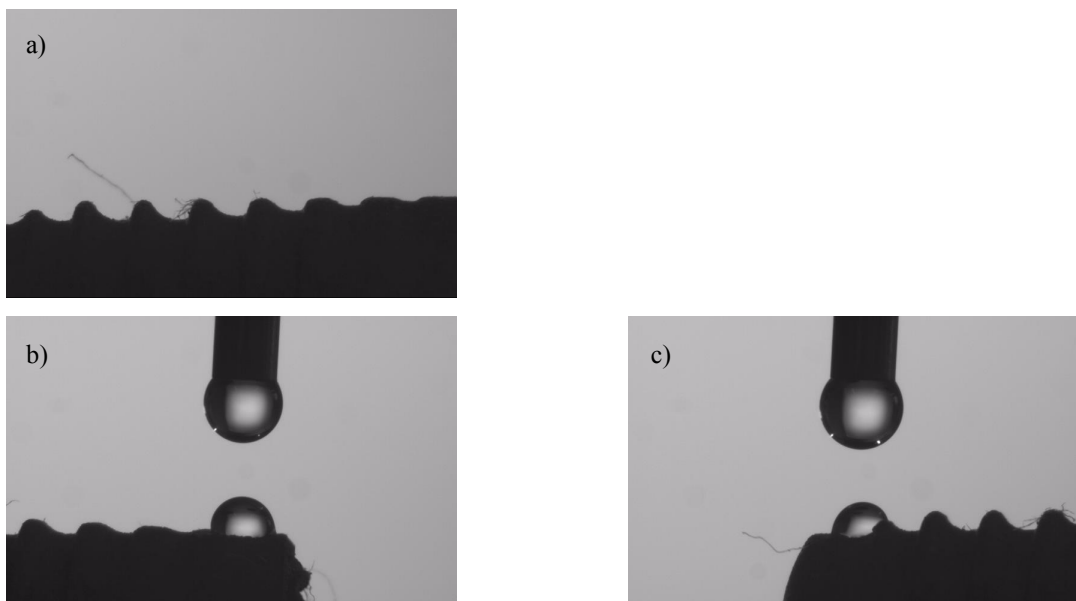


Fig. 13-Imagens de perfil (a) do teste do ângulo de contacto no momento em que a gota de SBF cai e se estabiliza na superfície do implante de titânio-zircónio bone level na zona rugosa coronária (b) e zona rugosa apical (c).

5.4. Microscopia electrónica de varrimento

Os implantes foram sujeitos a microscopia electrónica de varrimento nas zonas rugosa e polida. As diferenças de topografia de superfície dos diversos implantes e das várias áreas abrangidas estão demonstradas através das imagens apresentadas nas Figuras 14-16.

Verifica-se através da Figura 14, que a baixa ampliação (30x e 100x) a topografia de superfície dos implantes é semelhante entre si nas várias zonas rugosas (coronária, central, apical). Observa-se também a presença de mais espiras no implante de zircónia e que as mesmas têm desenho diferente desde coronário até apical, aumentando a sua altura. As espiras do implante de zircónia verificam-se ser mais arredondadas do que as dos outros implantes estudados.

A alta ampliação (3000x, 10.000x e 70.000x) já é possível verificar diferenças topográficas micro e nanométricas (Figura 15) da superfície rugosa dos diversos implantes. Observa-se então que a superfície do implante de zircónia apresenta aspecto de grãos arredondados e finos (à escala nanométrica) relativamente aos restantes implantes. Verifica-se também que os implantes de titânio e titânio-zircónio (tissue level e bone level) apresentam um aspecto nanométrico semelhante.

No que diz respeito à parte polida dos implantes, todos apresentam uma zona em que o aspecto topográfico é notoriamente liso revelando pequenas riscas transversais paralelas entre si (Figura 16). O implante titânio-zircónio bone level apresenta também ele uma pequena zona polida na sua porção mais coronária, com a mesma topografia das superfícies polidas dos outros implantes. É possível verificar a transição da parte rugosa para a parte polida dos vários implantes, observando-se que a mesma não é abrupta, ou seja, a rugosidade vai diminuindo da parte rugosa até à polida. De notar o facto do implante de zircónia ter na sua superfície o carbono depositado, que se nota nas imagens apresentadas, devido ao baixo espalhamento do mesmo na superfície polida do implante.

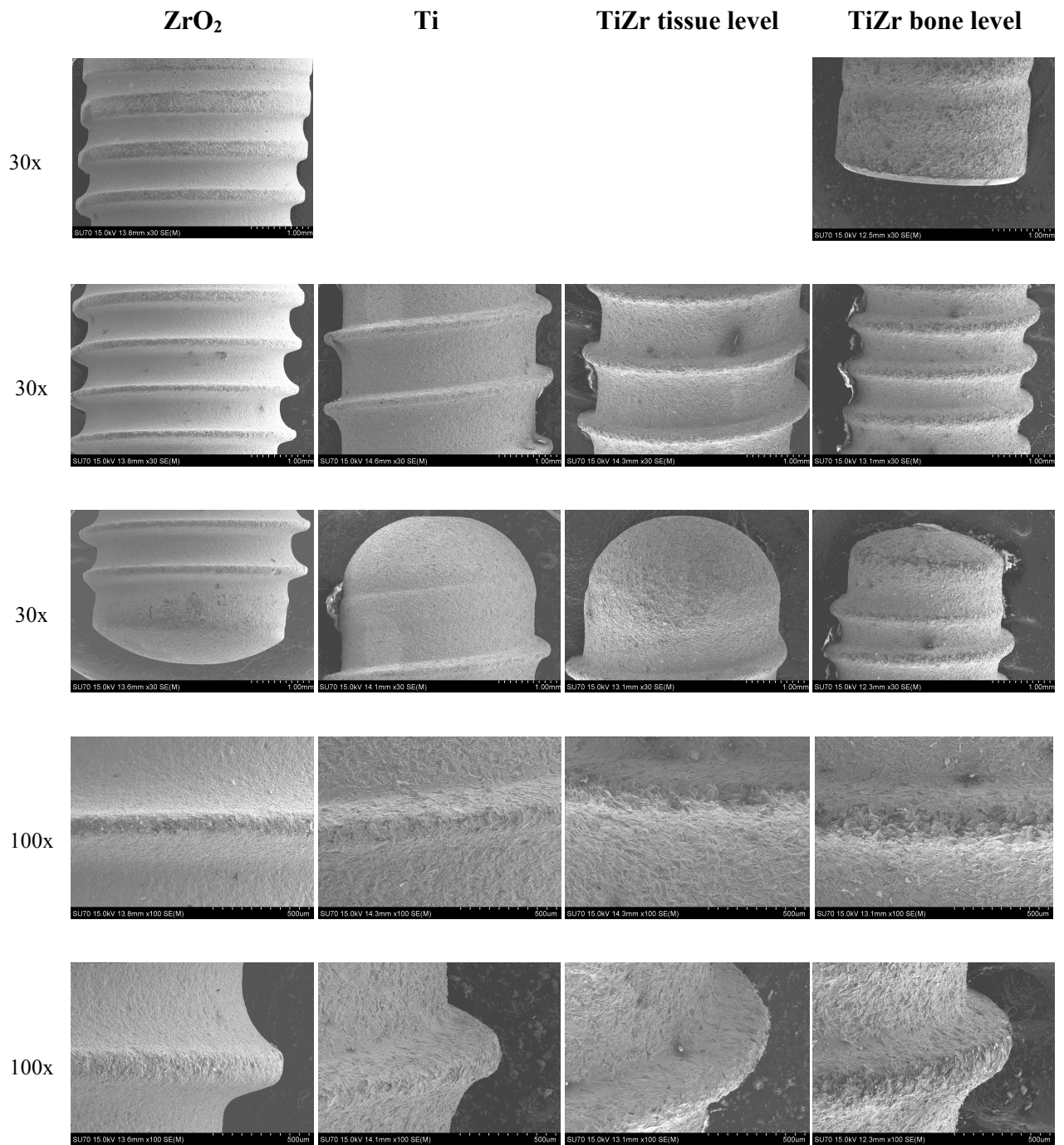


Fig. 14-Resultados do SEM da zona rugosa dos diversos implantes a baixa ampliação, a 30x e 100x.

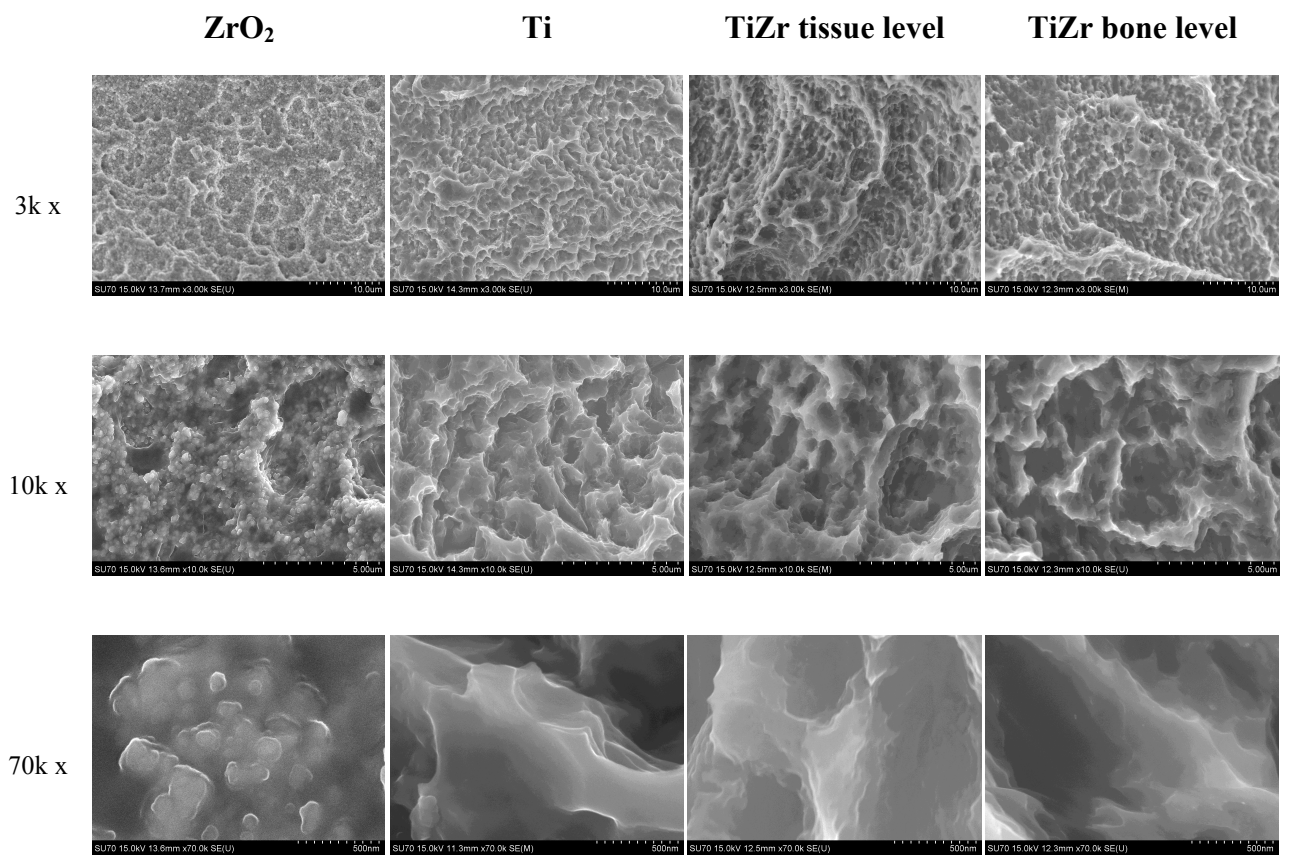


Fig. 15-Resultados do SEM da zona rugosa (vale) dos diversos implantes a alta ampliação, a 3000x (3k x), 10.000x (10k x) e 70.000x (70k x).

