

CARACTERIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO CP GRAU I APÓS DIFERENTES TRATAMENTOS PREPARATÓRIOS

*CHARACTERIZATION OF CP TITANIUM SURFACES WITH DIFERENTS
PREPARATIVE TREATMENTS.*

Amália Caceres MONCADA

Professora Adjunta do Departamento de Odonto Restauradora da UFSM, Santa Maria, RS.

Aguinaldo CAMPOS JÚNIOR

Professor da Disciplina de Periodontia da FOB - USP.

Angelo Pegoraro MANFIO

Professor Adjunto do Departamento de Odonto Restauradora da UFSM, Santa Maria, RS.

Richard LANDERS

Professor do Departamento de Física Nuclear da UNICAMP, SP.

O objetivo da presente pesquisa foi de caracterizar, através de diferentes técnicas analíticas, superfícies de titânio cp grau I que foram submetidas a diferentes procedimentos preparatórios de uso comum na fabricação de implantes odontológicos. Superfícies de Ti cp grau I foram preparadas metalograficamente e, através de jateamento com 2 tipos diferentes de partículas, obtiveram-se morfologias superficiais **a** e **b**. Grupos iguais de cada superfície foram tratados com soluções ácidas diferentes e protocolos de limpeza (condição 1), processos de oxidação térmica (condição 2) e esterilização (condição 3). A análise da morfologia superficial através de SEM mostrou que o tratamento com ácido sulfúrico 10% não afetou a morfologia original das superfícies **a** e **b**, e o tratamento com ácido nítrico 30% - ácido fluorídrico 3% provocou alteração dramática da morfologia superficial original nas superfícies **a** e **b**, resultando em superfícies de morfologia similar, já os tratamentos de oxidação térmica e esterilização não produziram alterações evidentes nos diferentes grupos. Os resultados da análise de Espectroscopia Eletrônica (AES) mostraram que a camada mais superficial de óxido esteve constituída de TiO_2 , Ti, O e C foram elementos dominantes em todas as amostras sendo que, após esterilização, detectou-se a presença constante de Al, Si e Ca. Concluiu-se que os procedimentos preparatórios utilizados influenciaram a morfologia e composição química da camada superficial de óxido de titânio cp e, provavelmente, a resposta biológica poderia ser afetada.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento na área de implantes odontológicos, nos últimos anos, deu origem a uma variedade de sistemas com uma ampla gama de desenhos, materiais e texturas. Hoje a escolha de um material para aplicação particular na confecção de implantes odontológicos baseia-se nas diferentes propriedades físicas e químicas exigidas^{25, 26}. Há, contudo, um aspecto de primordial importância que diz respeito a sua biocompatibilidade. A definição de biocompatibilidade proposta por RATNER²⁹, em 1993, como sendo "o aproveitamento que, um material faz das proteínas e células do meio biológico onde é colocado, de forma a satisfazer a meta específica de seu desempenho" sugere um papel central para as proteínas interfaciais e o processo de reconhecimento celular enquanto salienta a propriedade intrínseca da superfície do material no comando da resposta biológica. Assim é necessário compreender que a superfície do titânio é de fundamental importância na fabricação de implantes odontológicos.

O titânio é um material reativo. Como consequência disso, uma camada de óxido superficial forma-se espontaneamente, após exposição repentina ao ar durante o processo de usinagem, na fabricação de implantes odontológicos¹⁷. Propriedades específicas da camada de óxido como composição química, espessura e microarquitetura dependerão de fatores próprios do processo de usinagem e das diversas técnicas preparatórias utilizadas, como texturização através de jateamento das superfícies com diferentes partículas e protocolos de limpeza e passivação através de tratamentos ácidos e tratamentos térmicos, com o fim de se obterem superfícies altamente reativas e com características aceitáveis para seu uso cirúrgico¹²; no entanto as diferentes técnicas de esterilização utilizadas atualmente pelos fabricantes podem alterar, em menor ou maior grau, as propriedades superficiais através de elementos contaminantes residuais podendo resultar em superfícies de baixa energia e, conseqüentemente, em respostas adversas do meio biológico^{3, 18}. Assim a caracterização das superfícies de titânio para avaliação da reação tecidual necessariamente deverá incluir uma análise da composição química, contaminação e microtopografia superficial. Essas propriedades iniciais da superfície determinarão, de forma decisiva, a natureza e as propriedades da camada de água e biomoléculas que eventualmente serão adsorvidas influenciando o comportamento das células quando alcançarem a superfície^{19, 20}. A interação do meio

biológico com a superfície não é mais do que uma série de eventos acoplados e desenvolvidos no tempo e espaço, influenciados pelas propriedades originais da mesma². Um ingrediente importante no estudo da superfície de um biomaterial antes de sua implantação é a possibilidade de controlar suas propriedades através de tratamentos superficiais específicos e análises cuidadosas enfocando deliberadamente o lado inorgânico da interface implante/tecido^{2, 12, 24}. O propósito deste trabalho foi caracterizar superfícies de titânio cp grau I submetidas a diferentes procedimentos preparatórios e analisar as alterações que eles provocam e que poderiam influenciar a biocompatibilidade das mesmas.

