

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA

LEONARDO CAVALCANTI BEZERRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE DE
IMPLANTES EM TITÂNIO**

RECIFE – PE
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA INTEGRADA

LEONARDO CAVALCANTI BEZERRA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE DE
IMPLANTES EM TITÂNIO**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia com área de concentração em Clínica integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia,
Orientadora: Prof. Dra. Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho

RECIFE –PE
2013

S237a Santos, Leonardo Cavalcanti Bezerra dos.
Avaliação do processo de tratamento de superfície de implantes em titânio / Leonardo Cavalcanti Bezerra dos Santos. – Recife: O autor, 2013.
34f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Pós-graduação em Odontologia, 2013.
Inclui bibliografia e anexos.

1. Osseointegração. 2. Implantes Dentários. 3. Materiais Biocompatíveis. I. Carvalho, Alessandra de Albuquerque Tavares (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2014-001)

ANEXO

ATA DA DÉCIMA TERCEIRA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

ATA DA DÉCIMA TERCEIRA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

Às dez horas do dia 26 do mês de junho do ano de dois mil e treze, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública, a Comissão Examinadora para avaliar o Trabalho do Doutorando LEONARDO CAVALCANTI BEZERRA DOS SANTOS, candidato ao Grau de Doutor em Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada, os membros da Banca Examinadora, composta pelos professores: Prof. Dr. JAIR CARNEIRO LEÃO da UFPE, atuando como presidente, Prof. Dr. BORKO STOSIC da UFRPE, como primeiro Examinador, Prof. Dr. SEVERINO ALVES JUNIOR, da UFPE, como segundo Examinador, Prof. Dr. LUIZ ALCINO MONTEIRO GUEIROS da UFPE como terceiro Examinador, Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS da UFPE, como quarto Examinador. A sessão foi aberta pela Profa.Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO, vice-Coordenadora do Programa de Pós- Graduação, fez as apresentações e passou a direção dos trabalhos ao prof. Dr. JAIR CARNEIRO LEÃO, que compôs a Banca Examinadora, agradeceu a presença de todos. Iniciando convidou o Doutorando LEONARDO CAVALCANTI BEZERRA DOS SANTOS, sob a orientação da Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO, para iniciar sua apresentação, sendo comunicado que conforme consta das normas o candidato teria trinta minutos para exposição. O doutorando iniciou a apresentação do seu trabalho intitulado: “ **AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE DE IMPLANTES EM TITÂNIO**”. Concluída a apresentação, a Banca Examinadora compôs a mesa e foi dado início a arguição. Após o término das arguições os examinadores reuniram-se em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram ao candidato os seguintes conceitos: Prof. Dr. BORKO STOSIC, (**APROVADO**), Prof. Dr. SEVERINO ALVES JUNIOR, (**APROVADO**), Prof. Dr. LUIZ ALCINO MONTEIRO GUEIROS, (**APROVADO**), Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS, (**APROVADO**), Prof. Dr. JAIR CARNEIRO LEÃO, (**APROVADO**), o candidato recebeu por unanimidade o conceito (**APROVADO**) é considerado (**APROVADO**), devendo o mesmo acatar as sugestões da Banca Examinadora, face a aprovação, fica o candidato, apto a receber o Grau de Doutor em Odontologia desde que tenha cumprido as exigências estabelecidas de acordo com o Regimento Interno do Curso, cabendo a Universidade Federal de Pernambuco através de sua Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação, tomar as providências cabíveis. Nada mais havendo a tratar, a Presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar foi lavrada a presente ata que vai por mim assinada, Oziclere Sena de Araújo e pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo recém formado Doutor pela UFPE. LEONARDO CAVALCANTI BEZERRA DOS SANTOS

Recife, 26 de junho de 2013.

Prof. Dr. JAIR CARNEIRO LEÃO

Presidente

Doutorando.

Prof.Dr. BORKO STOSIC

1º Examinador

Prof. Dr. SEVERINO ALVES JUNIOR

2º Examinador

Prof. Dr. LUIZ ALCINO MONTEIRO GUEIROS

3º Examinador

Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS

4º Examinador

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa.Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA COM ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM
CLINICA INTGRADA

COLEGIADO

MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof.Dr. Arnaldo de França Caldas Junior

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof.Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Prof. Dr. Edvaldo Rodrigues de Almeida

Profa.Dra. Flavia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Prof.Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Prof.Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual

Prof.Dr. Paulo Sávio Angeiras Goes

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Profa.Dra. Silvia Regina Jamelli

Prof.Dra. Simone Guimaraes Farias Gomes

Prof.Dr. Tibério César Uchoa Matheus

MEMBRO COLABORADOR

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

Dedico esta e demais conquistas, Em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Aos meus Pais Damião e Elvira (*in memorian*) meus irmãos, em especial Lívio (*in memorian*) meus primos Petrônio e Gilson Bezerra dos Santos que sempre me guiaram nos estudos e no respeito aos seres Humanos.

Aos meus filhos Luciane, Felipe, Gabriel e Eduardo, que com suas energias, ajudaram-me a transformar o amor incondicional em força para vencer os obstáculos do dia a dia.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando a beira mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante dos meus olhos” (Isaac Newton)

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho, pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta Tese.

Ao Prof. Dr. Borko Stosic e sua esposa Profa. Dra. Tatijana Stosic, Físicos e Coordenadores do Departamento de Estatística e Informática da UFRPE. Pelos ensinamentos dos princípios fundamentais da natureza e delinearão este trabalho.

Ao Amigo Biólogo Sergio Santos do Departamento de Física da UFPE, cuja colaboração foi imprescindível para conclusão desses estudos.

Ao Professor Dr. Severino Alves Junior Coordenador do Laboratório de Terras raras do Departamento de Química da UFPE, Pela dedicação e orientação do modelo experimental.

Rodrigo Viana e Alice Macedo alunos do Doutorado em Química, da UFPE pela colaboração nesses estudos.