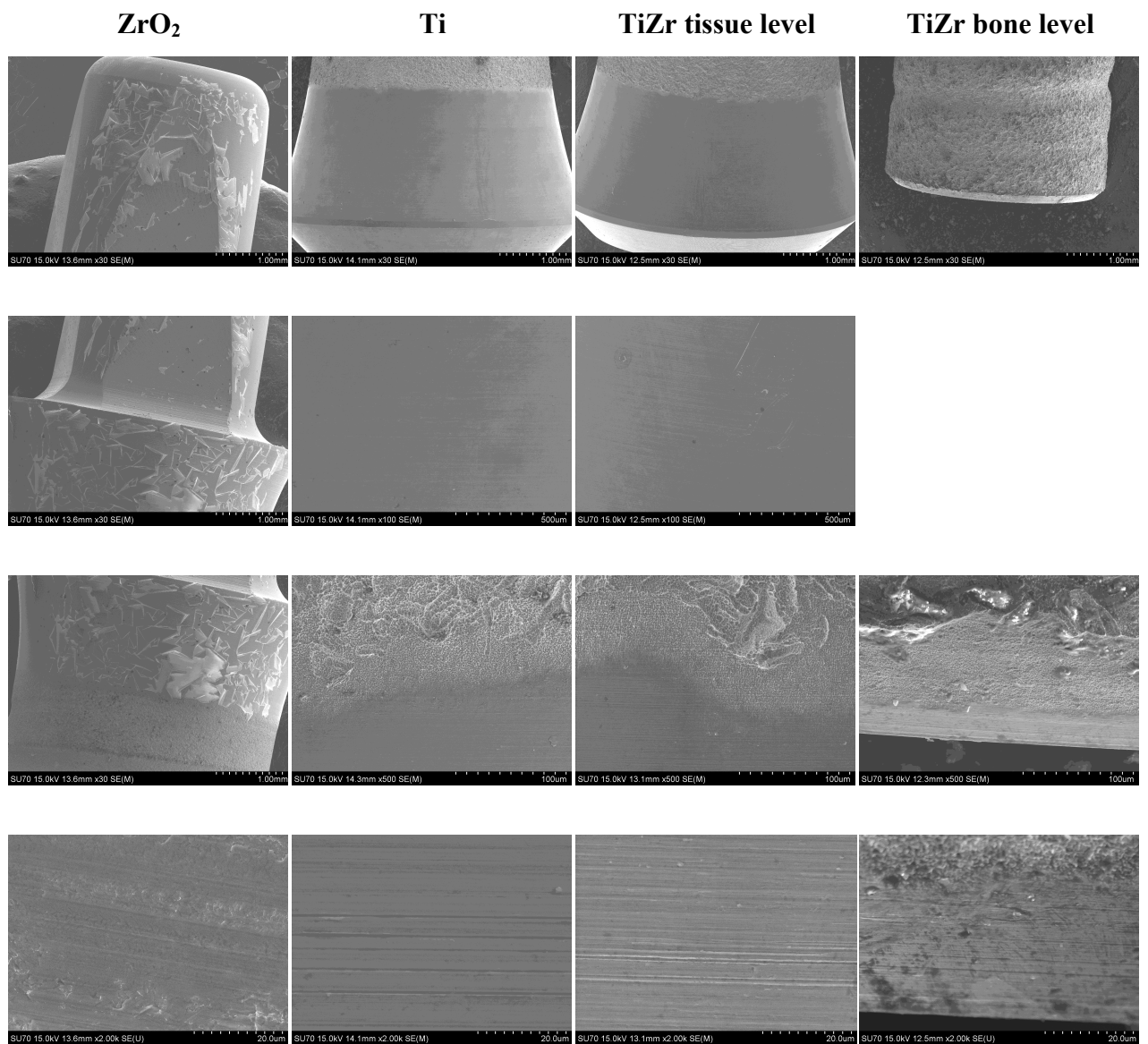


Fig. 16- Resultados do SEM da zona polida e da transição da zona rugosa para a polida dos diversos implantes com diversas ampliações especificadas nas respectivas imagens.

5.4.1. Espectrometria de energia dispersiva de raio-X

Os resultados da espectrometria de energia dispersiva de raio-X mostram os vários elementos químicos presentes na superfície dos diversos implantes (Figuras 17-21).

Relativamente ao implante Straumann® Standard Plus SLA® tissue level de titânio apresenta na sua composição química de superfície o elemento titânio (Figura 17) quer na parte rugosa coronária (a) e apical (b), quer na parte polida (c).

O implante Straumann® Roxolid® SLA® Loxim™ de titânio e zircónio tissue level apresenta o elemento titânio, zircónio e alumínio (Figura 18). O alumínio está apenas presente na parte rugosa coronária (a) e apical (b), não se encontrando na parte polida (c). No que diz respeito ao bone level, este apresenta os mesmos elementos que o tissue level (Figura 19), acrescentando a presença de carbono no pequeno colo polido (c). Na Figura 20 é possível ver através de imagem SEM um mapa com a distribuição de superfície dos elementos químicos presentes tanto no implante tissue level (a) como no bone level (b).

Relativamente ao implante de zircónia (1) Straumann® Pure Ceramic ZLA™, apresenta na sua constituição química os elementos oxigénio, zircónio e carbono (Figura 21), em todas as zonas verificadas.

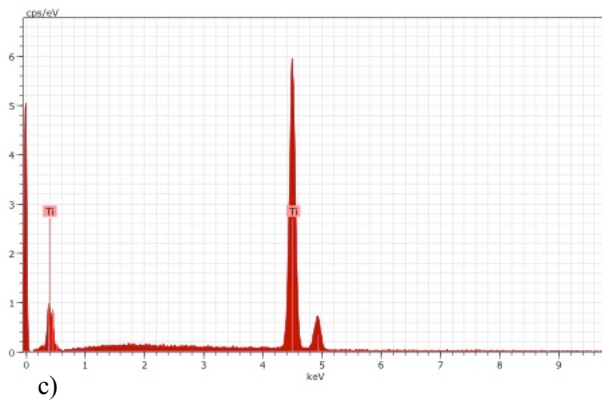
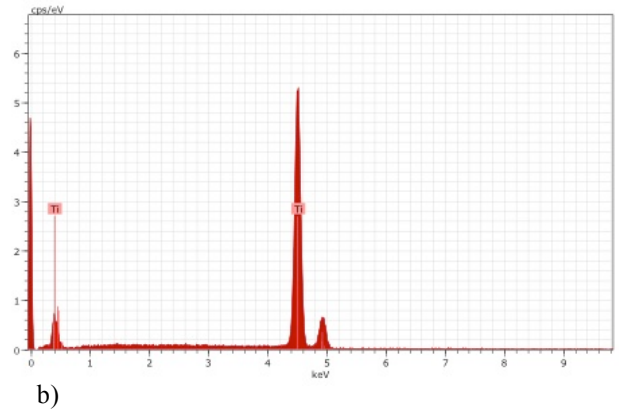
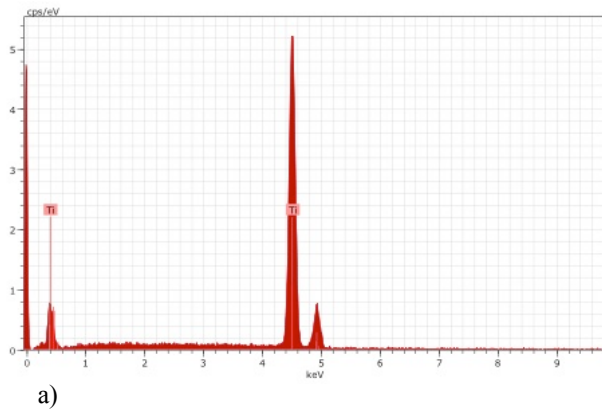


Fig. 17- Resultados EDS implante de titânio na zona rugosa a) e b) e polida c).

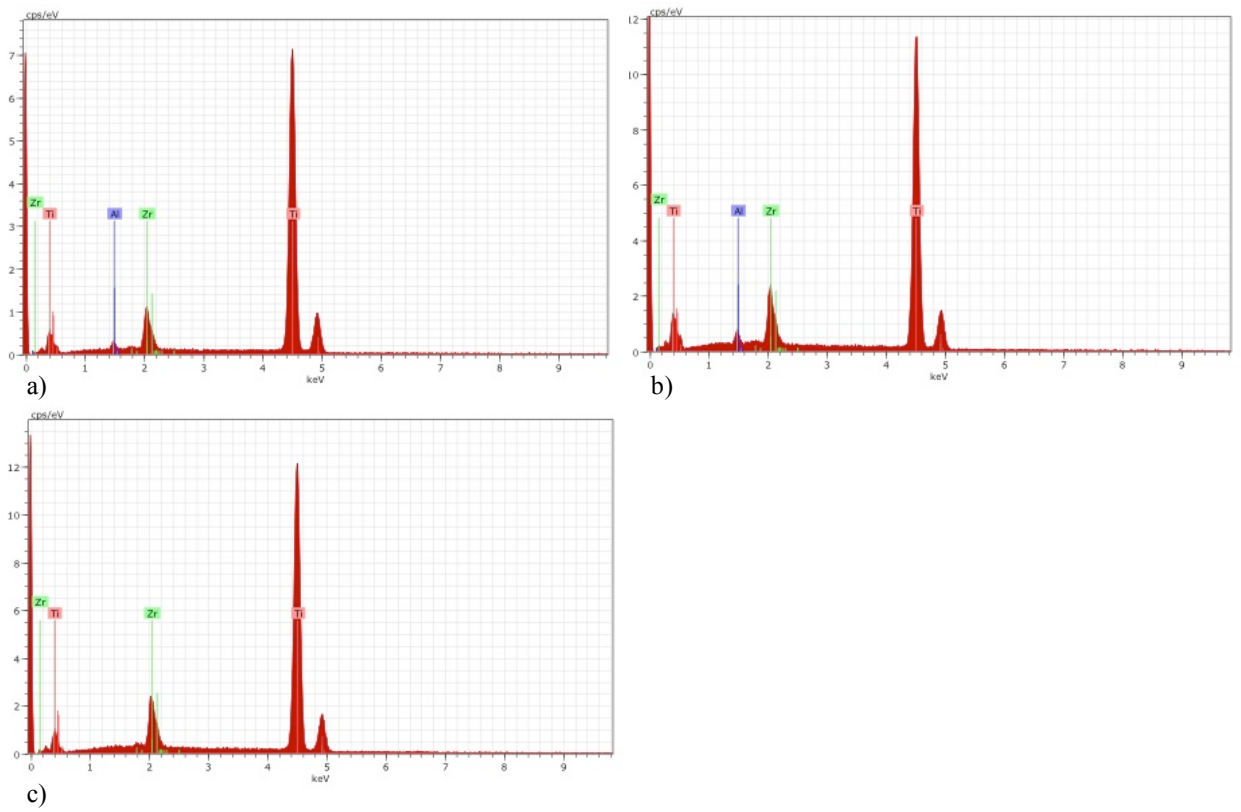


Fig. 18- Resultados EDS implante de titânio-zircônio tissue level na zona rugosa a) e b) e polida c).