MATERIAL E MÉTODOS

Através do corte de uma barra cilíndrica de Ti cp grau I com todos os requisitos exigidos pela especificação padrão F67-89 da ASTM¹, foram obtidos 90 cilindros de 3mm x 5mm e suas superfícies planas preparadas metalograficamente através de um lixamento mecânico com papel de granulação 200 e 600, polimento mecânico com pastas de diamante de 6 μ , 3 μ e 1/4 μ e limpeza ultrassônica com benzol, acetona e álcool etílico durante 10 min cada lavagem e enxágües intercalados em água bidestilada.

Para se obterem duas morfologias superficiais diferentes, 45 amostras foram jateadas com esferas de vidro de 25 μ m constituindo as superfícies **a**, e as outras 45 amostras foram jateadas com partículas de óxido de alumínio de 50 μ m constituindo as superfícies **b**. Todas as amostras foram lavadas ultra-sonicamente em tricloro etileno, álcool absoluto 90° duas vezes e água bidestilada, durante 10 min cada lavagem. Após secagem à temperatura ambiente, as amostras foram colocadas separadamente, em tubos de vidro, e secas ao ar, divididas em 3 grupos constituídos de 15 amostras com superfícies **a** e 15 com superfícies **b**. Cada grupo de 30 amostras recebeu um tratamento ácido diferente durante 20 min, em aparelho de ultra-som, sendo designados como:

grupo S: tratado com ácido sulfúrico 10%.

grupo N: tratado com solução de ácido nítrico 30% - ácido fluorídrico 3%

grupo SN: tratado com ácido sulfúrico 10%, lavagem em água bidestilada e seguidamente tratado com ácido nítrico 30% - ácido fluorídrico 3%.

Após os respectivos tratamentos ácidos, todas as amostras foram submetidas a 3 lavagens com água bidestilada e desionizada, secas à temperatura ambiente

e estocadas em tubos de vidro constituindo assim a condição 1.

Amostras de cada grupo na condição 1, foram submetidas a processo de oxidação térmica em estufa a 200°C, durante 30 min, constituindo a condição 2.

Amostras de cada grupo na condição 2 foram colocadas em ampolas de vidro contendo álcool etílico a 10%, seladas e esterilizadas através de autoclavagem a 121°C durante 30 min, constituindo a condição 3.

A análise semiquantitativa da composição química de superfícies representativas de cada grupo em cada condição foi realizada através da técnica analítica de Espectroscopia de Elétrons Auger (AES) em um analisador tipo espelho cilíndrico (CMA-Cilindrical Mirror Analyser VARIAN), com uma pressão de ultravácuo na câmara de análise de 5×10^{-9} Torr, a voltagem irradiada de elétrons (E_e) foi de 3000 eV e 2.8 nA de corrente de elétrons com um diâmetro de feixe de 500 μ m e uma modulação de 5 volts pico a pico. A corrente eletrônica baixa foi planejada de forma a evitar uma redução eletrônica induzida na camada de óxido. Os espectros foram medidos em uma amostra representativa de cada grupo S, N e SN em cada uma das condições 1, 2 e 3, com uma energia cinética que variou na faixa de 30 a 550 eV, e as concentrações dos elementos detectados foram calculadas em % utilizando o método de sensibilidades relativas através da fórmula: $C = I_i/S_i$ somatória I_i/S_i , onde C representa a concentração, I_i representa a intensidade do pico do elemento i e S_i representa a sensibilidade do elemento i. Os espectros obtidos das análises mostram uma escala vertical que dá a proporção dos picos dos elementos Auger e a medição relativa da quantidade presente de cada um dos elementos detectados nas superfícies analisadas. A escala horizontal do espectro corresponde à quantidade de energia do feixe de elétrons em eV que é lançado contra a superfície da amostra analisada (Figura 1).