AO Prof.Dr. Breno de Albuquerque Mello pelas orientações iniciais deste trabalho e pela minha formação básica de Materiais Dentários

Prof. Dr.Thiago Rolin do Departamento de Engenharia Mecânica pela gentileza e orientação nos processos de usinagem

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Farmacêuticas em especial ao Professor Dr. Luiz Alberto Lira Soares e alunos do Mestrado Marco Aurélio Moraes Galvão e Magda Rhayanny Assunção Ferreira

Aos colegas e funcionários dos Departamentos que compõem o Curso de Odontologia da UFPE.

RESUMO

Os dados disponíveis de estudos com animais e em seres humanos sugerem que a topografia da superfície melhorada está associada ao aumento da biocompatibilidade e do contato osso-implante, ocasionando um maior intertravamento, e dessa forma contribuindo para uma obtenção de uma osseointegração mais rápida e duradoura. Com objetivo de comparar os diferentes métodos de tratamento de superfície dos implantes, no trabalho atual foi avaliada a dimensão fractal dos cristais formados ao longo da imersão no simulador de fluídos corpóreos (SBF) dos implantes de titânio, previamente sujeitos às diferentes combinações de tratamento de superfície com: i) jateamento, ii) ataque ácido e iii) fosfato de cálcio, representando um método de tratamento de superfície desenvolvido na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Foram confeccionados 48 discos medindo 5 mm diâmetro por 2 mm de altura no Departamento de Engenharia Mecânica, divididos em oito grupos contendo seis discos cada. Cada grupo A recebeu o tratamento completo composto por jateamento, ácido e fosfato de cálcio, o grupo B foi o controle (apenas maquinado), enquanto os outros grupos receberam tratamentos parciais, seguindo modelo experimental com análises multi fatoriais. A formação de cristais ocorreu em todos os grupos, porém, com formações cristais dos diferentes tamanhos e formas, bem como diferente distribuição espacial. As amostras com ataque ácido mostraram aumento da dimensão fractal, indicando maior preenchimento espacial das formações cristais. Por outro lado, o tamanho dos cristais formados, sua forma em termos da compacidade e nível de ramificação, e sua distribuição espacial, não podem ser vinculados aos tratamentos específicos. Estudos futuros experimentais “in vivo” são necessários para elucidar a associação entre a dimensão fractal observada no trabalho atual, e as propriedades mecânicas e biológicas dos implantes realizados com estes procedimentos diferentes.

Palavras chaves: osseointegração, implantes, biomateriais

ABSTRACT

The data available from animal and human subject studies suggest that enhancing the implant surface topography is associated with increase of biocompatibility and the bone-implant interface leading to their better interlock, and therefore contributing to more rapid and more lasting osseointegration. With the objective of comparison of different implant surface treatments, the current study was conducted to evaluate the fractal dimension of crystal structures formed during submersion in a corporal fluid simulator (CFS) of titanium implants, previously subjected to different combinations of surface treatment consisting of: i) sand blasting, ii) acid attack and iii) calcium phosphate, the combination of all three representing a surface treatment method developed at the Federal University of Pernambuco (UFPE). A total of 48 discs of diameter 5mm and heights 2mm were fabricated at the Department of Mechanical Engineering, divided in eight groups of six discs each. Group A received the full treatment composed of sand blasting, acid, and calcium phosphate, group B was control (only machined), and the other groups received partial treatments following the experimental multi factor model. Crystal formation occurred in all the groups, however with crystal formations of different size and form, as well as different spatial distribution. Samples with acid attack demonstrated higher fractal dimension, indicating a higher space filling of crystals formations. On the other hand, the size of crystals, their form in terms of compactness and ramification level, as well as their spatial distribution, could not be associated with specific treatments. Further experimental “in vivo” studies are necessary to shed light on the association between the fractal dimension observed in the current work, and the mechanical and biological properties of implants implemented using these different procedures.

Key words: osseointegration, implants, biomaterials

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 Biocompatibilidade	12
2.2 Estrutura óssea	12
2.3 Titânio e a hidroxiapatita..	12
2.4 Fractais	15
3. MATERIAL E MÉTODO.....	16
3.1 Modelo experimental	16
3.2 Preparos dos corpos de Provas.....	16
3.3 Usinagem	16
3.4 Limpeza das amostras.....	16
3.5 Divisão dos grupos.....	16
3.6 Tratamentos das superfícies.....	17
3.6.1 Jateamento com óxido de Alumínio.....	17
3.6.2 Ataque ácido	17
3.6.3 Fosfato de Cálcio.....	17
3.7 Preparação do simulador de Fluídos Corpóreos (SBF)	17
3.8 Métodos de Avaliação	18
3.8.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	18
3.8.2 Dimensão Fractal	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24
APÊNDICE - Artigo submetido á publicação na revista.....	27

1 INTRODUÇÃO

A osseointegração representa um fator fundamental para o sucesso de implantes dentários, tendo como base o estabelecimento da estabilidade mecânica primária e fixação biológica posterior. Ela poderá ser influenciada por vários fatores como arquitetura óssea original e sua densidade, o desenho do implante e o tratamento de superfície. (ORSINI, *et al.*, 2012).

O processo de tratamento de superfície é realizado após a usinagem, depois de remover resíduos como óleo e outros contaminantes. As superfícies com capacidade osteoindutora, preparadas com um processo que vai além de uma simples limpeza, são comumente chamadas de ativas. Os dados disponíveis de estudos com animais e em seres humanos sugerem que a topografia da superfície melhorada está associada ao aumento da biocompatibilidade e do contato osso-implante, ocasionando um maior intertravamento com o osso, e dessa forma contribuindo para uma obtenção de uma integração mais rápida e duradoura.

Vários métodos para modificar a topografia das superfícies dos implantes já foram introduzidos, como revestimento com hidroxiapatita que usa o processo conhecido como Titânio Plasma spray (TPS), abrasões com jateamento com óxido de titânio ou óxido de alumínio, pulverização catódica com fosfato de Cálcio, anodização além do Laser Nd-Yag segundo Brånemark *et al.* (2011) e diferentes métodos químicos e biológicos como a adição de peptídeos (KÄMMERER *et al.*, 2012).