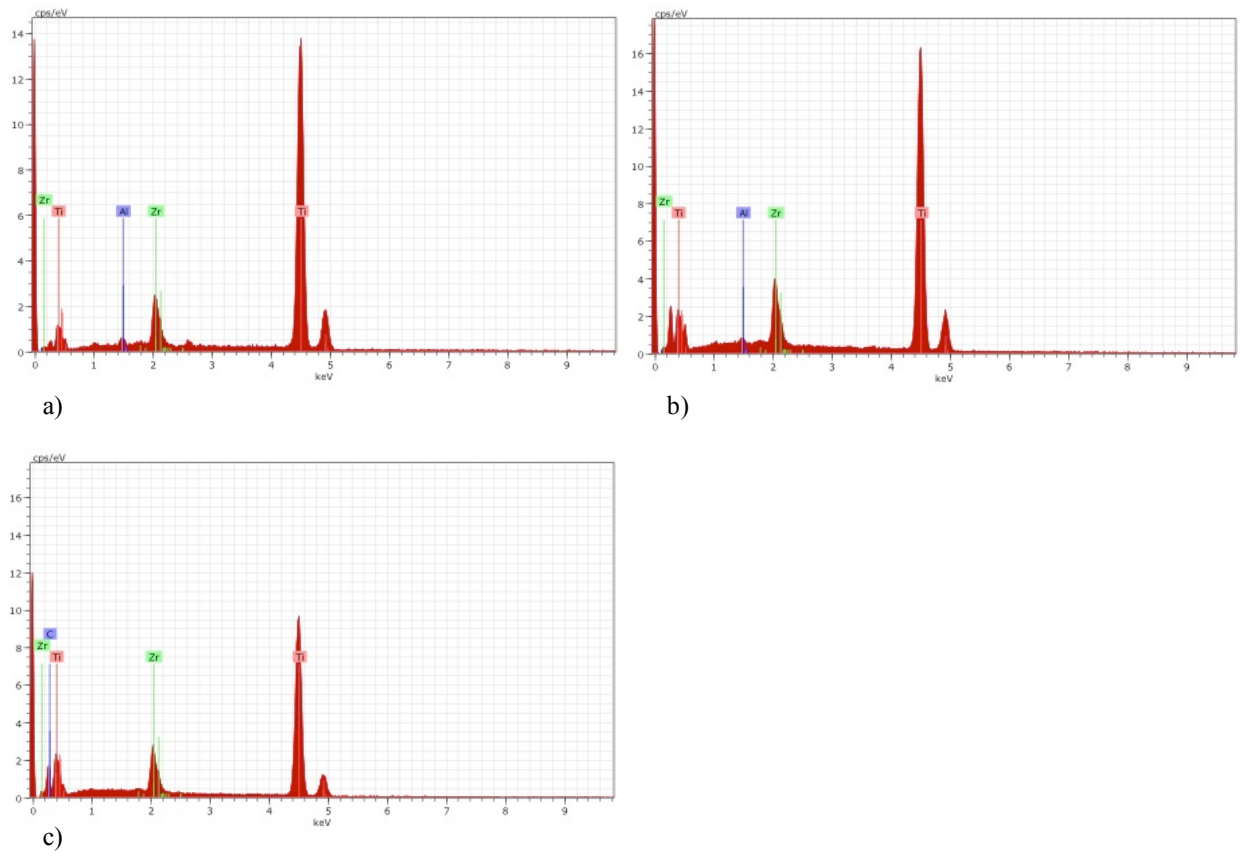


Fig. 19- Resultados EDS implante de titânio-zircônio bone level na zona rugosa a) e b) e no pequeno colo polido c).

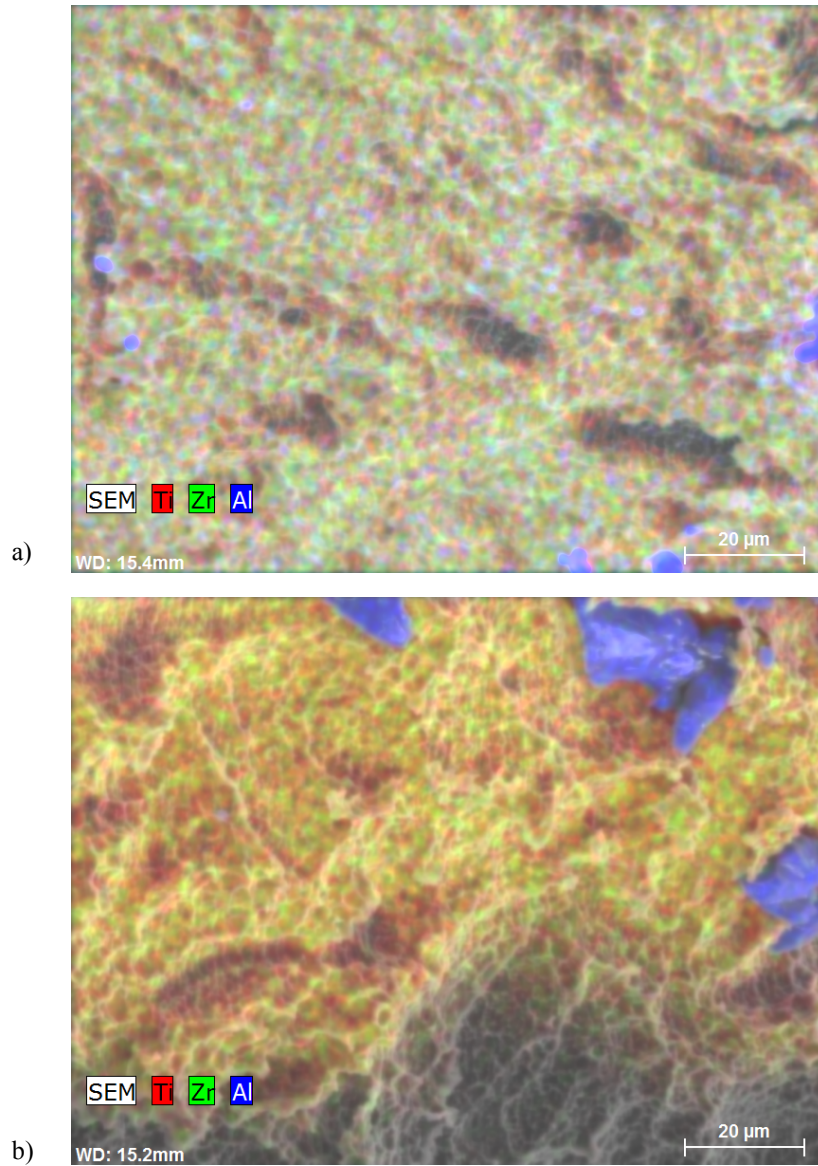


Fig. 20- Mapa EDS da distribuição dos elementos na superfície com captação de imagem SEM dos implantes de titânio-zircônio tissue level (a) e bone level (b).

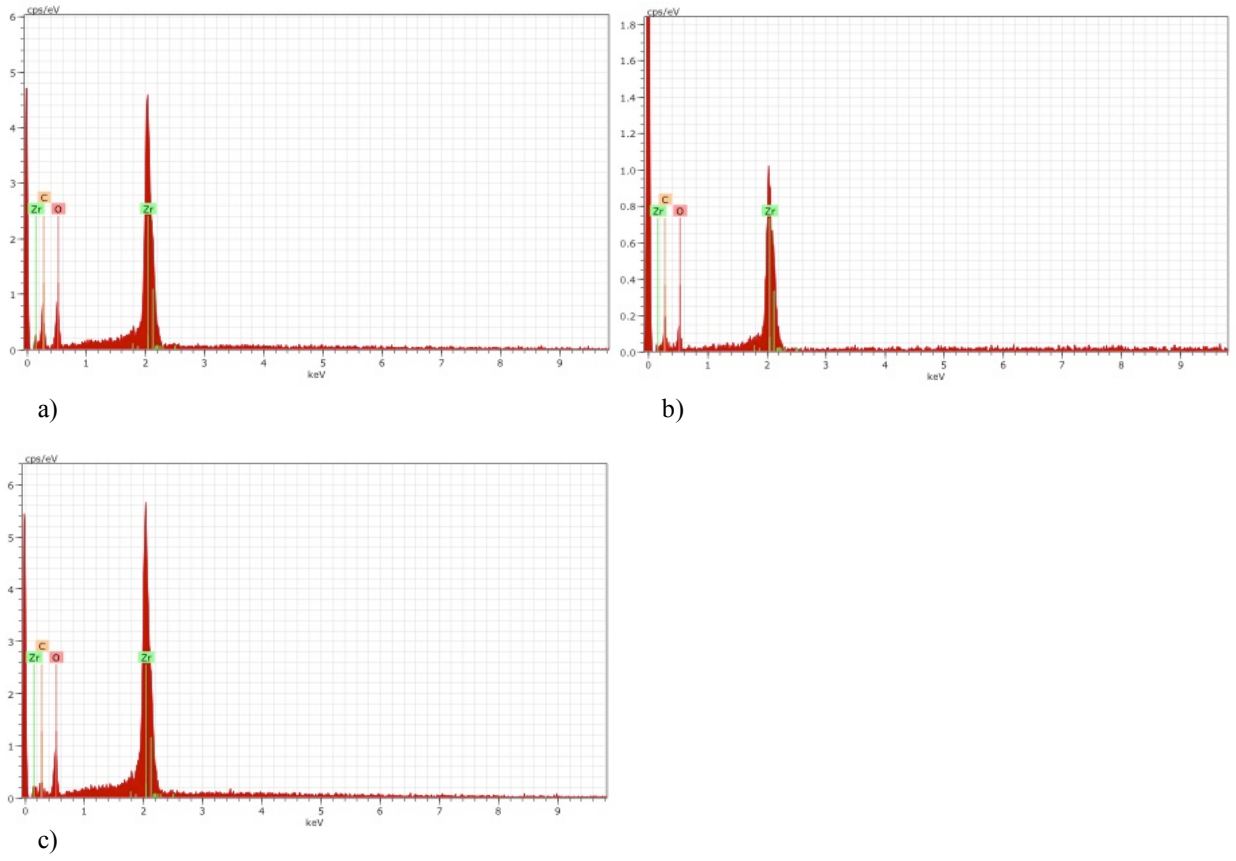
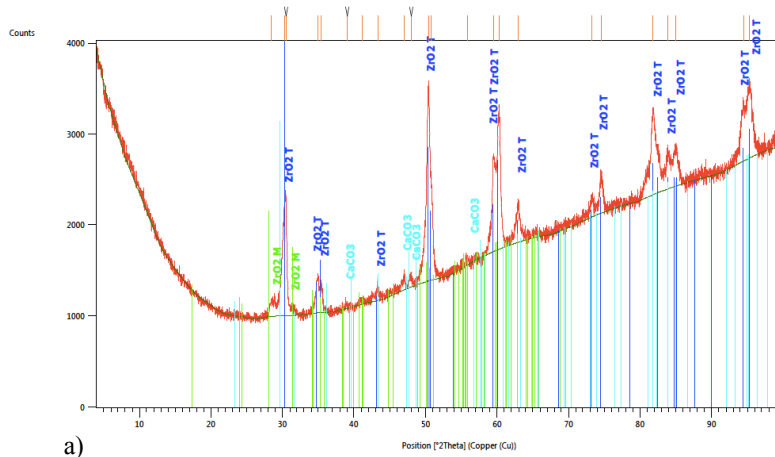


Fig. 21- Resultados EDS implante de zircônia 1 na zona rugosa a) e b) e polida c).

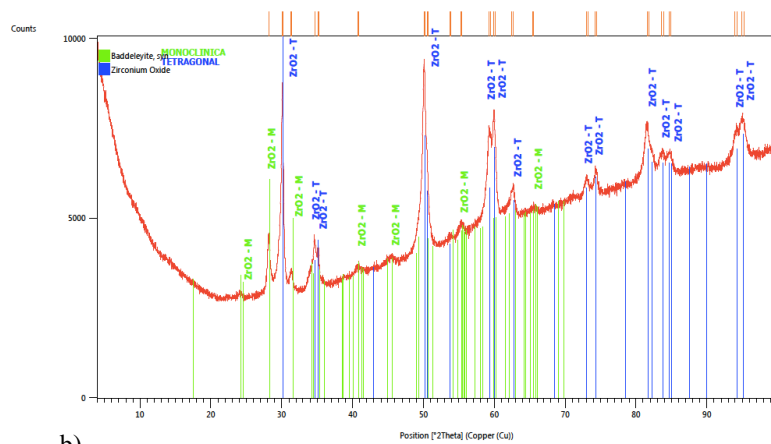
5.5. Envelhecimento artificial

Após a realização do envelhecimento nas condições determinadas pelas normas ISO 13356, o implante de zircónia 2, submetido ao DRX, alterou a sua composição química de superfície. Verificou-se que deixou de existir carbonato de cálcio na superfície do implante de zircónia quando comparado com a sua composição inicial (Figura 22). Para além deste facto, visualizou-se um aumento da diferença de percentagem entre a fase monoclinica e tetragonal do óxido de zircónio, sendo a primeira mais abundante (Figura 23).