A avaliação da morfologia superficial da camada de óxido foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM), JEOL JSM-T2202A em amostras de cada grupo S, N e SN, em cada uma das 3 condições, e realizadas fotografias com aumentos de 500x e 1.500x.

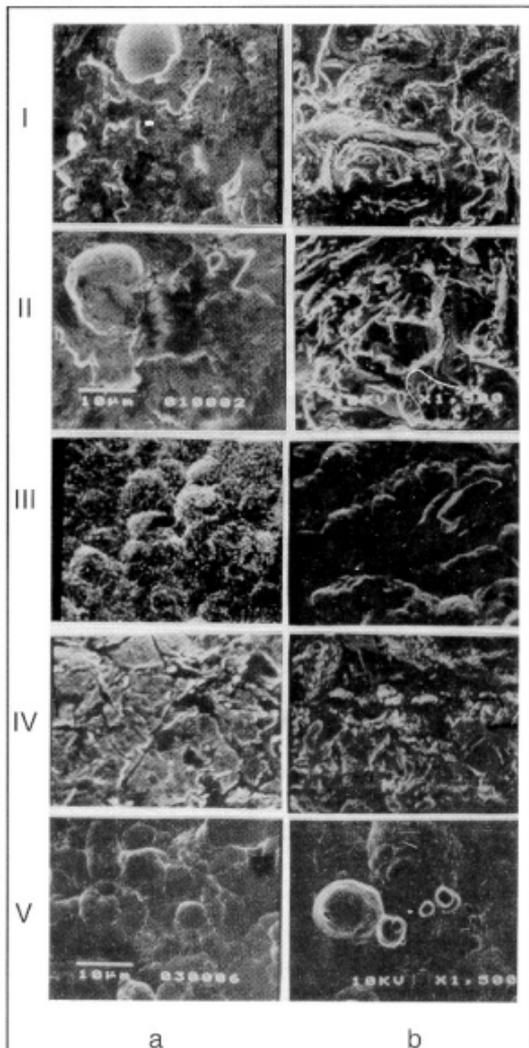


FIGURA 1- As imagens correspondem a: I morfologia original das superfícies a e b; II superfícies a e b após tratamento S na condição 1; III superfícies a e b após tratamento N na condição 1, a zeta indica presença de partícula talvez resultante do processo de jateado; IV superfícies a e b do grupo N na condição 3; V superfícies a e b do grupo SN na condição 3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de Espectroscopia de Elétrons Auger (AES) permitiu uma análise semiquantitativa em valores percentuais dos elementos químicos a nível atômico, em cada uma das superfícies analisadas, como mostra o Quadro 1. Dessa forma, os resultados evidenciaram a composição química elementar da superfície de óxido formado em decorrência dos diferentes tratamentos ácidos e a influência de cada uma das condições. As análises dos espectros obtidos (Figura 1) denotaram ausência de diferenças significativas na energia de união dos elementos Ti e O entre as amostras analisadas nesta pesquisa e a comparação da média dos potenciais de voltagem eletrônica utilizados com os achados de LAUSMAA, KASEMO, MATTSSON²³ e LAUSMAA et al.²⁴, sustentam a afirmação de que a superfície da camada de óxido esteve constituída fundamentalmente por TiO₂ em todas as amostras dos 3 grupos nas diferentes condições, isto é, os diferentes tratamentos ácidos, processos de oxidação térmica e esterilização resultaram na presença de uma camada de óxido constituída basicamente do mesmo tipo de óxido²⁷. Os valores percentuais dos elementos Ti, O e C mostraram uma grande variabilidade entre os diferentes grupos, nas condições 1 e 2, e os níveis de Ti e O estiveram influenciados pelos níveis de C como mostra o quadro 1 de concentrações. O pico relativamente forte para C (Figura 1) poderia designar-se para uma contaminação superficial por moléculas orgânicas contendo C, e sua relativa alta variabilidade influenciando os níveis de Ti e O poderia ser uma consequência das diferenças nos meios aos quais as amostras foram expostas e da variação no tempo de exposição aos mesmos como afirmado por LAUSMAA, KASEMO, MATTSSON²³. Uma comparação entre as diferentes condições indicou que as amostras imersas em álcool etílico a 10% e esterilizadas em ampolas de vidro fechadas tiveram níveis menores e pouco variáveis de C, o que provavelmente se poderia dever ao controle de contaminação obtido através de ampolas fechadas hermeticamente, prevenindo, dessa forma, uma incontrolada exposição ao ar²³. Análises da composição química de superfícies de implantes comerciais mostraram que existe uma ampla variabilidade nos níveis de C detectados^{4,21,26}. OLEFJORD; HANSSON²⁶ encontraram, nas superfícies contaminadas com compostos orgânicos e inorgânicos, que os sinais dominantes representavam C ligado a H em diferentes compostos e com uma variabilidade relativamente pequena