O ataque ácido foi citado por vários autores como mecanismo útil para promover micro ranhuras que aumentariam a área de contato permitindo deposição da matriz óssea secretada pelos osteoblastos, e posterior calcificação. Efeito sobre a densidade óssea foi observado em estudos com diferentes superfícies, quando peptídeos foram adicionados (HAMLET *et al.*, 2012). Os ácidos mais utilizados são clorídrico, sulfúrico, fosfórico e o fluorídrico, onde dependendo da composição, tempo de contato e temperatura, os resultados poderão ser diferentes. O tratamento com ácidos na superfície de titânio em estudos com cultura de células confirmou presença de titânia anastase e maior proliferação celular (ZHANG *et al.* 2010). O efeito da temperatura na formação de cristais foi maior quando o titânio foi submetido a tratamento térmico entre 400 e a 600° C (SULTANA *et al.*, 2009).

Os implantes são avaliados macroscopicamente quanto a seu desenho, enquanto para a caracterização da topografia usa-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) a níveis micrométricos e sub micrométricos (PERROTTI *et al.*, 2011; CARNEIRO-CAMPOS *et al.*, 2010), e para a caracterização da composição atômica usam-se Raios X (EDS) e a cristalografia (PARK *et al.*, 2007; WENNERBERG *et al.*, 2009; NOVAES *et al.*, 2010; GAO *et al.*, 2009).

Pelo menos cinco efeitos poderão ser atribuídos à formação das rugosidades: i) o aumento da superfície junto ao osso adjacente, ii) melhoria da fixação celular ao titânio, iii) aumento da quantidade de osso junto ao implante, iv) aumento da interação biomecânica entre o osso e o implante, e v) processos inflamatórios Peri implantares quando a rugosidade apresenta-se na área trans mucosa (PERROTTI *et al.*, 2011). Porém, ainda não existe consenso geral tanto na literatura científica, quanto na prática, sobre quais tratamentos de superfície de implantes resultariam em melhor e mais rápida osseointegração, e quais as melhores propriedades dos implantes em relação destes efeitos individuais. Para contribuir para o melhor entendimento desta questão, o objetivo deste estudo foi analisar “*in vitro*” como o tratamento da superfície no processo de fabricação de implantes afetaria o processo de formação de cristais após imersão no simulador de fluídos corpóreos (SBF). Implantes de titânio foram sujeitos às diferentes combinações de tratamento de superfície com i) jateamento, ii) ataque ácido e iii) fosfato de cálcio, e depois de imersão no SBF por 30 dias, as imagens da superfície obtidas por microscopia eletrônica foram sujeitas a análise fractal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Osseointegração é a união estrutural e funcional entre o implante e o tecido ósseo quando submetido a uma carga funcional (BRANEMARCK *et al.*, 1977). Vários fatores poderão interferir na forma e no tempo dessa integração.

2.1 Biocompatibilidade

Os materiais utilizados para fabricação de implantes devem ter uma boa resistência mecânica, elevada estabilidade química, excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade. O titânio é usado extensivamente nos ossos como sistemas de ancoragem, implantes dentários e ortopédicos, bem como aplicações de osteossíntese (MARQUES, 2007).

Nos implantes a cicatrização óssea sem a presença de fibroses é desejável. Fatores relacionados à técnica cirúrgica, desenho do implante com o seu respectivo tratamento de superfície e fatores ligados ao paciente, são variáveis que poderão influenciar na sua integração.

2.2 Estrutura óssea

A densidade óssea é um fator importante na longevidade dos implantes independente da região na arcada dentária, baseado em características macroscópicas da cortical e do trabeculado ósseo (Misch, 1998) classificou em cinco tipos de osso:

- D1: Osso cortical denso ; (> 1250 UH)
- D2: Apresenta cortical denso e osso trabeculado grosso; (850 a 1250 UH)
- D3: Cortical óssea fina e trabeculado fino; (350 a 850 UH)
- D4: Osso trabecular fino; (150 a 350 UH)
- D5: Osso não-mineralizado, imaturo; (< 150 UH)

onde UH são unidades da escala de Hounsfield (com valores -1000 para ar, 0 para água, e 3000 para dentes).

2.3 Titânio e a hidroxiapatita

Verick (2003) verificou o método de biomimetização de superfície de titânio comercialmente puro (Ti-cp), tratado com hidróxido de sódio, e colocado no SBF super saturado e observou após 24 horas alguns tipos de apatitas precipitadas sobre o substrato,

juntamente com a fase cristalina da hidroxiapatita, e comparou com o difratograma de uma mandíbula humana, onde observou-se a semelhança dos picos. Concluiu que no processo de nucleação lento a fase majoritária encontrada foi a hidroxiapatita. As outras fases presentes apareceram em pequenas quantidades, sendo a próxima fase da maior presença fosfato octacálcico.

Titânio comercialmente puro e suas ligas, como Ti-6Al-4V, são usadas em cirurgias ortopédicas. O módulo de elasticidade do titânio e da liga Ti6Al4V, variaria entre 100 e 120GPa e do osso entre 10 e 30GPa. A diferença do módulo de elasticidade da prótese e do osso seria desfavorável para o remodelamento ósseo. Para resolver este problema e melhorar as propriedades mecânicas e biológicas, novas ligas de titânio foram desenvolvidas para aplicações biomédicas. O método normal para se conseguir um melhor desempenho das ligas de titânio quanto às propriedades mecânicas e biológicas seria modificar sua composição. Alguns elementos como Nb,Ta, Mo e Zr , Fe, Cr e Sn, usualmente adicionados nas ligas de titânio para formar completa ou parcialmente a estrutura, que possuem baixo módulo de elasticidade e contribuem para diminuir a diferença entre o módulo de elasticidade da liga e do osso. Além disso, certos elementos de liga como Cu, Co, Ni e Si são utilizados para aumentar a resistência mecânica das ligas. Nos estudos comparativos com quatro superfícies tratadas com ácidos, fluoretos e apenas usinada, as anodizadas mostraram melhores resultados de deposição de íons (MARQUES, 2007).