Relativamente à topografia da superfície do implante de zircónia com envelhecimento, após a observação no SEM, verificou-se que a superfície do implante de zircónia se encontra com topografia semelhante ao implante de zircónia 1 antes do envelhecimento, ou seja, com aspecto cristalino, dando para visualizar os grãos presentes na sua constituição e os picos e vales (Figura 24). Nesta visualização também é possível ver as pequenas linhas transversais paralelas na zona polida do implante (Figura 24). A presença do carbono depositado é visível na zona polida do implante de zircónia (Figura 24). A nível das espiras verifica-se o seu aspecto arredondado (Figura 24). Numa maior ampliação é possível observar a presença de zonas com diferente configuração e tamanho maior, que após EDS se comprovou ser carbonato de cálcio (Figura 24, 25). A nível de análise química através de EDS pode-se observar a presença de óxido de zircónio e carbonato de cálcio (Figura 25-a).



a)



b)

Fig. 22- Resultados DRX antes (a) e após envelhecimento (b) do implante de zircônia 2.

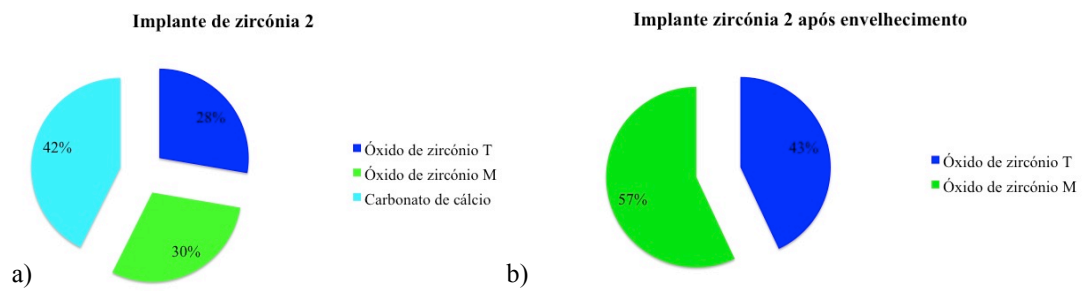


Fig. 23- Distribuição dos elementos químicos na superfície do implante de zircônia 2 antes (a) e após envelhecimento (b).

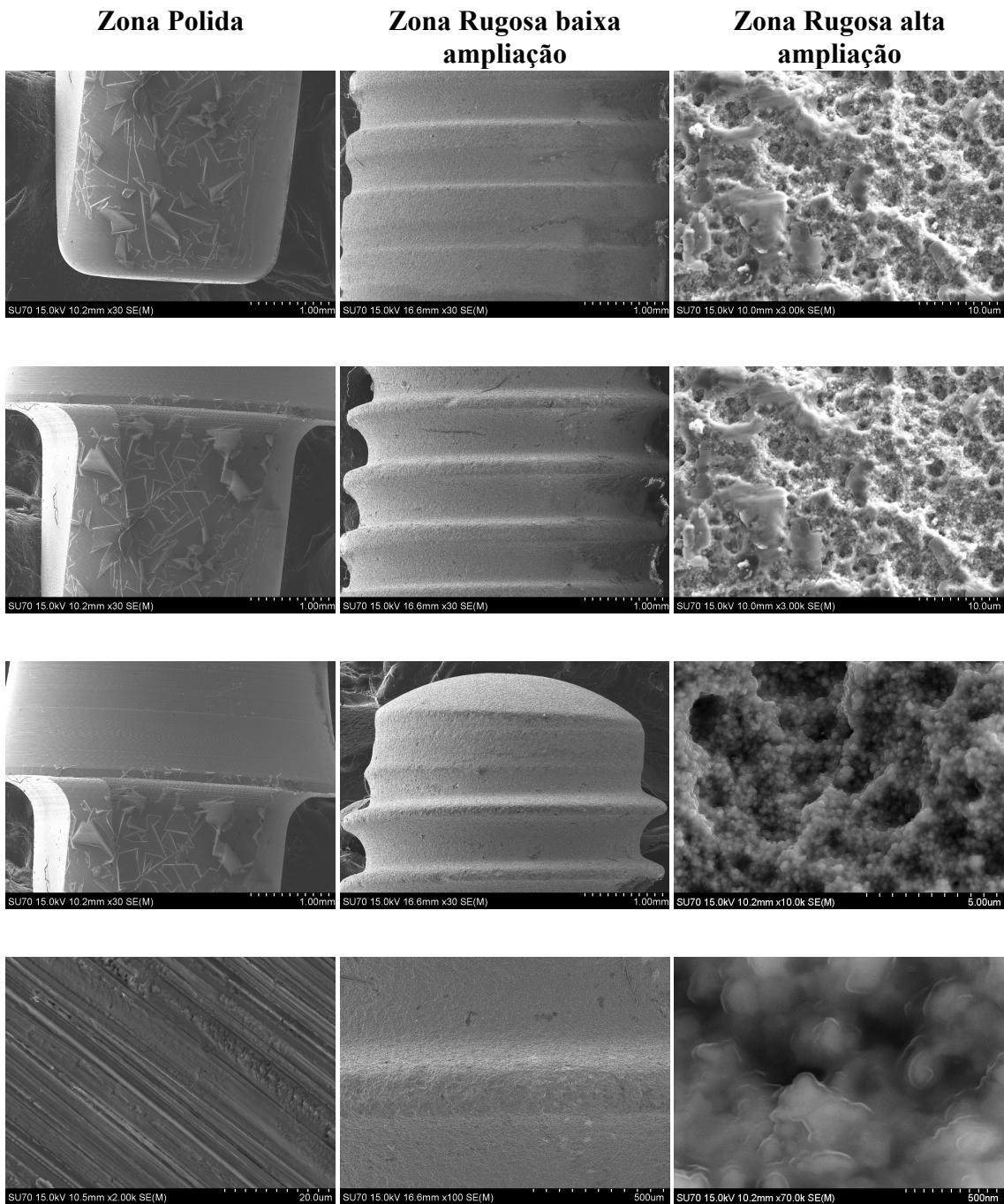


Fig.24-Resultados SEM do implante de zircônia 2 após envelhecimento das zonas polidas e rugosas a baixa e alta ampliação.

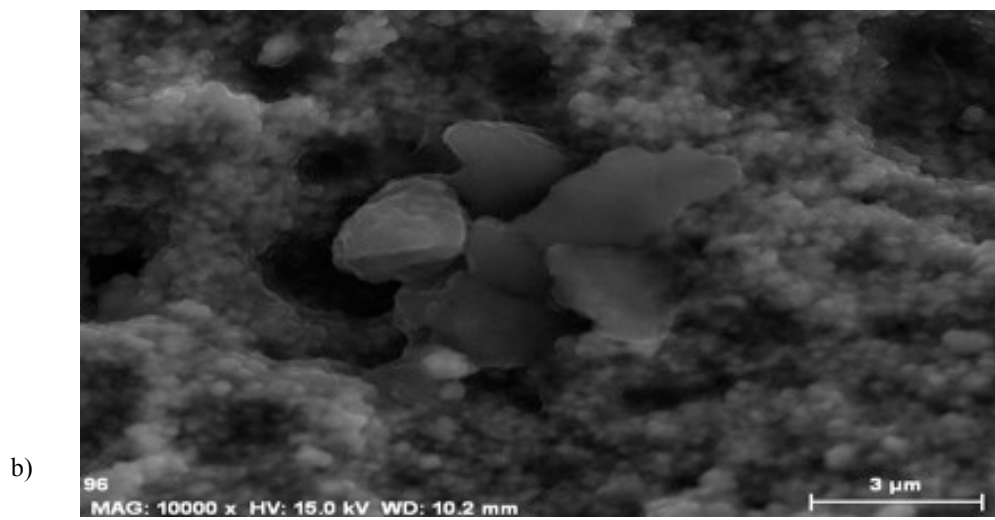
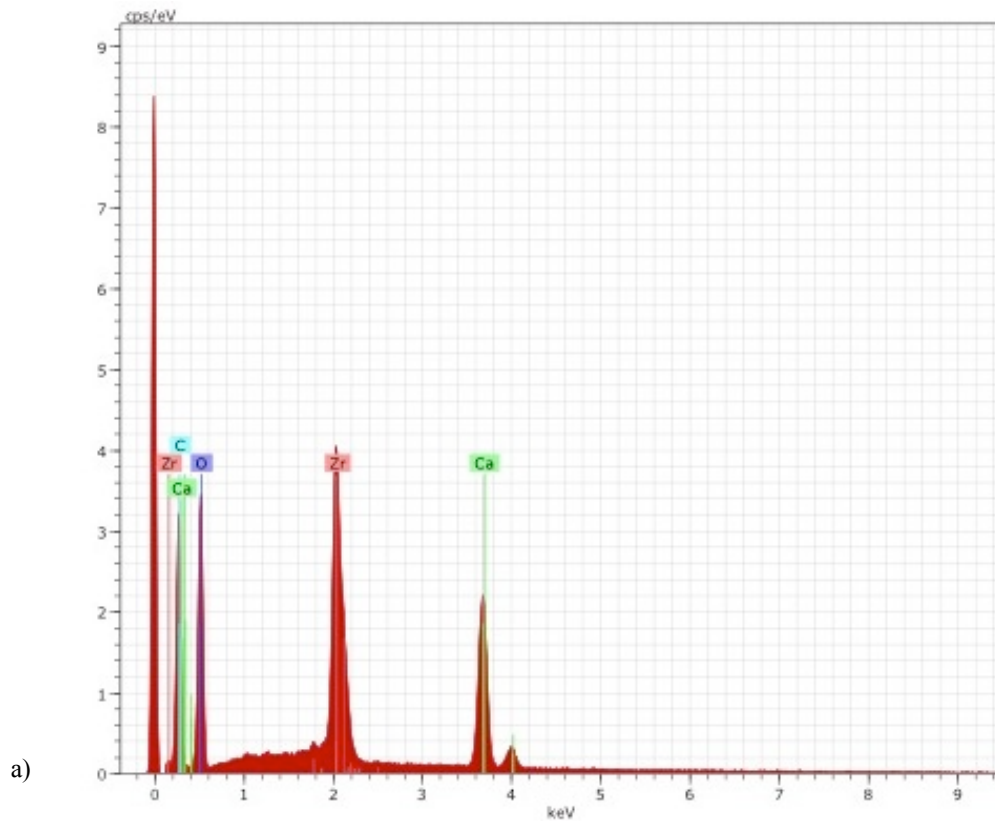


Fig. 25- Resultados EDS do implante de zircônia 2 após envelhecimento com os respectivos elementos químicos (a) presentes na superfície mostrada (b).

6. Discussão

6. Discussão

Com o aumento da população de terceira idade, as indicações clínicas de implantes dentários expandem-se, aumentando assim as opções de reabilitação para desdentados parciais ou totais. Assim, os esforços continuam na direção do desenvolvimento de materiais biologicamente e funcionalmente compatíveis.

Para ir um passo mais além dos materiais de implante de cerâmica existentes, foi utilizado jactamento e condicionamento ácido como métodos para a produção de implantes de zircônia com diferentes topografias de rugosidade e de superfície.

Neste estudo avaliou-se a topografia de superfície de três tipos de implantes diferentes comercializados, da empresa Suíça Straumann®: um implante Straumann® Standard Plus SLA® tissue level de titânio; dois implantes Straumann® Roxolid® SLA® Loxim™ titânio e zircônio (um bone level e um tissue level) e dois implantes Straumann® Pure Ceramic ZLA™ de zircônia, peça única, considerados tissue level.