de concentrações dos grupos funcionais C-OH e C=O entre os diferentes implantes analisados, o que poderia ser o resultado de uma adsorção de compostos com conteúdo de C ligado a H muito variável nas camadas mais superficiais do óxido como afirmado por ONG et al²⁷. Com relação à uniformidade da composição química das superfícies, LAUSMAA; KASEMO; MATTSSON²³, avaliaram através de AES superfícies em diferentes áreas de 0.1µ a 1µ encontrando que houve variações de ponto para ponto principalmente nos níveis de C, mas não foram sistemáticas. No Quadro 1 de concentrações, não foi incluído o N, visto que o único pico Auger disponível para esse elemento esteve localizado aproximadamente a uma energia de 390 eV que se superpõe ao pico para o Ti como mostram os espectros representativos da Figura 1, e sua quantificação próxima a 1% não se inclui nos resultados²³. Já SOLAR; POLLACK; KOROSTOFF³¹ atribuíram a presença de N a compostos de TiN formados nas superfícies que receberam tratamento com ácido nítrico; no entanto, nesta pesquisa, observou-se que a presença de N em quantidades de traços não foi exclusiva de superfícies com esse tratamento como mostram os espectros representativos do grupo S tratado com ácido sulfúrico (Figura 1). Essas observações concordam com os resultados de ONG et al.²⁷; para LAUSMAA et al²⁴ pequenas quantidades de TiN na camada superficial de óxido resultaram da presença de nitrogênio orgânico.

Provavelmente a fonte mais comum de contaminantes orgânicos e inorgânicos nas superfícies de implantes origina-se dos processos de limpeza e esterilização. Técnicas convencionais de esterilização através de calor úmido (autoclave)^{13, 15, 23, 24}, calor seco (estufa)^{23, 25}, gás de óxido de etileno¹⁹, pérolas de vidro¹⁵, e imersão em soluções¹⁹, todas deixam resíduos sobre as superfícies. Esses procedimentos são potencialmente letais para bactérias e não processos de limpeza; os vetores de morte biológica permanecem nas superfícies, aumentando, dessa forma, a problemática dos resíduos já existentes nas mesmas¹⁸. Para alguns autores^{3, 15, 32}, o procedimento de limpeza e esterilização de superfícies de implantes, através de Descarga Incandescente em Radiofrequência (RFGD), representaria uma exceção devido a suas excelentes qualidades resultando em superfícies altamente reativas carecendo, porém, de uma razoável durabilidade de seus efeitos^{13, 34}.

O método de esterilização utilizado nesta pesquisa combinou técnicas de esterilização através de imersão em álcool etílico a 10%, em ampolas seladas, e autoclavagem subsequente. Sabe-se que o titânio é altamente resistente

a compostos orgânicos como álcoois e que, em soluções com água de no mínimo 1.5%, previne a despassivação e a fratura por corrosão da camada de óxido de sua superfície³⁰, evitando-se, dessa forma, os efeitos degradativos conhecidos da esterilização através de autoclavagem convencional^{33, 38}. As análises AES das amostras com superfícies **a** e **b** após esterilização (condição3) demonstraram a presença de altos níveis de Al e Si e níveis menores de Ca resultantes evidentemente do processo de esterilização e que provavelmente estiveram incluídos na solução de álcool utilizada. No entanto alguns autores sugerem²⁷ que a presença de Al poderia ser o resultado do processo de jateamento com partículas de óxido de alumínio, contudo, nos resultados desta pesquisa, observou-se que o Al não foi exclusivo das superfícies **b**, e, no caso específico da amostra **S3a**, os níveis de Al praticamente se duplicaram. A forma do pico para Si nos espectros obtidos (Figura 1) sugeriu a presença desse elemento em forma oxidada, ou seja, ligada a oxigênio formando a camada mais superficial. Para BINON, WEIR, MARSHALL⁴, a presença de Si em forma oxidada, na camada mais superficial do óxido de implantes comerciais e de amostras preparadas de metalograficamente, poderia ser o resultado do processo

de esterilização através de RFGD e/ou a elementos residuais da lubrificação durante o processo de usinagem e resíduos de materiais de polimento na preparação metalográfica das amostras. Como sugerido por HELSINGEN, LYBERG¹⁶, o Si poderia ser liberado das embalagens de vidro que contivessem os implantes fornecidos pelos fabricantes. Nesta pesquisa, a liberação desse elemento no meio líquido estaria provavelmente favorecida pelo aquecimento e pressão durante o processo de esterilização em autoclave. Já os baixos níveis de Ca detectados nas análises AES da camada mais superficial nesta pesquisa foram provavelmente originados de sais residuais presentes na água⁴ utilizada para a diluição do álcool etílico colocado nas ampolas onde as amostras foram esterilizadas.