A Hidroxiapatita sintetizada é um dos materiais mais atrativos para uso como biomaterial, devido a sua similaridade composicional e biológica com a fase inorgânica do osso humano. A estrutura da HA permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com facilidade, as quais poderão alterar a cristalinidade, a morfologia e os parâmetros de rede. A estabilidade, a bioatividade e a biocompatibilidade do material obtido Tais características positivas podem ser explicadas pela natureza química, por serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica. Uma forma conveniente de classificar os vários fosfatos de cálcio é pela sua razão molar Ca/P que pode variar de 0,5 a 2,0. A solubilidade é uma das mais importantes propriedades dos compostos de fosfato de cálcio. Esta biocompatibilidade favorece o crescimento ósseo para os locais em que a HA se encontra. Estabelecendo ligações de natureza química entre ela e o tecido ósseo (bioativo), permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, as quais não a distinguem da superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial. (GOUVEIA, 2008)

O tratamento térmico da superfície pode induzir aumento da nucleação dos cristais de hidroxiapatita, como mostrado pelo Ling e colaboradores (GAO *et al* 2009). As superfícies tratadas com ataque ácido e anodização foram submetidas a tratamento térmico a 450° C por 6 horas. Foram observados cristais de anatase medindo em torno de 20 nm e em seguida as amostras com e sem tratamento térmico, foram colocadas em 1.5 SBF por 7 dias, e avaliados em termos de nucleação dos cristais.

Superfície tratada por laser também pode apresentar melhor fixação da interface osso-implante, como mostrado (BRÅNEMARK *et al.*, 2011) a nível micro e nano escala em estudos em tibia de coelho, com o objetivo de avaliar a resposta biomecânica e histológica de implantes de titânio tratados por laser, em comparação com os implantes apenas usinados. Verificaram que após 8 semanas tiveram um aumento de 250% no torque de remoção para superfícies tratadas com laser em relação as apenas maquinadas. Concluíram que existiu uma melhor fixação da interface osso-implante, promovida por alterações em micro e nano-escala da topografia da superfície do implante.

Em outro recente experimento “*in vivo*” (ORSINI *et al.*, 2012) a superfície tratada com jateamento e ataque ácido (SLA) apresentou maior osteocondutividade quando comparada com a superfície não tratada, verificando que houve maior deposição de novo osso na superfície de titânio.

Implantes revestidos com Hidroxiapatita (HA) reagem de uma maneira direta com o tecido ósseo em cinco fases distintas: i) com a dissolução de HA, ii) a precipitação de apatita, iii) trocas iônicas acompanhada por absorção e incorporação de moléculas biológicas, iv) a ligação de células, proliferação e diferenciação em osteoblastos, e v) a formação da matriz extra celular e mineralização. Para que esses efeitos em cascata ocorram, a dissolução do revestimento de HA representa um passo fundamental. Esta dissolução é citada como um requisito importante para induzir a precipitação da hidroxiapatita sobre a superfície do implante (TAPASH *et al.* 2011). O tratamento químico dos biomateriais poderá apresentar alto impacto na ativação plaquetária. Mais especificamente, o adesivo sequência peptídica célula bioativo Arg-Gli-Asp (RGD) desencadeia a ativação plaquetária mediada pelo receptor de integrina $\alpha\text{IIb}\beta 3$. Deste modo as superfícies tratadas com substâncias biomimética (peptídeo RGD imobilizado) poderiam aumentar no início ativação de plaquetas e da cicatrização óssea junto ao implante (KÄMMERER *et al.*, 2012).

2.4 Fractais

O termo fractal foi introduzido por Benoit Mandelbrot (MANDELBROT, 1983) para descrever geometria dos sistemas naturais formados pelos processos estocásticos longe do equilíbrio. Como exemplos desses sistemas podem-se citar as árvores ramificadas, linhas costeiras, nuvens, polímeros, estruturas cardiopulmonares (rede arterial, árvore traqueobronquial), etc. (MANDELBROT, 1983; BASSINGTHWAIGHTE *et al.*, 1994). A diferença entre a geometria fractal e a geometria euclidiana é que fractais possuem dimensão não inteira (fracionária) e propriedade de auto-similaridade (partes do objeto se assemelham ao objeto como todo). Os exemplos citados representam fractais estocásticos e possuem a propriedade de auto-similaridade em sentido estatístico dentro de um intervalo de escala, onde o limite inferior representa a dimensão das componentes elementares (e.g. partículas) do sistema, e o limite superior representa a dimensão linear do sistema. Durante ultimas décadas o conceito fractal foi amplamente utilizado para descrever a complexidade dos sistemas fisiológicos, tanto na análise das imagens medicas, quanto na análise dos sinais fisiológicos, e mostrou se eficiente em diferenciação entre os casos saudáveis e patológicos. Os exemplos incluem osteoporoses (ZAIA *et al.*, 2006), enfisema pulmonar (CHUNG e HUANG, 2000), doenças degenerativas neurológicas (WU *et al.*, 2010), alterações em vascularização da retina (STOSIC, 2006), doenças cardiovasculares (IVANOV *et al.*, 1999), entre outros.

O potencial da análise fractal também foi explorado na odontologia (SÁNCHEZ e UZCÁTEGUI, 2011; UPDIKE e NOWZARI, 2008). Nos últimos anos a dimensão fractal foi utilizada para descrever a rugosidade da superfície do implante, sendo útil para quantificação das diferenças entre as superfícies dos implantes obtidas utilizando diversos tratamentos (PEROTTI *et al.*, 2011; LEZZI *et al.*, 2012; EHRENFEST *et al.*, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi planejado uma análise multifatorial, tendo como objetivo analisar diferentes tratamentos da superfície de implante, em relação à deposição de Hidroxiapatita, que é considerado um fator relevante pela literatura especializada.

3.1 Modelo experimental

Foi desenvolvido um modelo “in vitro” utilizando simulador de fluídos corpóreos onde as amostras foram submergidas por 30 dias e em seguida analisadas por microscopia eletrônica.

3.2 Preparos dos Corpos de Provas

O titânio foi adquirido através da Empresa Tinbrazil, barras medindo 6 mm de diâmetro por 1 metro de comprimento, com laudo de certificação emitido pela importadora acima. Como sendo titânio grau II, Ti-6Al-4V conforme a ASTM usados na fabricação de implantes dentários.

3.3 Usinagem

Foi utilizado torno computadorizado marca ROMI, com ferramentas de corte fabricadas em cerâmica, no Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Pernambuco. A vareta foi reduzida em 86 discos medindo 5 mm de diâmetro e 2 mm de altura. As amostras foram levadas para tratamento de superfície no laboratório de Farmacognosia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE.