Os resultados do DRX apresentados no presente estudo revelam a presença de produtos de jactamento na sua superfície (carbonato de cálcio) em todos os implantes estudados. Este apresenta-se na fase monoclinica e/ou romboédrica, mais comumente designada de calcite.

Ao contrário do espectável, não se verificou a presença do óxido de titânio na superfície do implante de titânio, sendo que a sua ausência se confirmou posteriormente no EDS. Deste modo não se conseguiu verificar qual a fase cristalina do óxido presente (anatase, rutilo ou brookite).(128) Este dado seria importante sendo que se preconiza que a forma de rutilo é a mais comum e estável e que aumenta a resposta de osteoblastos, sendo menos propensa a iniciar uma resposta inflamatória.(21, 22, 128) Para além deste aspecto, está comprovado que os implantes de titânio da marca Straumann® possuem em maiores quantidades a fase rutilo quando comparado com outras marcas e com a fase anatase.(22)

Todos os implantes possuem os elementos base correspondentes à sua composição, ou seja, o implante de titânio possui titânio, os implantes de titânio-zircônio possuem essa mesma liga metálica e os implantes de zircônia possuem o óxido de zircônio (na fase tetragonal e monoclinica). As percentagens dos elementos presentes nas superfícies dependem da zona capturada.

Como refere a literatura, a zircónia pura tem uma estrutura cristalina monoclinica à temperatura ambiente e transita para a forma tetragonal ou cúbica a temperaturas mais elevadas.(28) Para prevenir a formação de micro-fissuras, após o arrefecimento, na superfície da zircónia resultantes da expansão de volume provocada pela transformação da fase cúbica para a tetragonal e desta para a monoclinica e posteriormente ocorrer fractura à temperatura ambiente, adicionou-se o óxido de ítrio a 3% na sua constituição.(28) Este óxido funciona como agente estabilizador da fase tetragonal.(28) No sistema de zircónia estabilizada por óxido de ítrio (o mais utilizado para fins médicos) é possível obter cerâmicas formadas à temperatura ambiente com apenas a fase tetragonal, designada de yttria-tetragonal zirconia policristal (Y-TZP), aumentando a resistência à fractura, elevando o grau de confiança e tempo de vida.(28) A fase tetragonal é metaestável e uma vez presente em quantidades suficientes, quando aplicada uma tensão, esta pode causar a conversão da fase tetragonal para a monoclinica com expansão de volume associada.(28) Esta transformação de fase pode colocar a fenda sob compressão retardando a sua propagação e aumentando a resistência à fractura, elevando o grau de confiança e tempo de vida dos produtos feitos com zircónia estabilizada especialmente por ítria, como é o caso dos implantes do presente estudo (Y-TZP).(28) Como comprovado no DRX, o implante Straumann® Pure Ceramic ZLA™ possui na sua constituição o óxido de ítrio como agente estabilizador, possuindo na teoria as características acima referidas.

Por outro lado, seria espectável a presença de uma maior quantidade de óxido de zircónio na fase tetragonal em comparação com a fase monoclinica, uma vez que a zircónia utilizada é teoricamente caracterizada pela presença de apenas a fase tetragonal à temperatura ambiente, mas tal não se sucede. Um estudo sobre implantes dentários de zircónia de Delgado-Ruiz *et al.*, comprovaram através do DRX que a fase tetragonal é prevalente em relação à fase monoclinica até nos implantes que foram modificados com laser.(89) Tal não foi verificado no teste de DRX do presente estudo, sendo que ambas as amostras de zircónia mostraram percentagens superiores da fase monoclinica. Porém, é importante referir que o DRX é um teste de superfície e que não estuda a componente química em profundidade. Este facto sugere que, sendo os implantes de zircónia do tipo Y-TZP, os tratamentos de superfície realizados aos implantes de zircónia poderão alterar a fase do óxido de zircónio de tetragonal para monoclinica.(135)

Wennerberg e Albrektsson sugeriram umas orientações para a avaliação topográfica da superfície dos implantes, referindo que em implantes tipo parafuso deve-se avaliar o topo, vale, e flanco das espiras, em três áreas de medição diferentes.(62) No presente estudo seguiram-se estas indicações com algumas modificações, sendo que se acrescentou o estudo da parte coronária e apical da zona rugosa e não se estudou o flanco das espiras dos implantes dentários disponíveis.

De acordo com os mesmos autores, os implantes podem ser divididos em quatro categorias diferentes, dependendo da rugosidade da superfície medida através do valor de Sa: polido ($Sa < 0,5\mu\text{m}$); minimamente rugoso (Sa entre $0,5-1,0\mu\text{m}$), moderadamente rugoso (Sa entre $1,0-2,0\mu\text{m}$); rugoso ($Sa > 2,0\mu\text{m}$).(44)

Os valores da rugosidade a três dimensões (Sa) da zona rugosa medidos no presente estudo, indicam que o implante de titânio e os de titânio-zircónio (segundo a classificação anterior) são rugosos, enquanto que o implante de zircónia é moderadamente rugoso. Os implantes de titânio-zircónio apresentam os maiores valores de rugosidade da parte rugosa, quer na zona apical e na coronária (bone level), quer no vale e topo das espiras (tissue level). O implante de zircónia apresentou os valores mais baixos de rugosidade em todas as zonas estudadas.

Em comparação com estudos realizados por Svanborg *et al.* e Wennerberg *et al.*, os valores obtidos no presente estudo tanto de Sa como de Sdr foram mais elevados, tanto para o implante de titânio, como para os de titânio-zircónio, sendo ambos considerados na literatura moderadamente rugosos.(49, 50, 61, 62) Relativamente ao implante de zircónia deste estudo, não existem avaliações publicadas sobre o valor da sua rugosidade de superfície (Sa). Comparativamente com estudos realizados por Gahlert *et al.* de outros tipos de implantes de zircónia, pode-se verificar que os valores de Sa do implante com superfície ZLA™ são superiores aos outros implantes do mesmo material, com diferentes tratamentos de superfície.(109, 136) Por outro lado, com o recurso ao implante de zircónia White SKY, Delgado-Ruiz *et al.*, verificaram que a superfície deste implante modificada com jacteamto com partículas de alumina consegue obter um valor de Sa de $2,73\mu\text{m}$, superior ao valor obtido no presente estudo com a superfície ZLA™ ($1,63\mu\text{m}$).(87)

O jacteamto na superfície SLA® é realizado através de grãos na escala dos $250-500\mu\text{m}$.(137) Segundo estudos de superfície realizados por Wennerberg e Albrektsson, com o aumento da dimensão do grão jacteamto ($25\mu\text{m}$, $75\mu\text{m}$, $250\mu\text{m}$) há também um aumento da rugosidade, logo valores mais elevados de Sa e de Sdr.(62)

Os valores de rugosidade (Sa) da zona polida dos implantes medidos no presente estudo, comprovam que nos três tipos de implantes esta zona é realmente polida, sendo o implante de titânio o que apresenta o valor mais baixo de rugosidade nesta zona, e o de zircónia o valor mais alto. Também se verificou que existem na zona polida de todos os implantes tissue level pequenas linhas transversais paralelas entre si. Esta existência evidencia a presença de micromaquinação desta zona.

A literatura sugere que um valor de rugosidade Sa de superfície dos implantes dentários entre 1µm e 1,5µm e de 50% de Sdr oferece uma superfície óptima para a integração óssea, sendo que valores acima destes não são significativos de aumento da osteointegração.(50, 62) Apesar das diferenças de rugosidade obtidas entre os implantes de zircónia e titânio, estudos de Gahlert *et al.*, Bormann *et al.* e Depprich *et al.*, sobre a integração dos implantes de titânio *versus* zircónia, verificaram que a nível de densidade óssea peri-implantar e contacto osso-implante, não existem diferenças significativas entre os implantes de zircónia tratados com condicionamento ácido e os de titânio com superfície SLA[®] ou apenas com condicionamento ácido.(38-40) Este é um parâmetro importante para desmistificar a importância dada à menor rugosidade dos implantes dentários de zircónia quando comparados com os titânio.

O sucesso ou falha dos implantes dentários está directamente relacionado com o grau de integração do material do implante e a sua capacidade de se rodear por tecido duro e mole *versus* formação de biofilme.(45) Esta capacidade depende, entre outros factores, da topografia da superfície, especialmente da rugosidade, que afecta a resposta osso-implante, sendo que se verificou que há uma relação positiva entre o contacto osso-implante e a rugosidade da superfície.(22) No que diz respeito à formação de biofilme associada ao material utilizado, Nascimento *et al.*, verificaram que a zircónia apresentava os mais baixos valores de adesão, sugerindo que o implante de zircónia do presente estudo poderá apresentar menor risco de reacção inflamatória provocada por adesão bacteriana.(114) Relativamente à rugosidade da superfície dos implantes, Bürgers *et al.*, demonstraram que ocorre maior adesão bacteriana em titânio jactado quando comparado com titânio puro, o que permite verificar que de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, os implantes de titânio-zircónio seriam os passíveis de uma maior adesão bacteriana, por serem os mais rugosos.(115)

Por outro lado, Fickl *et al.*, num estudo realizado com recurso a indução de peri-implantite a três tipos de implantes diferentes e de marcas diferentes (SLA[®] da

Straumann[®], TioBlast da BIOMET 3i[™], TiUnite[®] da Nobel Biocare[®]), concluíram que a destruição tecidual foi largamente semelhante entre os dois implantes com superfície jacteada e com condicionamento ácido (BIOMET 3i[™] T3 TioBlast/Straumann[®] Bone Level SLA) e diferente do implante com superfície anodizada (Nobel Replace Tapered TiUnite).(113) Neste último implante os autores verificaram uma maior e mais pronunciada perda tecidual em comparação com os outros implantes.(113) Pode-se especular com estes resultados que os implantes com uma superfície TiUnite podem funcionar bem num ambiente saudável, no entanto, no caso da colonização microbiana subgingival, o comportamento parece ser diferente quando comparada com as superfícies modificadas com condicionamento ácido.(113) Num outro estudo experimental realizado por Albouy *et al.*, os resultados revelaram que a resolução de peri-implantite após o tratamento sem terapia antimicrobiana sistémica ou local é possível e que o resultado da terapia é influenciada pelas características da superfície do implante.(120) O tratamento cirúrgico através da remoção de tecido de granulação e cálculos com recurso a curetas, resultou numa melhoria clínica em implantes com superfície torneada (Biomet 3i), TiOblast (Astra Tech) e SLA (Straumann), enquanto que em implantes com uma superfície TiUnite (Nobel Biocare) o inchaço e a vermelhidão na mucosa peri-implantar persistiu.(120) Comparando os resultados dos estudos descritos anteriormente com o presente estudo, pode-se sugerir que os implantes avaliados, uma vez que possuem superfícies sujeitas a jacteamento e condicionamento ácido, são menos propensos à colonização microbiana subgingival e conseqüentemente à peri-implantite. Com base em estudos realizados por Berglundh *et al.* e Quirynen *et al.* em que se abordou a superfície do implante como um factor de risco para infecções peri-implantares, mostrando que os pacientes com implantes muito rugosos parecem ser mais susceptíveis a peri-implantite ou perda tardia do implante, pode-se sugerir após os resultados obtidos para os implantes de titânio-zircónio do presente estudo, que estes teriam um risco acrescido a esta patologia, por terem os mais elevados valores de Sa.(121, 138)

Relativamente à osteointegração dos implantes dentários, Aboushelib *et al.*, Svanborg *et al.*, Brunette *et al.*, entre outros autores, demonstraram que as nanoestruturas podem ser relevantes no processo de osteointegração, verificando-se que há uma resposta óssea mais rápida em superfícies rugosas comparando com superfícies polidas, uma vez que com o aumento da rugosidade existem mais superfícies de contacto e portanto uma maior possibilidade para a deposição e futura

integração das células e que ocorre uma maior capacidade de resistência e fixação das mesmas sobre as superfícies rugosas.(46, 61, 62, 65-67) Por outro lado, Bachle *et al.*, demonstraram que o aumento da rugosidade da superfície usando partículas maiores não melhora a ligação de células e a sua viabilidade, o que indica que a rugosidade excessiva não melhora a fixação celular.(78) Assim, o implante de zircónia, com uma rugosidade moderada, pode ser um recurso viável para a substituição de peças dentárias, uma vez que apresenta uma superfície rugosa, mas sem ser excessiva.