A morfologia superficial da camada de óxido é outra das propriedades que pode influenciar a resposta biológica. Dependendo da escala de longitude, a topografia da superfície influenciará diferentes aspectos da interface implante/tecido^{6, 9, 10, 11}. Em uma escala de 10mm a 10 nm, a topografia superficial poderia influenciar a biologia da interface desde que estivesse na mesma faixa das dimensões celulares e moleculares. Os defeitos microestruturais existentes como limites dos

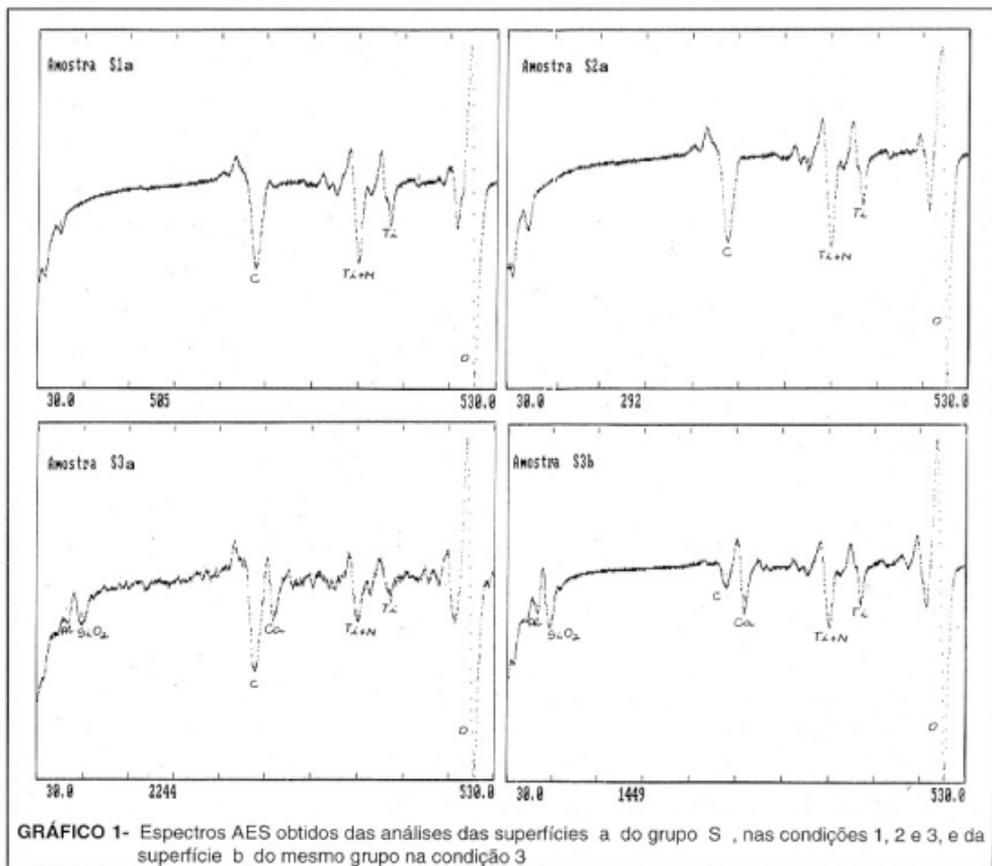
ELEMENTOS

Grupo	S	C	Ca	Ti	O	Al	Si
S1a	—	28 %	—	18 %	54 %	—	—
S2a	—	54 %	—	8 %	38 %	—	—
S3a	—	16 %	4.0 %	3 %	23 %	32 %	21 %
S3b	—	5 %	5 %	4.8 %	26 %	15 %	42 %
N1a	0.5%	47 %	—	12 %	41 %	—	—
N2a	0.8%	41 %	—	13 %	45 %	—	—
N3a	—	23 %	5.4 %	3.9 %	25 %	14 %	28 %
N3b	—	20 %	3.4 %	3.5 %	30 %	13 %	29 %
SN1a	—	29 %	—	18 %	52 %	—	—
SN2a	—	38 %	2.6 %	13 %	46 %	—	—
SN3a	—	31 %	1.6 %	6.6 %	33 %	16 %	11 %
SN3b	—	41 %	1.6 %	5.2 %	29 %	10 %	12 %