3.4 Limpeza das amostras

As amostras foram lavadas com hexano por 10 minutos em ultrassom. O solvente foi desprezado em recipiente apropriado. As amostras foram colocadas em um Becker de vidro, colocados em estufa a 80° C por 10 minutos.

3.5 Divisão dos grupos

Os grupos foram divididos seguindo o Planejamento Fatorial de 2^3 são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Organização dos grupos:

	Jateamento	Ataque ácido	Fosfato de cálcio
Grupo A	Sim	Sim	Sim
Grupo B	Não	Não	Não
Grupo C	Sim	Não	Sim
Grupo D	Sim	Sim	Não
Grupo E	Não	Não	Sim
Grupo F	Não	Sim	Não
Grupo G	Não	Sim	Sim
Grupo H	Sim	Não	Não

3.6 Tratamentos das superfícies

3.6.1 Jateamento com Óxido de Alumínio

Foi realizado utilizando óxido de alumínio com granulação média à 80 libras, com o jato direcionado a superfícies dos discos por 10 segundos em cada lado.

3.6.2 Ataque ácido

A segunda etapa foi o ataque ácido, cuja composição foi: ácido clorídrico 59 % + 1 % de ácido fluorídrico e 40 % de água destilada, acondicionado em recipiente de polietileno até momento do uso. Em um Becker de 50 ml, foram colocados 20 ml do ácido, por um (01) minuto.

3.6.3 Fosfato de Cálcio

Foi desenvolvida uma pasta contendo proporção de 1:3 de água e fosfato de cálcio terciário. No final da segunda etapa o excesso de ácido é desprezado e a pasta é adicionada ao Becker onde permanece no ultrassom, por 20 minutos. Após a lavagem o material foi colocado em recipiente de vidro, seco em estufa a 40 C por 1 hora, armazenados em tubos tipo Ependorf e encaminhados para as análises.

3.7 Preparação do Simulador de Fluidos Corpóreos (SBF)

Foi preparado conforme método de Kokubo e Takadama (2006), no laboratório de Farmacognosia Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE.

Tabela 2 - Composição química do SBF proposta por Kokubo e Takadama (2006).

Reagentes	Quantidade	Pureza
NaCl	8,055 g	99,5
NaHCO₃	0,355 g	99,5
Kcl	0,225 g	99,5
K ₂ PO ₄ 3H ₂ O	0,231 g	99,0
MgCl ₂ 6H ₂ O	0,311 g	98,0
1,0 M- HCl	39 ml	-----
CaCl ₂	0,292 g	95,0
NaSO ₄	0,072 g	99,0
Tris*	6,118 g	99,0
1,0 M HCl	0-5ml	-----

*Hidroximetil aminometano

3.8 Métodos de Avaliação

3.8.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para análise da superfície das amostras foi utilizada microscopia eletrônica de varredura (MEV), JEOL 5600 LV, (Japan), voltagem de 10 kV, do Departamento de Física da UFPE.

Foram analisadas em arquivos digitais, três campos visuais diferentes para cada disco. Para cada grupo foram avaliados 3 discos, totalizando nove áreas por grupo. Em cada campo foram obtidas imagens de 200x, 1000x e 15000x, para análises comparativas.

3.8.2 Dimensão Fractal

Existem vários métodos para o cálculo de dimensão fractal, como contagem de caixas (“box counting”), método massa-raio (“mass-radius method”), e método de correlação densidade-densidade (“density-density correlation function method”). O método contagem de caixas é mais utilizado, e consiste em cobrir a estrutura com uma grade de caixas com arestas de tamanho l , e contar o número $N(l)$ de caixas que contém pelo menos uma partícula do sistema. Reduz-se sucessivamente o tamanho das caixas e mede-se, para cada tamanho, o número de caixas $N(l)$ nos quais existe pelo menos um ponto do sistema. A dimensão fractal é definida pela equação $N(l) \sim l^{-D_f}$

de onde segue $\log N(l) \sim D_f \log(1/l)$

Assim, traça-se um gráfico do logaritmo de $N(l)$ em função do logaritmo de $1/l$ e determina-se a dimensão fractal pela inclinação do gráfico (BASSINGTHWAIGHTHE *et al.*, 1994)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 mostra os cristais formados depois submersão dos implantes em Simulador de Fluídos Corpóreos (SBF) por 30 dias, obtidas com auxílio da Microscopia Eletrônica de Varredura. Observam-se as formas diferentes dos cristais (cristais grandes ou pequenos, distribuídos uniformemente ou agrupados, simples ou ramificados) para diferentes tratamentos da superfície dos implantes. A forma e a distribuição espacial dos cristais formados por SBF refletem o processo de osseointegração, e indicam que uma análise das propriedades geométricas destas estruturas para vários tipos de tratamento da superfície dos implantes poderia providenciar informações importantes para avaliação da qualidade do implante.

A dimensão fractal das imagens dos cristais formados por SBF nas superfícies dos implantes foi calculada para diferentes tratamentos da superfície. As imagens da Figura 3 foram binarizadas como apresentado na Figura 4, e em seguida a dimensão fractal foi calculada utilizando o pacote FracLac do software gratuito ImageJ, com método “Box counting”. Os resultados destes cálculos são apresentados na Tabela 3.