Na generalidade, analisando os valores obtidos no presente estudo, pode-se verificar que todos os implantes estudados têm capacidade de obter uma boa osteointegração, no que diz respeito à sua rugosidade.

Pode-se sugerir que o facto dos valores de Sa obtidos serem mais altos que os existentes na bibliografia é devido ao facto de não se ter anulado a ondulação e a curvatura das amostras (uso do filtro de Gaussian) e de ser um aparelho de medição diferente.

O ângulo de contacto numa superfície que apresente rugosidade é a medida do ângulo entre a tangente da interface do líquido e da superfície do sólido (vista macroscopicamente). Para a obtenção de valores mais realistas possíveis, após a perfilometria óptica, os valores de Sdr foram usados para o cálculo dos ângulos de contacto, de modo a considerar o rácio da rugosidade (r). (139) Este valor calculou-se através da expressão $r=1+Sdr/100$. (139) Quando $r=1$ considera-se que a superfície é polida e quando $r>1$ considera-se que a superfície é rugosa. (139) Através dos resultados obtidos, pode-se confirmar que as zonas polidas dos implantes estudados apresentam $r=1$ e que as zonas rugosas apresentam $r>1$.

Tanto os valores da zona polida como da zona rugosa dos diversos implantes se apresentaram como maiores de 90° ou quase 90°. Isto sugere que os implantes de titânio e titânio-zircónio com superfície SLA[®], e o implante de zircónia com superfície ZLA[™], apresentam superfícies hidrofóbicas, indo de acordo com a literatura já existente, uma vez que se designa de superfície hidrofóbica a que tenha valores de ângulo de contacto superiores a 90° e de hidrofílica quando são valores menores de 90°. (48, 92, 133)

O estudo da topografia que se realizou no aparelho de SEM, revelou o aspecto micro e nanométrico da superfície dos vários implantes. Torna-se de extrema importância a visualização das estruturas nanométricas através do recurso a esta técnica, uma vez que estas influenciam o modo e o tempo em que as proteínas se

unem à superfície do implante, o que por sua vez pode modificar os estados iniciais de cicatrização óssea e conseqüentemente quando é apropriado exercer carga nos implantes, após a sua colocação.(61) A este nível, Mendonça *et al.*, observaram que modificações à nanoescala de superfícies endósseas de implantes de titânio podem alterar as respostas celulares e tecidulares, que por sua vez beneficiam a osteointegração e a terapia com implantes dentários.(85, 86)

Após a obtenção de imagens SEM, verificou-se que o implante de zircónia apresenta uma topografia micrométrica semelhante aos implantes de titânio e titânio-zircónio, porém, a nível nanométrico essa semelhança deixa de existir. A superfície do implante de zircónia apresenta uma topografia cristalina, em comparação com os restantes implantes estudados, sendo possível a visualização dos grãos arredondados e finos, à escala nanométrica, que a constituem. O aspecto micrométrico da superfície de todos os implantes individualmente, relaciona-se com o seu aspecto nanométrico.

A nível de desenho global das espiras dos implantes, o de zircónia é o que possui mais diferenças, pois de coronário para apical a altura das espiras vai aumentando. Individualmente, as espiras do implante de zircónia são mais arredondadas na parte coronária de cada uma, em comparação com as dos outros implantes que apresentam um perfil mais recto. Este facto pode sugerir uma menor superfície de contacto nessa zona, diminuindo a área de possível deposição de células ósseas.(65, 66)

Sanon *et al.*, verificaram que numa ampliação maior de SEM, a maioria dos grãos de zircónia aparecem com limites rectos que indicam que permaneceu na simetria tetragonal após o seu fabrico.(2) No entanto, os grãos ao redor dos poros mostram clara evidência de geminação, que é um sinal de uma transformação de tetragonal para a fase monoclinica.(2) Os grãos finos na superfície do implante de zircónia (observados no presente estudo) são mais propensos à transformação de fase cristalina do que os grãos grandes.(2) Por outro lado, as estruturas cristalinas monoclinica ou tetragonal estabilizam mais facilmente nos grãos finos.(2)

Quando em comparação com imagens SEM do implante de zircónia CeraRoot com superfície ICE originárias de um estudo realizado por Oliva *et al.*, o implante de zircónia com superfície ZLATM estudado verificou-se ter maior profundidade de vales e uma aparência mais rugosa.(41)

O implante de zircónia com superfície ZLATM não pode ser preparado. Van Dooren *et al.*, num estudo sobre implantes de zircónia disponíveis no mercado,

verificaram nas imagens obtidas por SEM que após preparação do coto na parte coronal polida do implante de peça única, que o mesmo mostrava riscos por toda a sua estrutura, o que pode levar a micro-tensões e possível fractura do material quando aplicadas forças.(19)

No que diz respeito à zona polida dos implantes em estudo, visualiza-se a existência de micromaquinação, o que confirma o resultado verificado na perfilometria óptica.

Os resultados do EDS confirmam os resultados do DRX com os elementos base de cada implante presentes. Os implantes de titânio-zircónio mostram a presença de alumínio na sua superfície rugosa, provavelmente proveniente do jactamento com partículas de alumina (óxido de alumínio).(87) O implante de titânio-zircónio bone level apresentou no pequeno colo polido a nível coronário a presença de carbono que pode ser proveniente da pasta de carbono usada para fixar o implante à amostra metálica.

O implante de zircónia apresentou carbono na sua constituição uma vez que foi depositado na sua superfície para uma melhor condução dos electrões.

Este estudo (EDS) é importante, uma vez que Kearns *et al.* verificaram que a nível químico a superfície do implante parece afectar o comportamento das células em momentos iniciais.(84)

Observaram-se no presente estudo os efeitos de envelhecimento artificial na superfície do implante de zircónia. Estes foram especialmente examinados após 5h de envelhecimento artificial a 134°C, segundo as normas ISO 13356, uma vez que este período representa o intervalo do tempo de vida esperado para os implantes dentários, sendo que corresponde a 10-20 anos *in vivo*.(2)

A percentagem da fase monoclinica do óxido de zircónio, medida através de DRX, após envelhecimento, atingiu os 57% e a fase tetragonal os 43%. Este valor é semelhante ao verificado por Sanon *et al.* que concluíram que a fracção monoclinica da superfície do implante de zircónia após 5h de envelhecimento atinge mais de 60%.(2) Seria espectável que com a presença do estabilizador de ítria que a fase tetragonal se mantivesse superior à monoclinica. Na mesma investigação, Sanon *et al.* também verificaram a diferença entre medir a fracção monoclinica directamente na superfície dos implantes (>60%) e medir numa superfície com corte transversal e polida do interior do implante (22%).(2) Os autores do estudo conseguiram concluir que o protocolo recomendado pela norma ISO 13356 não tem em conta a taxa de

transformação real da superfície dos implantes.(2) No DRX, o implante de zircónia após envelhecimento não apresentou carbonato de cálcio na sua constituição, porém, após EDS a sua presença foi confirmada. Este achado pode dever-se ao facto das partículas de carbonato de cálcio, características do jactamento, não estejam presentes de uma maneira uniforme em toda a superfície do implante.

À visualização através de SEM, a topografia de superfície do implante de zircónia após o envelhecimento não apresenta diferenças notórias em comparação com o implante de zircónia antes do envelhecimento.

No futuro, pode-se usufruir do facto da expressão diferencial de integrinas (proteínas de adesão presentes na membrana celular) nas células em contacto com os implantes fornecerem a base para novos tratamentos e modificações racionais de superfícies de implantes.(67) Por exemplo, a ligação de integrinas específicas para o implante pode ser melhorada através do revestimento das superfícies com curtas sequências de aminoácidos correspondentes aos sítios de ligação da integrina às moléculas da matriz extracelular.(67) Este princípio é de facto já usado e mostrou-se promissor como um adjuvante para a cura periodontal quando revestido em materiais apropriados de enxerto de substituição óssea.(67)

7. Conclusão

7. Conclusão

O número de amostras disponível apenas permitiu realizar um estudo comparativo entre amostras de composições e rugosidades diferentes e não um estudo de cada tipo de implante individualmente, uma vez que para tal se preconiza um mínimo de três implantes.

Dentro das limitações referidas no ponto anterior foi possível com este estudo concluir que:

- Estabeleceu-se uma associação entre o aspecto topográfico micrométrico da superfície dos implantes, com o seu aspecto nanométrico;
- Observou-se a ausência de óxido na superfície do implante de titânio;
- Verificou-se que a rugosidade do implante de zircónia é inferior aos implantes de titânio e de titânio-zircónio, sendo este último o que apresentou maiores valores de rugosidade;
- Após envelhecimento, verificou-se que a percentagem de óxido de zircónio na fase monoclinica aumentou e se manteve acima da percentagem da fase tetragonal.

Futuramente é importante continuar com estudos de superfície mais profundos e com maior número de amostras sobre o novo implante de zircónia. Será igualmente relevante estudos *in vitro* e *in vivo* a longo prazo que possam comparar a topografia e a rugosidade da superfície do implante, com a sua osteointegração. Também estudos sobre a formação de biofilme na superfície do implante de zircónia devem ser levados avante, de modo a verificar o comportamento desta cerâmica nos organismos vivos após o seu tratamento de superfície.

Existe uma panóplia de opções para tornar as superfícies dos implantes mais osteointegráveis, sendo de extrema importância que se prossiga com os estudos a este nível de modo a aumentar a longevidade dos implantes dentários.

A nível protético devem ser realizados novos estudos para abranger as opções viáveis do uso de implantes de zircónia, de modo a que se possa pensar a médio prazo na substituição de peças perdidas posteriores com recurso a este material e a que o mesmo possa ser de uso clínico diário, com menos restrições/limitações.

8. Conflitos de interesse

8. Conflitos de interesse

As amostras foram cedidas pela empresa Straumann[®], porém os colaboradores da presente investigação declaram que não houve conflito de interesse, uma vez que se tratou de um estudo independente.

9. Referências bibliográficas

9. Referências bibliográficas

1. Babbush CA, Hahn JA, Krauser JT, Rosenlicht JL. Dental implants: the art and science. Second ed. Maryland Heights: Saunders/Elsevier; 2011.
2. Sanon C, Chevalier J, Douillard T, Cattani-Lorente M, Scherrer SS, Gremillard L. A new testing protocol for zirconia dental implants. *Dent Mater*. 2014.
3. Brånemark P. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*. 1983;50(3):399-410.
4. Kohal R, Att W, Bächle M, Butz F. Ceramic abutments and ceramic oral implants. An update. *Periodontol 2000*. 2008;47:224-43.
5. Bala Y, Seeman E. Bone's material constituents and their contribution to bone strength in health, disease, and treatment. *Calcif Tissue Int*. 2015:1-19.
6. Delgado-Ruiz RA, Abboud M, Romanos G, Aguilar-Salvatierra A, Gomez-Moreno G, Calvo-Guirado JL. Peri-implant bone organization surrounding zirconia-microgrooved surfaces circularly polarized light and confocal laser scanning microscopy study. *Clin Oral Impl Res*. 2014:1-10.
7. Boerboom RA, Krahn KN, Megens RT, van Zandvoort MA, Merckx M, Bouten CV. High resolution imaging of collagen organisation and synthesis using a versatile collagen specific probe. *J Struct Biol*. 2007;159(3):392-9.
8. Wang X, Bank RA, TeKoppele JM, Agrawal CM. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *J Orthop Res*. 2001;19:1021-6.
9. Traini T, Degidi M, Caputi S, Strocchi R, Di Iorio D, Piattelli A. Collagen fiber orientation in human peri-implant bone around immediately loaded and unloaded titanium dental implants. *J Periodontol*. 2005;76(1):83-9.
10. Traini T, Degidi M, Strocchi R, Caputi S, Piattelli A. Collagen fiber orientation near dental implants in human bone: do their organization reflect differences in loading? *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;74(1):538-46.
11. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont*. 1998;11(5):391-401.
12. Viguet-Carrin S, Garnero P, Delmas PD. The role of collagen in bone strength. *Osteoporos Int*. 2006;17(3):319-36.