QUADRO 1 - Resultados da análise quantitativa (%) da composição química das superfícies de Ti cp após diferentes tratamentos utilizando a técnica de Espectroscopia de Elétrons Auger (AES)

grãos, wdesnáveis e vazios entre os mesmos representam locais ativos para adsorção podendo, dessa forma, influenciar a forma como as biomoléculas se ligam às superfícies durante os períodos iniciais após implantação³⁷. Para BRUNETTE et al⁶, a textura superficial de um implante teria o potencial de seleção específica para certas populações celulares além da possibilidade de alterar a forma celular e conseqüentemente funções importantes como secreção protéica, adesão, migração e proliferação. A rugosidade ideal de uma superfície de titânio com relação a seu comportamento a longo prazo ainda não foi descrita; no entanto superfícies de titânio rugosas mostraram aposição óssea direta³³, maior resistência a forças de tensão³⁵, maior resistência ao torque^{8, 33, 35}, e

análises histomorfométricas apontaram porcentagens significativamente maiores de contato direto osso/implante quando comparadas com superfícies lisas⁷. Nesta pesquisa, as análises macroscópicas das superfícies jateadas com partículas diferentes mostraram que o jateamento com esfera de vidro (a) deixou superfícies com tonalidade cinza-clara e de aspecto regular, liso e fosco. Já o jateamento com partículas de óxido de alumínio (b) resultou em superfícies irregulares de cor cinza-escuro e com algum brilho. As análises das micrografias SEM obtidas de ambas as superfícies na condição 1 denotaram diferenças evidentes na microtopografia da camada superficial de óxido como mostra a fotografia 1-1: as superfícies a apresentavam



depressões rasas, microrrachaduras e áreas mais escuras; já as superfícies **b** mostraram ser muito irregulares, com depressões profundas e elevações com bordas definidas, bandas e microrrachaduras assim como áreas mais escuras. O tratamento com ácido sulfúrico a 10% indicado pela ASTM¹ não alterou a microtopografia superficial original das superfícies **a** e **b** mostrando que não é corrosivo para o titânio e suas ligas¹ (Fotg.1-II); já o tratamento com solução de ácido nítrico e ácido fluorídrico nas concentrações utilizadas¹, alteraram a morfologia superficial inicial de ambas as superfícies para uma morfologia globular, uniforme e muito similar entre elas, resultado de uma deformação plástica superficial devido a um ataque agressivo do íon flúor que forma complexos solúveis altamente estáveis com o titânio³⁰ (Fotog.1-III). Essas características foram observadas também para o grupo SN tratado primeiro com ácido sulfúrico e posteriormente com ácido nítrico e ácido fluorídrico nas mesmas concentrações e tempos utilizados nos grupos S e N (Fotog. 1-V). A presença de partículas diferentes observadas nas superfícies analisadas, poderia ser atribuída a partículas residuais do processo de jateamento e que ficaram incluídas nas mesmas (Fotog. 1-IIIb), como afirmado por BOWERS et al.⁵ e KÖNÖNEN et al.²². A condição 2, processo de oxidação térmica a 200 °C, e a condição 3, esterilização através de autoclavagem em álcool etílico a 10%, em geral pareceram não afetar a morfologia superficial resultante dos diferentes tratamentos ácidos; contudo o aquecimento das superfícies em ambas as condições poderia ser responsável pela presença de microrrachaduras presentes em algumas superfícies **a** e **b** tratadas com ácido nítrico (Fotog. 1-IV), como proposto por FUKUZUKA et al.¹⁴.

CONCLUSÕES

A avaliação das superfícies de Ti cp grau I após diferentes tratamentos preparatórios, através das técnicas analíticas escolhidas, permite-nos concluir que:

- a estequiometria da camada de óxido mais superficial resultou em TiO₂, os níveis de C influenciaram os níveis de Ti e O nas condições 1 e 2 e o processo de esterilização determinou a presença de níveis altos de Al e Si e níveis menores de Ca;

- o tratamento com ácido sulfúrico a 10% não produziu alterações na morfologia superficial inicial de superfícies **a** e **b**; já o tratamento com solução de ácido nítrico/ácido fluorídrico produziu deformação plástica das superfícies com diferentes morfologias resultando em superfícies com

microarquitetura superficial similar;

- os processos de oxidação térmica e esterilização utilizados não produziram alterações significativas na morfologia superficial da maioria das amostras analisadas.