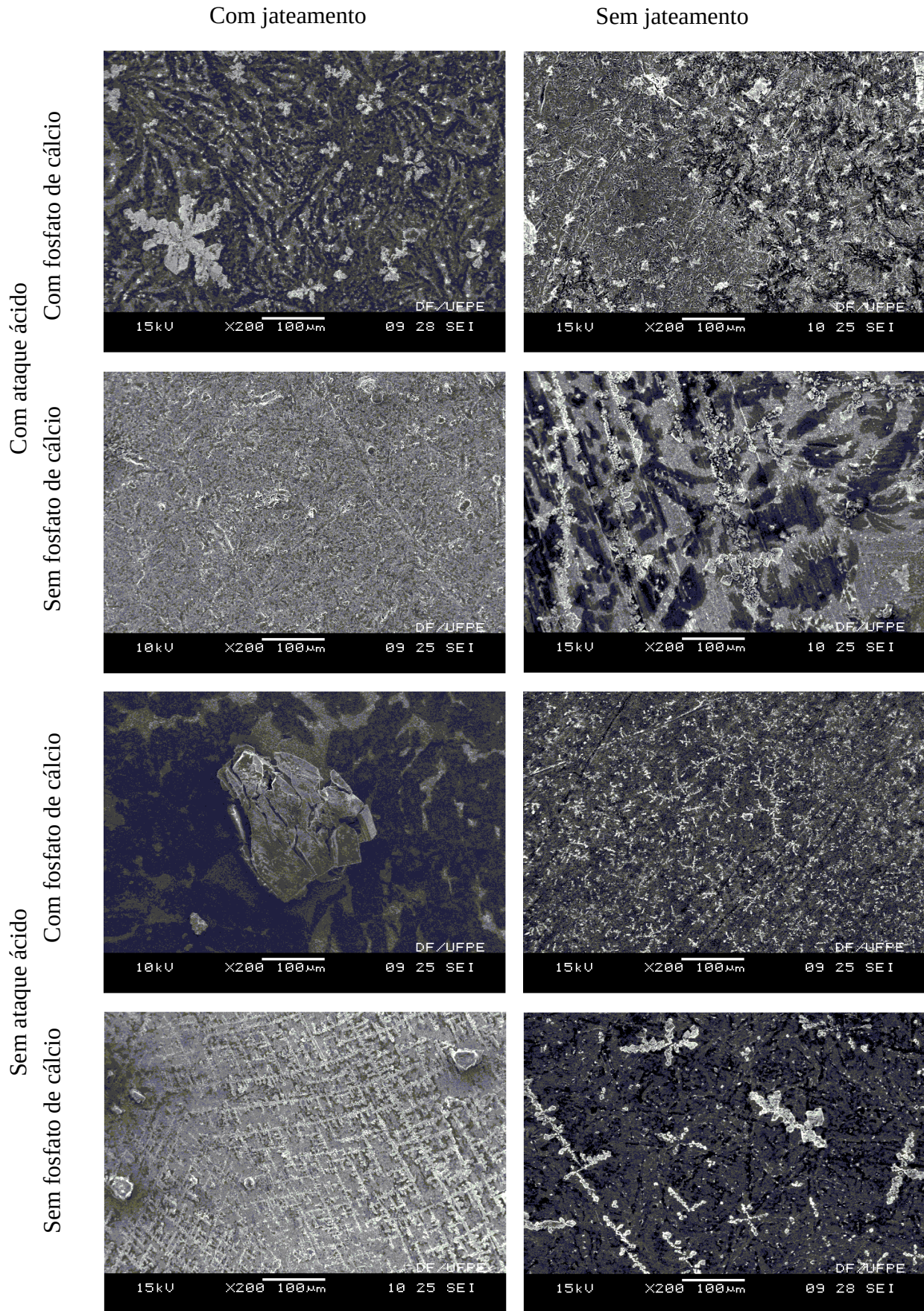


Figura 3. Imagens das formações cristalinas nas superfícies das amostras A-H.

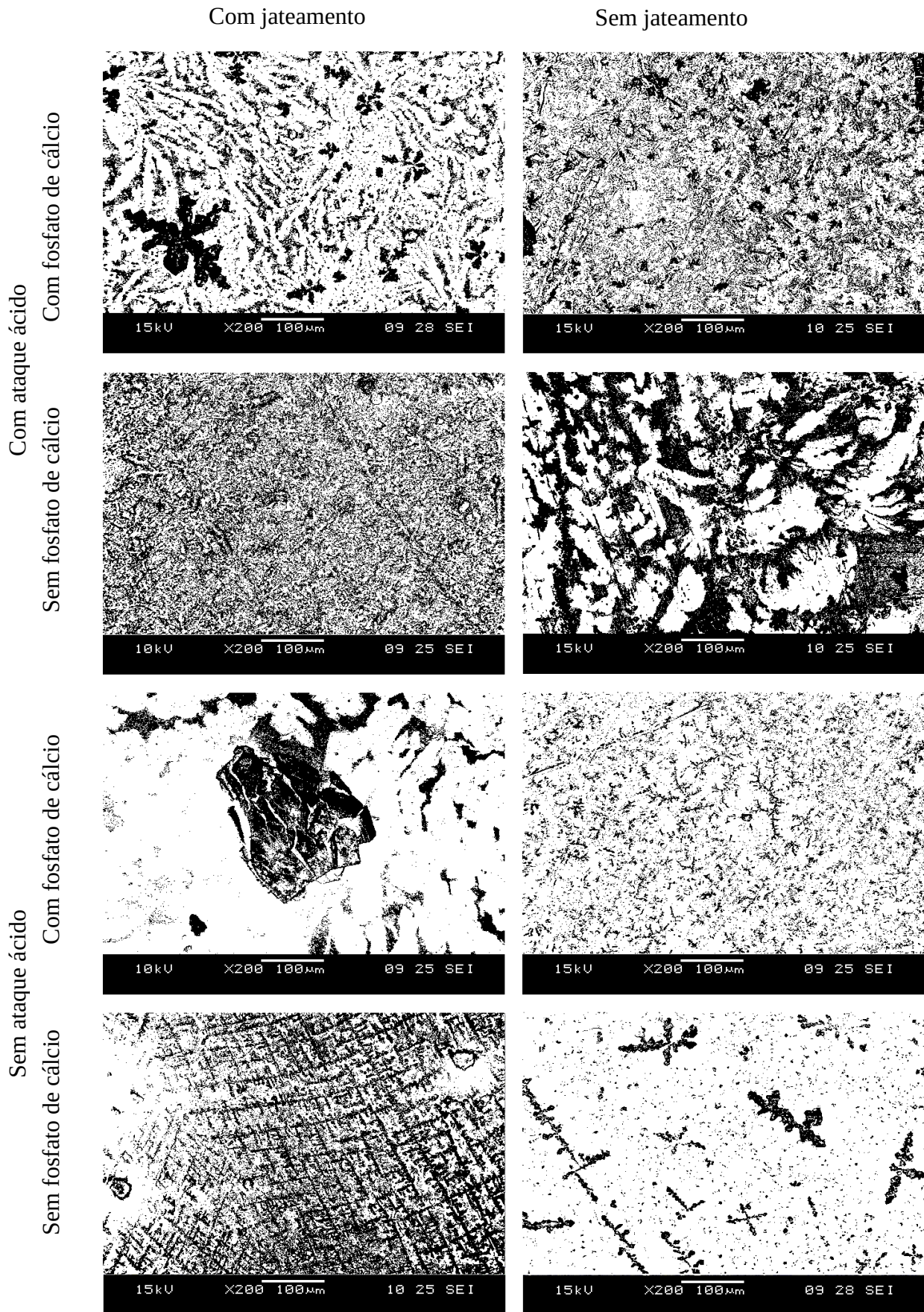


Figura 4. Imagens binarizadas das formações cristalinas nas superfícies das amostras A-H.