13. Hohling HJ, Arnold S, Plate U, Stratmann U, Wiesmann HP. Analysis of a general principle of crystal nucleation, formation in the different hard tissues. *Adv Dent Res*. 1997;11(4):462-6.
14. Mustafa K, Wennerberg A, Wroblewski J, Hultenby K, Lopez BS, Arvidson K. Determining optimal surface roughness of TiO₂ blasted titanium implant material for attachment, proliferation and differentiation of cells derived from human mandibular alveolar bone. *Clin Oral Impl Res*. 2001;12:515-25.
15. Ikarashi Y, Toyoda K, Kobayashi E, Doi H, Yoneyama T, Hamanaka H, et al. Improved biocompatibility of titanium–zirconium (Ti-Zr) alloy: tissue reaction and sensitization to Ti–Zr alloy compared with pure Ti and Zr in rat implantation study. *Mater Trans*. 2005;46(10):2260-7.
16. Berner S, Dard M, Gottlow J, Molenberg A, Wieland M. Titanium-Zirconium: a novel material for dental implants. *Eur Cell Mater*. 2009;17(1):16.
17. Kohal RJ, Weng D, Bächle M, Strub JR. Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment. *J Periodontol*. 2004;75(9):1262-8.
18. Heydecke G, Kohal R, Glaser R. Optimal esthetics in single-tooth replacement with the re-implant system: A case report. *Int J Prosthodont*. 1999;12(2):184-9.
19. Dooren EV, Calamita M, Calgaro M, Coachman C, Ferencz JL, Pinho C, et al. Mechanical, biological and clinical aspects of zirconia implants. *Eur J Esthet Dent*. 2012;7(4):396-417.
20. Sridhar S, Wilson TG, Jr., Palmer KL, Valderrama P, Mathew MT, Prasad S, et al. In vitro investigation of the effect of oral bacteria in the surface oxidation of dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015.
21. Gaintantzopoulou M, Zinelis S, Silikas N, Eliades G. Micro-Raman spectroscopic analysis of TiO₂ phases on the root surfaces of commercial dental implants. *Dent Mater*. 2014;30(8):861-7.
22. Liu R, Lei T, Dusevich V, Yao X, Liu Y, Walker MP, et al. Surface characteristics and cell adhesion: a comparative study of four commercial dental implants. *J Prosthodont*. 2013;22(8):641-51.
23. Kobayashi E, Matsumoto S, Doi H, Yoneyama T, Hamanaka H. Mechanical properties of the binary titanium-zirconium alloys and their potential for biomedical materials. *J Biomed Mater Res*. 1995;29:943-50.

24. Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*. 1999;20:1-25.
25. Kelly JR. Dental ceramics: current thinking and trends. *Dent Clin North Am*. 2004;48(2):513-30.
26. Denry I, Kelly JR. State of the art of zirconia for dental applications. *Dent Mater*. 2008;24(3):299-307.
27. Vagkopoulou T, Koutayas SO, Koidis P, Strub JR. Zirconia in dentistry: part 1. Discovering the nature of an upcoming bioceramic. *Eur J Esthet Dent*. 2009;4(2):2-23.
28. Assal PA. The osseointegration of zirconia dental implants. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2013;123(7-8):644-54.
29. Jung YG, Peterson IM, Kim DK, Lawn BR. Lifetime-limiting strength degradation from contact fatigue in dental ceramics. *J Dent Res*. 2000;79(2):722-31.
30. Gahlert M, Röhling S, Wieland M, Eichhorn S, Küchenhoff H, Kniha H. A comparison study of the osseointegration of zirconia and titanium dental implants. A biomechanical evaluation in the maxilla of pigs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2010;12(4):297-305.
31. Cales B. Zirconia as a sliding material: histologic, laboratory and clinical data. *Clin Orthop* 2000. 2000;1:94-112.
32. Fischer-Brandies E, Pratzel H, Wendt T. Radioactive burden resulting from zirconia implants. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1991;46:688-90.
33. Capannesi G, Sedda AF, Piconi C, Greco F. Radioactivity measurements of zirconia powders. In: Ravaglioli A, Krajewski A, editors. *Bioceramics and the Human Body*: Springer Netherlands; 1992. p. 211-6.
34. Porstendörfer J, Reineking A, Willert HG. Radiation risk estimation based on activity measurements of zirconium oxide implants. *J Biomed Mater Res*. 1996;32(4):663-7.
35. Owen S. *Application of transformation-toughened zirconia ceramics as bioceramics*: Sydney: University of New South Wales; 1995.
36. ISO. *Dentistry - ceramic materials*. ISO 6872; 2008.
37. ISO. *Implants for surgery - ceramic materials based on yttria-stabilized tetragonal zirconia (Y-TZP)*. ISO 13356; 2008.

38. Gahlert M, Roehling S, Sprecher CM, Kniha H, Milz S, Bormann K. In vivo performance of zirconia and titanium implants: a histomorphometric study in mini pig maxillae. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(3):281-6.
39. Bormann KH, Gellrich NC, Kniha H, Dard M, Wieland M, Gahlert M. Biomechanical evaluation of a microstructured zirconia implant by a removal torque comparison with a standard Ti-SLA implant. *Clin Oral Impl Res.* 2012;23(10):1210-6.
40. Depprich R, Zipprich H, Ommerborn M, Mahn E, Lammers L, Handschel J, et al. Osseointegration of zirconia implants: an SEM observation of the bone-implant interface. *Head Face Med.* 2008;4:25.
41. Oliva X, Oliva J, Oliva JD. Full-mouth oral rehabilitation in a titanium allergy patient using zirconium oxide dental implants and zirconium oxide restorations. A case report from an ongoing clinical study. *Eur J Esthet Dent.* 2010;5(2):190-203.
42. Wenz HJ, Bartsch J, Wolfart S, Kern M. Osseointegration and clinical success of zirconia dental implants: a systematic review. *Int J Prosthodont.* 2008;21(1):27-36.
43. Thoma DS, Benic GI, Munoz F, Kohal R, Sanz Martin I, Cantalapedra AG, et al. Marginal bone-level alterations of loaded zirconia and titanium dental implants: an experimental study in the dog mandible. *Clin Oral Implants Res.* 2015.
44. Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: part 1- review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont.* 2004;17(5):536-43.
45. Zhao B, Mei HCvd, Subbiahdoss G, Vries J, Rustema-Abbing M, Kuijjer R, et al. Soft tissue integration versus early biofilm formation on different dental implant materials. *Dent Mater.* 2014;30(7):716-27.
46. Aboushelib MN, Osman E, Jansen I, Everts V, Feilzer AJ. Influence of a nanoporous zirconia implant surface of on cell viability of human osteoblasts. *J Prosthodont.* 2013;22(3):190-5.
47. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(S2):68-81.
48. Bico J, Thiele U, Quéré D. Wetting of textured surfaces. *Colloids Surf, A.* 2002;206:41-6.

49. Wennerberg A, Galli S, Albrektsson T. Current knowledge about the hydrophilic and nanostructured SLActive surface. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2011;3:59-67.
50. Wennerberg A, Albrektsson T. On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;25(1):63-74.
51. Wall I, Donos N, Carlqvist K, Jones F, Brett P. Modified titanium surfaces promote accelerated osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in vitro. *Bone*. 2009;45(1):17-26.
52. Mamalis AA, Silvestros SS. Analysis of osteoblastic gene expression in the early human mesenchymal cell response to a chemically modified implant surface: an in vitro study. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(5):530-7.
53. Qu Z, Rausch - Fan X, Wieland M, Matejka M, Schedle A. The initial attachment and subsequent behavior regulation of osteoblasts by dental implant surface modification. *J Biomed Mater Res A*. 2007;82(3):658-68.
54. Schwarz F, Herten M, Sager M, Wieland M, Dard M, Becker J. Histological and immunohistochemical analysis of initial and early subepithelial connective tissue attachment at chemically modified and conventional SLA® titanium implants. A pilot study in dogs. *Clin Oral Investig*. 2007;11(3):245-55.
55. Schwarz F, Herten M, Sager M, Wieland M, Dard M, Becker J. Bone regeneration in dehiscence - type defects at chemically modified (SLActive®) and conventional SLA titanium implants: a pilot study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2007;34(1):78-86.
56. Heberer S, Kilic S, Hossamo J, Raguse JD, Nelson K. Rehabilitation of irradiated patients with modified and conventional sandblasted acid - etched implants: preliminary results of a split - mouth study. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(5):546-51.
57. Rosa MB, Albrektsson T, Francischone CE, Schwartz Filho HO, Wennerberg A. The influence of surface treatment on the implant roughness pattern. *J Appl Oral Sci*. 2012:550-5.
58. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986;1:11-25.

59. Cochran DL. A comparison of endosseous dental implant surfaces. *J Periodontol.* 1999;70:1523–39.
60. Coelho PG, Jimbo R, Tovar N, Bonfante EA. Osseointegration: Hierarchical designing encompassing the micrometer, micrometer, and nanometer length scales. *Dent Mater.* 2014.
61. Svanborg LM, Andersson M, Wennerberg A. Surface characterization of commercial oral implants on the nanometer level. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010;92(2):462-9.
62. Wennerberg A, Albrektsson T. Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(3):331-44.
63. Frojd V, Linderback P, Wennerberg A, Chavez de Paz L, Svensater G, Davies JR. Effect of nanoporous TiO₂ coating and anodized Ca²⁺ modification of titanium surfaces on early microbial biofilm formation. *BMC Oral Health.* 2011;11:8.
64. Dorkhan M, Yucel-Lindberg T, Hall J, Svensater G, Davies JR. Adherence of human oral keratinocytes and gingival fibroblasts to nano-structured titanium surfaces. *BMC Oral Health.* 2014;14:75.
65. Brunette DM. Fibroblasts on micromachined substrata orient hierarchically to grooves of different dimensions. *Exp Cell Res.* 1986;164(1):11-26.
66. Thalji G, Cooper LF. Molecular assessment of osseointegration in vitro: a review of current literature. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2014;29(2):e171-99.
67. Oates TW, Maller SC, West J, Steffensen B. Human gingival fibroblast integrin subunit expression on titanium implant surfaces. *J Periodontol.* 2005;76(10):1743-50.
68. Ogawa T, Nishimura I. Different bone integration profiles of turned and acid-etched implants associated with modulated expression of extracellular matrix genes. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(2):200-10.
69. Lange R, Luthen F, Beck U, Rychly J, Baumann A, Nebe B. Cell-extracellular matrix interaction and physico-chemical characteristics of titanium surfaces depend on the roughness of the material. *Biomol Eng.* 2002;19:255-61.
70. Bornstein MM, Lussi A, Schmid B, Belser UC, Buser D. Early loading of nonsubmerged titanium implants with a sandblasted and acid-etched (SLA) surface: 3-year results of a prospective study in partially edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(5):659-66.