ABSTRACT

The objective of this research was to characterize and analysis the effects of differents preparative treatments on the surface of cp Ti used for manufacture dental implants. CpTi metallographically prepared cylinders with two different surfaces roughness: **a** and **b** obtained by fined blasted and coarse blasted respectively and each one divided in three groups that were submitted to differents acid treatments: S sulfuric acid 10%, N nitric acid 30% - Fluoridric acid 3% and SN sulfuric acid 10% and sulfuric acid 30% - Fluoridric acid 3%. Specimes of each one group were submitted to thermal treatment at 200 °C, 20 min and sterilization by submersion in ethyl alcohol 10% in glass packages sealed and autoclaved. The effect of differents treatments on surfaces was examined by surfaces analytical technics. AES surfaces analyses of all surfaces showed that the istioquimetric of superficial oxide was TiO₂ and the dominants elements were Ti, O e C, were detected Ca in low ranges, Al and Si in higher ranges on all sterilized surfaces. SEM analyses indicated that the sulfuric acid 10% did not altered significantly the original surface morphology in surfaces **a** and **b**, however nitric acid 30% - fluoridric acid 3% altered dramatically the original morphologies and resulted in similar surfaces. Thermal treatment and esterilization not showed pronounced changes on surfaces. The results indicated that the differents preparative methods and sterilization process induced changes in chemical composition and morphology of cpTi surfaces.

UNITERMS: Dental Implantation; Titanium.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAS. Standard recommended practice for surface preparation and marking of metallic surgical implants. Philadelphia, ATMS, 1976. (ASTM Standard F86).
- 2- BAIER, R. E.; MEYER, A. E. Implant surface preparation. *Int. J. oral Maxillofac. Implants*, v. 3, n.1, p. 9-20, Spring 1988
- 3- BAIER, R. E. et al. Degradative effects of conventional steam sterilization on biomaterial surfaces. *Biomaterials*, v. 3, n. 4, p. 241-5, Oct. 1982.