Tabela 3. Dimensão Fractal (desvio padrão) das imagens binarizadas apresentadas na Fig. 4

	Com ácido		Sem ácido	
	Com fosfato de cálcio	Sem fosfato de cálcio	Com fosfato de cálcio	Sem fosfato de cálcio
Com jateamento	1.859 (0.014)	1.930 (0.015)	1.693 (0.011)	1.903 (0.014)
Sem jateamento	1.920 (0.015)	1.845 (0.013)	1.881 (0.014)	1.687 (0.012)

Na Tabela 3 observa-se a maior dimensão fractal dos cristais formados na superfície dos implantes tratados com ácido do que em tratamentos sem ácido, indicando maior preenchimento espacial dos cristais. Este resultado pode ser explicado pelo fato que o tratamento com ácido produz uma superfície de maior rugosidade, aumentando a área de contato, que pode causar uma deposição maior, e mais uniforme. As superfícies apenas maquinadas que não receberam nenhum tratamento também apresentaram as formações de cristais após imersão no SBF por 30 dias, porém em quantidades aparentemente menores, resultando em menor dimensão fractal (1.687) do que para as superfícies com tratamentos diferentes.

5 CONCLUSÃO

A dimensão fractal das imagens dos implantes de titânio, submetidos às diferentes combinações dos tratamentos da superfície e submersos em Simulador de Fluídos Corpóreos por 30 dias, varia entre $D_f=1.68$ até $D_f=1.93$, refletindo a complexidade da formação cristal, caracterizada por pequenos ou grandes cristais, depositados localmente ou de forma uniforme, com geometria simples ou dendritica, dependendo da combinação dos tratamentos. A menor dimensão fractal de $D_f=1.68$ foi obtida para amostras sem tratamento nenhum, enquanto a maior dimensão fractal de $D_f=1.93$ foi obtida para amostras com jateamento e ataque ácido (sem fosfato de cálcio). Ataque ácido foi identificado como único dos tratamentos que leva sistematicamente ao aumento da dimensão cristal, enquanto o tamanho e a distribuição espacial dos cristais formados demonstram grande diversidade, sem aparente dependência em nenhum dos tratamentos. Estudos sistemáticos “in vivo” são necessários para estabelecer quais combinações destes tratamentos de superfície geram implantes mais biologicamente estáveis e mecanicamente robustos, e como estas propriedades podem ser associadas com a dimensão fractal dos cristais depositados.

REFERÊNCIAS

BARROS NETO, B.; SCHARMINIO, I. E.; BRUNS, R. E. **Como Fazer experimentos, Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na Indústria**, 2 ed- Campinas-SP, Editora Unicamp, 2003.

BASSINTHWAITGHT, J.B.; LIEBOVITCH, L.S.; BRUCE, J.W. **Fractal physiology**. New York: Oxford, American Physiological Society, 1994.

BRÅNEMARK, R. *et al.* Bone response to laser-induced micro- and nano-size titanium surface features. **Nanomedicine**, v. 7, n. 2, p. 220-227, 2011.

BRÅNEMARK, P.I. *et al.* Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. Experience from a 10- year period. **Scand J Plast Reconst Surg Suppl**, v. 16, p. 1-132, 1977.

CARNEIRO-CAMPOS L.E *et al.* The effect of titanium topography features on mesenchymal human stromal cells' adhesion. **Clin Oral Implants Res**, v. 21, n. 2, p. 251-254, 2010.

CHUNG, H.-W.; HUANG, Y.-H. Fractal Analysis of Nuclear Medicine Images for the Diagnosis of Pulmonary Emphysema. **American Journal of Roentgenology**, v. 174, p. 1055-1059, 2000.

EHRENFEST, D. Fractal patterns applied to implant surface: definitions and perspectives. **J. Oral Implantol**, v. 37, p. 506-509, 2011.

GAO, L. *et al.* Micro/Nanostructural Porous Surface on Titanium and Bioactivity. **J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater**, v. 89B, n. 2, p. 335–341, 2009.

GOUVEIA, D.S. **Obtenção de pós nanométricos de hidroxiapatita sintetizados com magnésio utilizando ultra-som**. Tese, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, S. Paulo, 2008.

HAMLET, S. *et al.* The effect of hydrophilic titanium surface modification on macrophage inflammatory cytokine gene expression. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, n. 5, p. 584-90, 2012.

IVANOV, P.CH *et al.* Multifractality in Human Heartbeat Dynamics, **Nature**, v. 399, p. 461-465, 1999.

KÄMMERER, P.W. *et al.* Early implant healing: promotion of platelet activation and cytokine release by topographical, chemical and biomimetical titanium surface modifications in vitro. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, n.4, p. 504-10, 2012.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **BIOMATERIALS**, v. 27, n. 15, p. 2907-2915, 2006.

LEZZI, G. *et al.* Implant surface topographies analyzed using fractal dimension. **Implant Dent**, v. 20, p. 131-138, 2012.

MANDELBROT, B.B. How long is the coast of Britain? Statistical self-similarity and fractional dimension. **Science**, 156, 1967, 636-638.

MANDELBROT, B.B. **The Fractal Geometry of Nature**, New York, 1983.

MARQUES, C. **Tratamento de superfícies de implantes de titânio**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia (IME) 2007.

MISCH, C.E. Misch bone density classification. In: Misch, C.E., ed. **Contemporary Implant Density**, 113-114, St Luis: Mosby Inc., 2009.