71. 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(7):945-56.
72. Reyes CD, Garcia AJ. Alpha-beta 1 integrin-specific collagen-mimetic surfaces supporting osteoblastic differentiation. *J Biomed Mater Res.* 2004;69A:591-600.
73. Jokinen J, Dadu E, Nykvist P, Käpylä J, White DJ, Ivaska J, et al. Integrin mediated cell adhesion to type I collagen fibrils. *J Biol Chem.* 2004;279:31956-63.
74. Brunette DM. The effects of implant surface topography on the behavior of cells. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1988;3(4):231-46.
75. Anselme K, Bigerelle M, Noel B, Dufresne E, Judas D, Iost A, et al. Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses. *J Biomed Mater Res.* 2000;49(2):155-66.
76. Anselme K, Bigerelle M, Noel B, Iost A, Hardouin P. Effect of grooved titanium substratum on human osteoblastic cell growth. *J Biomed Mater Res.* 2002;60(4):529-40.
77. Postiglione L, Di Domenico G, Ramaglia L, Montagnani S, Salzano S, Di Meglio F, et al. Behavior of SaOS-2 cells cultured on different titanium surfaces. *J Dent Res.* 2003;82(9):692-6.
78. Bachle M, Butz F, Hubner U, Bakaliniš E, Kohal RJ. Behavior of CAL72 osteoblast-like cells cultured on zirconia ceramics with different surface topographies. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(1):53-9.
79. Botticelli D, Berglundh T, Persson LG, Lindhe J. Bone regeneration at implants with turned or rough surfaces in self-contained defects. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol.* 2005;32(5):448-55.
80. Boyan BD, Batzer R, Kieswetter K, Liu Y, Cochran DL, Szmuckler-Moncler S, et al. Titanium surface roughness alters responsiveness of MG63 osteoblast-like cells to $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. *J Biomed Mater Res A.* 1998;39(1):77-85.
81. Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Lankford J, et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). *J Biomed Mater Res A.* 1995;29(3):389-401.
82. Degasne I, Basle MF, Demais V, Hure G, Lesourd M, Grolleau B, et al. Effects of roughness, fibronectin and vitronectin on attachment, spreading, and proliferation

of human osteoblast-like cells (Saos-2) on titanium surfaces. *Calcif Tissue Int.* 1999;64(6):499-507.

83. Hatano K, Inoue H, Kojo T, Matsunaga T, Tsujisawa T, Uchiyama C, et al. Effect of surface roughness on proliferation and alkaline phosphatase expression of rat calvarial cells cultured on polystyrene. *Bone.*25(4):439-45.

84. Kearns VR, Williams RL, Mirvakily F, Doherty PJ, Martin N. Guided gingival fibroblast attachment to titanium surfaces: an in vitro study. *J Clin Periodontol.* 2013;40(1):99-108.

85. Mendonça G, Mendonça DB, Aragão FJ, Cooper LF. Advancing dental implant surface technology - from micron- to nanotopography. *Biomaterials.* 2008;29(28):3822-35.

86. Mendonça G, Mendonça DB, Simões LG, Araújo AL, Leite ER, Duarte WR, et al. The effects of implant surface nanoscale features on osteoblast-specific gene expression. *Biomaterials.* 2009;30(25):4053-62.

87. Delgado-Ruiz RA, Gomez GM, Aguilar-Salvatierra A, Markovic A, Mate-Sanchez JE, Calvo-Guirado JL. Human fetal osteoblast behavior on zirconia dental implants and zirconia disks with microstructured surfaces. An experimental in vitro study. *Clin Oral Implants Res.* 2015:1-10.

88. Jimbo R, Sotres J, Johansson C, Breiding K, Currie F, Wennerberg A. The biological response to three different nanostructures applied on smooth implant surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(6):706-12.

89. Delgado-Ruiz RA, Calvo-Guirado JL, Moreno P, Guardia J, Gomez-Moreno G, Mate-Sánchez JE, et al. Femtosecond laser microstructuring of zirconia dental implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011;96(1):91-100.

90. Fischer J, Schott A, Märtin S. Surface micro-structuring of zirconia dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2015:1-5.

91. Ellingsen JE, Thomsen P, Lyngstadaas SP. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontol 2000.* 2006;41(1):136-56.

92. Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater.* 2007;23(7):844-54.

93. Kosmač T, Oblak C, Jevnikar P, Funduk N, Marion L. The effect of surface grinding and sandblasting on flexural strength and reliability of Y-TZP zirconia ceramic. *Dent Mater.* 1999;15(6):426-33.

94. Zhang Y, Lawn BR, Malament KA, Van TP, Rekow ED. Damage accumulation and fatigue life of particle-abraded ceramics. *Int J Prosthodont*. 2006;19(5):442-8.
95. Aparicio C, Gil FJ, Fonseca C, Barbosa M, Planell JA. Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications. *Biomaterials*. 2003;24(2):263-73.
96. Ivanoff CJ, Widmark G, Hallgren C, 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(2):128-34.
97. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, Krol JJ. A histomorphometric study of screw - shaped and removal torque titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res*. 1995;6(1):24-30.
98. Novaes Jr AB, Souza SL, de Oliveira PT, Souza AM. Histomorphometric analysis of the bone-implant contact obtained with 4 different implant surface treatments placed side by side in the dog mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001;17(3):377-83.
99. Piattelli M, Scarano A, Paolantonio M, Iezzi G, Petrone G, Piattelli A. Bone response to machined and resorbable blast material titanium implants: an experimental study in rabbits. *J Oral Implantol*. 2002;28(1):2-8.
100. Müller WD, Gross U, Fritz T, Voigt C, Fischer P, Berger G, et al. Evaluation of the interface between bone and titanium surfaces being blasted by aluminium oxide or bioceramic particles. *Clin Oral Implants Res*. 2003;14(3):349-56.
101. Gruber R, Hedbom E, D. Bosshardt D, Heuberger R, Buser D. Acid and alkali etching of grit blasted zirconia: Impact on adhesion and osteogenic differentiation of MG63 cells in vitro. *Dent Mater*. 2012;31(6):1097-102.
102. Massaro C, Rotolo P, De Riccardis F, Milella E, Napoli A, Wieland M, et al. Comparative investigation of the surface properties of commercial titanium dental implants. Part I: chemical composition. *J Mater Sci Mater Med*. 2002;13(6):535-48.
103. Zinger O, Anselme K, Denzer A, Habersetzer P, Wieland M, Jeanfils J, et al. Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography. *Biomaterials*. 2004;25(14):2695-711.
104. Cho SA, Park KT. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials*. 2003;24(20):3611-7.

105. Park JY, Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 2000;11(6):530-9.
106. Trisi P, Lazzara R, Rao W, Rebaudi A. Bone-implant contact and bone quality: evaluation of expected and actual bone contact on machined and osseotite implant surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2002;22(6):535-45.
107. Trisi P, Marcato C, Todisco M. Bone-to-implant apposition with machined and MTX microtextured implant surfaces in human sinus grafts. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003;23(5):427-37.
108. Cochran DL, Buser D, Ten Bruggenkate CM, Weingart D, Taylor TM, Bernard JP, et al. The use of reduced healing times on ITI® implants with a sandblasted and acid - etched (SLA) surface. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(2):144-53.
109. Oliva J, Oliva X, Oliva JD. Five-year success rate of 831 consecutively placed zirconia dental implants in humans: a comparison of three different rough surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2010;25(2):336-44.
110. 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 Biomed Mater Res.* 1991;25(7):889-902.
111. Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ, Gavrilovic J, Black J, Peoc'h M. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *J Bone Jt Surg Am.* 2000;82(4):457-.
112. Rocuzzo M, Bunino M, Prioglio F, Bianchi SD. Early loading of sandblasted and acid - etched (SLA) implants: a prospective split - mouth comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(6):572-8.
113. Fickl S, Kerschull M, Calvo-Guirado JL, Hurzeler M, Zuhr O. Experimental peri-implantitis around different types of implants - a clinical and radiographic study in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2015.
114. Nascimento C, Pita MS, Nogueira FH, Fernandes C, Pedrazzi V, Junior A, et al. Bacterial adhesion on the titanium and zirconia abutment surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(3):337-43.
115. Bürgers R, Gerlach T, Hahnel S, Schwarz F, Handel G, Gosau M. In vivo and in vitro biofilm formation on two different titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(2):156-64.

116. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine' peri - implant pockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(1):25-37.
117. Quirynen M, De Soete M, Van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Implants Res.* 2002;13(1):1-19.
118. Qian J, Wennerberg A, Albrektsson T. Reasons for marginal bone loss around oral implants. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012;14(6):792-807.
119. Albrektsson T, Dahlin C, Jemt T, Sennerby L, Turri A, Wennerberg A. Is marginal bone loss around oral implants the result of a provoked foreign body reaction? *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(2):155-65.
120. Albouy JP, Abrahamsson I, Persson LG, Berglundh T. Implant surface characteristics influence the outcome of treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2011;38(1):58-64.
121. Quirynen M, Abarca M, Van Assche N, Nevins M, Van Steenberghe D. Impact of supportive periodontal therapy and implant surface roughness on implant outcome in patients with a history of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007;34(9):805-15.
122. Bateli M, Att W, Strub JR. Implant neck configurations for preservation of marginal bone level a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2011;26(2):290-303.
123. Bürgers R, Hahnel S, Reichert TE, Rosentritt M, Behr M, Gerlach T, et al. Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. *Acta Biomater.* 2010;6(6):2307-13.
124. Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Bürgers R. In vitro evaluation of artificial ageing on surface properties and early *Candida albicans* adhesion to prosthetic resins. *J Mater Sci Mater Med.* 2009;20(1):249-55.
125. Subramani K, Jung RE, Molenberg A, Hämmerle CHF. Biofilm on dental implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(4):616-26.
126. Al-Radha AS, Younes C, Diab BS, Jenkinson HF. Essential oils and zirconia dental implant materials. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2013;28(6):1497-505.
127. Dohan Ehrenfest DM, Coelho PG, Kang BS, Sul YT, Albrektsson T. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. *Trends Biotechnol.* 2010;28(4):198-206.

128. Jarmar T, Palmquist A, Brånemark R, Hermansson L, Engqvist H, Thomsen P. Characterization of the surface properties of commercially available dental implants using scanning electron microscopy, focused ion beam, and high-resolution transmission electron microscopy. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2008;10(1):11-22.
129. Sul YT, Byon E, Wennerberg A. Surface characteristics of electrochemically oxidized implants and acid-etched implants: surface chemistry, morphology, pore configurations, oxide thickness, crystal structure, and roughness. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008;23(4):631-40.
130. Sawase T, Jimbo R, Wennerberg A, Suketa N, Tanaka Y, Atsuta M. A novel characteristic of porous titanium oxide implants. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(6):680-5.
131. Coelho PG, Lemons JE. Physico/chemical characterization and in vivo evaluation of nanothickness bioceramic depositions on alumina-blasted/acid-etched Ti-6Al-4V implant surfaces. *J Biomed Mater Res A*. 2009;90(2):351-61.
132. He J, Zhou W, Zhou X, Zhong X, Zhang X, Wan P, et al. The anatase phase of nanotopography titania plays an important role on osteoblast cell morphology and proliferation. *J Mater Sci Mater Med*. 2008;19(11):3465-72.
133. Buser D, Brogini N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL, et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res*. 2004;83(7):529-33.
134. Perdigão J, Fernandes SD, Pinto AM, Oliveira FA. Effect of artificial aging and surface treatment on bond strengths to dental zirconia. *Oper Dent*. 2013;38(2):168-76.
135. Chevalier J, Loh J, Gremillard L, Meille S, Adolfson E. Low-temperature degradation in zirconia with a porous surface. *Acta Biomater*. 2011;7(7):2986-93.
136. Gahlert M, Rohling S, Wieland M, Sprecher CM, Kniha H, Milz S. Osseointegration of zirconia and titanium dental implants: a histological and histomorphometrical study in the maxilla of pigs. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20(11):1247-53.
137. Zhao G, Schwartz Z, Wieland M, Rupp F, Geis-Gerstorfer J, Cochran DL, et al. High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure. *J Biomed Mater Res A*. 2005;74A(1):49-58.
138. Berglundh T, Gotfredsen K, Zitzmann NU, Lang NP, Lindhe J. Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface

roughness: an experimental study in dogs. Clin Oral Implants Res. 2007;18(5):655-61.

139. Marmur A. Soft contact: measurement and interpretation of contact angles. Soft Matter. 2006;2(1):12-7.