- 4- BINON, P.P.; WEIR, D. J.; MARSHALL, S. J. Surface analysis of an original Brånemark implant and three related clones. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 7, n. 2, p. 168-75, Summer 1992.
- 5- BOWERS, K. T. et al. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 7, n. 3, p. 302-10, Fall 1992.
- 6- BRUNETTE, D. M. The effects of implant surface topography on the behavior of cells. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 3, n. 4, p. 231-46, Winter 1988.
- 7- BUSER, D. et al. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 25, n. 7, p. 889-902, July 1991.
- 8- CARLSSON, L. et al. Removal torques for polished and rough titanium implants. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 3, n. 1, p. 21-4, Spring 1988.
- 9- CHEHROUDI, B.; GOULD, T. R. L.; BRUNETTE, D. M. Effects of a grooved titanium-coated implant surface on epithelial cell behavior in vitro and in vivo. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 23, n. 9, p. 1067-85, Sept. 1989.
- 10- CHEHROUDI, B.; GOULD, T. R. L.; BRUNETTE, D. M. Titanium-coated micromachined grooves of different dimensions effect epithelial and connective-tissue cells differently in vivo. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 24, n. 9, p. 1203-19, Sept. 1990.
- 11- CHEHROUDI, B.; GOULD, T. R. L.; BRUNETTE, D. M. A light and electron microscopic study of the effects of surface topography on the behavior of cells attached to titanium-coated percutaneous implants. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 25, n. 3, p. 387-405, Mar. 1991.
- 12- DAVIES, J. E.; LOWENBERG, B.; SHIGA, A. The bone-titanium interface in vitro. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 24, n. 10, p. 1289-306, Oct. 1990.
- 13- DOUNDOULAKIS, J. H. Surface analysis of titanium after sterilization: role in implant-tissue interface and bioadhesion. **J. prosth. Dent.**, v. 58, n. 4, p. 471-8, Oct. 1987.
- 14- FUKUZUKA, T. et al. On the beneficial effect of the titanium oxide film formed by thermal oxidation. In: KIMURA, H.; IZUMI, O., eds. **Titanium 80: science and technology; proceedings**. New York, AIME, 1980. p. 2783-92.
- 15- HARTMAN, L. C. et al. Effects of pretreatment sterilization and cleaning methods on materials properties and osseointegration of a threaded implant. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 4, n. 1, p. 11-8, Spring 1989.
- 16- HELSINGEN, A. L.; LYBERG, T. Comparative surface analysis and clinical performance studies of Brånemark Implants and related clones. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 9, n. 4, p. 422-30, 1994.
- 17- KASEMO, B.; LAUSMAA, J. Biomaterial and implant surfaces: a surface science approach. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 3, n. 4, p. 247-59, Winter 1988.
- 18- KASEMO, B.; LAUSMAA, J. Biomaterial and implant surfaces: On the role of cleanliness, contamination, and preparation procedures. **J. Biomed. Mater. Res. Applied Biomaterials**, v. 22, n. 2, p. 145-58, 1988.
- 19- KELLER, J. C. et al. Characterization of sterilized cp titanium implant surfaces. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 5, n. 4, p. 360-7, Winter 1990.
- 20- KELLER, J. C. et al. Characterizations of titanium implant surfaces. III. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 28, n. 8, p. 939-46, Aug. 1994.
- 21- KLAUBER, C.; LENZ, L. J.; HENRY, P. J. Oxide thickness and surface contamination of six endosseous dental implants determined by electron spectroscopy for chemical analysis: a preliminary report. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 5, n. 3, p. 264-71, Fall 1990.
- 22- KÖNÖNEN, M. et al. Effect of surface processing on the attachment, orientation, and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 26, n. 10, p. 1325-41, Oct. 1992.
- 23- LAUSMAA, J.; KASEMO, B.; MATTSSON, H. Surface spectroscopic characterization of titanium implant materials. **Appl. surf. Sci.**, v. 44, p. 133-46, 1990.
- 24- LAUSMAA, J. et al. Preparation, surface spectroscopic and electron microscopic characterization of titanium implant materials. In: RATNER, B. D., ed. **Surface characterisation of biomaterials**. Amsterdam, Elsevier 1988. Cap. 11, p. 161-74.
- 25- MCQUEEN, D. et al. Clinical applications of biomaterials. In: LEE, A.J.C. et al., eds. **Advances in biomaterials: clinical applications of biomaterials**. New York, John Wiley & Sons, 1982. v. 4, p. 179-85.
- 26- OLEFJORD, I.; HANSSON, S. Surface analysis of four dental implant systems. **Int. J. oral Maxillofac. Implants**, v. 8, n. 1, p. 32-40, 1993.
- 27- ONG, J. L. et al. Electrochemical corrosion analyses and characterization of surface-modified titanium. **Appl. surf. Sci.**, v. 72, p. 7-13, 1993.
- 28- PARR, G. R.; GARDNER, L. K.; TOOTH, R. W. Titanium: the mystery metal of implant dentistry; dental materials aspects. **J. prosth. Dent.**, v. 54, n. 3, p. 410-14, Sept. 1985.
- 29- RATNER, B. D. New ideas in biomaterials science - a path to engineered biomaterials. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 27, n. 7, p. 837-850, July 1993.

- 30- SCHUTZ, R. W.; THOMAS, D. E. Corrosion of titanium and titanium alloys In: AMERICAN SOCIETY FOR METALS. **Metals handbook**, 9. ed. Ohio, ASM, 1987. v. 13, p. 669-706.
- 31- SOLAR, R. J.; POLLACK, S. R.; KOROSTOFF, E. In vitro corrosion testing of titanium surgical implant alloys: an approach to understanding titanium release from implants. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 13, n. 2, p. 217-50, Mar. 1979.
- 32- SWART, K. M. et al. Short-term plasma-cleaning treatments enhance in vitro osteoblast attachment to titanium. **J. oral Implant.**, v. 18, n. 2, p. 130-7, 1992.
- 33- THOMAS, K. A.; COOK, S. D. An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. **J. Biomed. Mater. Res.**, v. 19, n. 8, p. 875-901, Oct. 1985.
- 34- VARGAS, E.; BAIER, R. E; MEYER, A. E. Reduced corrosion of cp Ti and Ti- 6Al- 4V alloy endosseous dental implants after glow discharge treatment: a preliminary report. **Int J. Oral Maxillofac. Implants**, v.7, n.3, p. 338-44, Fall 1992.
- 35- WILKE, H-J.; CLAES, L.; STEINEMEN, S. The influence of various titanium surfaces on the interface shear strength between implants and bone. In: **Clinical implant materials: advances in biomaterials**. Amsterdam, Elsevier, v. 9, p.309-14, 1990.
- 36- WILLIAMS, D. F. Titanium as a metal for implantation. Part 2: biological properties and clinical applications. **Biomed. Eng.**, v. 1, n. 5, p. 266-70, Sept. 1977.