NOVAES, A.B.JR. *et al.* Influence of Implant Surfaces on Osseointegration. **Braz Dent J**, v. 21, n. 6, p. 471-481, 2010.

ORSINI, E. *et al.* Early Healing Events around Titanium Implant Devices with Different Surface Microtopography: A Pilot Study in an In Vivo Rabbit Model. **The Scientific World Journal**, 349042, 2012.

PARK, S.; *et al.* The Effect of Fluoride Treatment on Titanium Treated with Anodic Spark Oxidation. **Metals and Materials International**, v. 13, n. 2, p. 117-122, 2007.

PERROTTI, V. *et al.* Fractal Analysis: A Novel Method to Assess Roughness Organization of Implant Surface Topography. **International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 31, n. 6, p. 633-639, 2011.

SÁNCHEZ, I.; UZCÁTEGUI, G. Fractals in dentistry. **Journal of Dentistry**, v. 39, n. 4, p. 273-292, 2011.

STOSIC, T.; STOSIC, B. Multifractal Analysis of Human Retinal Vessels. **IEEE Transactions on Medical Imaging**, v. 25, p. 1101-1107, 2006.

SULTANA, R.; *et al.* Effects of heat treatment on the bioactivity of surface-modified titanium in calcium solution. **Biomed Mater Eng**, v. 19, n. 2, p. 193-204, 2009.

TAPASH, R.R.; NARAYANAN, R.; KIM, K.-H.: Ion implantation of titanium based biomaterials. **Progress in Materials Science**, v. 56, n. 8, p. 1137-1177, 2011.

UPDIKE, S.X.; NOWZARI, H. Fractal analysis of dental radiographs to detect periodontitis-induced trabecular changes. **J Periodontal Res**, v. 43, n. 6, p. 658-664, 2008.

WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. **Clin Oral Implants Res**, v. 20, n. 4, p. 172-84, 2009.

WU, Y.-T.; *et al.* Fractal dimension analysis for quantifying cerebellar morphological change of multiple system atrophy of the cerebellar type (MSA-C). **NeuroImage**, v. 49, n. 1, p. 539-551, 2010.

ZAIA, A. *et al.* MR imaging and osteoporosis: fractal lacunarity analysis of trabecular bone. **IEEE Trans Inf Technol Biomed**, v. 10, n. 3, p. 484-489, 2006.

ZHANG, F. *et al.* Cell response of titanium implant with a roughened surface containing titanium hydride: an in vitro study. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 68, n. 5, p. 1131-1139, 2010.

APÊNDICE

Artigo submetido à publicação na revista

Fractal measure and microscopic modeling of osseointegration

Leonardo Cavalcanti Bezerra dos Santos¹, Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho¹
Borko Stosic², Tatijana Stosic², Paulo Jose Duarte Neto²,

¹Departamento de Clínica e Odontologia Preventiva, Universidade Federal de Pernambuco,
Quarta Travessa Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brazil

²Departamento de Estatística e Informática, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil

Abstract

In this work, the process of osseointegration on titanium implant surfaces with different physicochemical treatment, subjected to a simulated corporal fluid submersion, is evaluated using the concept of fractal dimension. It is found that different treatments lead to rather different calcium phosphate crystal growth patterns, with fractal dimension ranging from $D_f=1.68$ to $D_f=1.93$. The observed crystal patterns may be explained by a general deposition- diffusion-aggregation growth mechanism, where diffusing particle sticking probability plays a fundamental role.

Key words: dental implants, osseointegration, fractal dimension

Introduction

Practical techniques enhancing implant osseointegration represent a fundamental research topic not only in dentistry, but also in other diverse areas of medicine and veterinary sciences where bone implants or bone restoration is applied [1-3]. While great advances in this direction have undoubtedly been made over the past decades, the full understanding is still lacking on the effects of different implant surface physicochemical treatments, as well as on the microscopic mechanisms of the posterior osseointegration process [4].

Fractal dimension is a novel concept that has been increasingly employed in diverse areas of knowledge for quantifying the complexity of natural phenomena, ranging from coastlines [5] and shape of volcanic ash particles [6], bronchial tree [7] and neurons [8]. Fractals are in fact commonly found in nature, being characterized by scale invariance and

self-similarity. During the last decades fractal analysis was used in studying diverse phenomena in physiology and medicine, including pulmonary emphysema [9], osteoporoses [10], retinal blood vessels [11] and heart rate [12]. The potential of fractal analysis was also explored in dentistry [13,14]. Recently, fractal dimension was used to quantify the surface roughness of dental implants and shown to be promising to differentiate between topological properties of dental implant surfaces obtained with different treatments [15,16,17].

In this work we follow up on recent studies [15-17] as to how one may employ fractal analysis to assess roughness organization of implant surface topology. Rather than concentrating on the implant surface properties subject to different physicochemical treatment processes [15], here we put the emphasis on the results of simulated body fluid submersion, representing a step forward in understanding of implant osseointegration.

Materials and Methods

Machined titanium implant samples were first subjected to different combinations of a) sand blasting with aluminum oxide, b) treatment with hydrofluoric acid and c) treatment with calcium phosphate [18], after which they were submersed in a simulated body fluid [19] for thirty days. Magnified images of these samples were then acquired through scanning electron microscopy, as shown in Fig.1, and subjected to image analysis.

As opposed to fractal analysis performed in [15], to find the fractal dimension here we only binarize the images as shown in Fig.2, without skeletonization, since we are interested in crystal formation, and it was found that skeletonization introduces artefacts (local networks of lines) not apparent in the original crystal structure. There are various methods for fractal dimension calculation, among which the box-counting method is perhaps the most widely used because of its simplicity and robustness [20]. It proceeds as follows. Cover the structure with a grid of size r and count the number of nonempty grid boxes $n(r)$. Repeat this procedure for different grid size, for fractal self-similar structures $n(r) \sim r^{-D_0}$. Box-counting dimension is defined as

$$D_f = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\log n(r)}{\log(1/r)},$$

and can be estimated as the slope of the linear regression of $\log n(r)$ versus $\log(1/r)$. We calculate fractal dimension using the box counting method, implemented in the FracLac Package of open source software ImageJ.

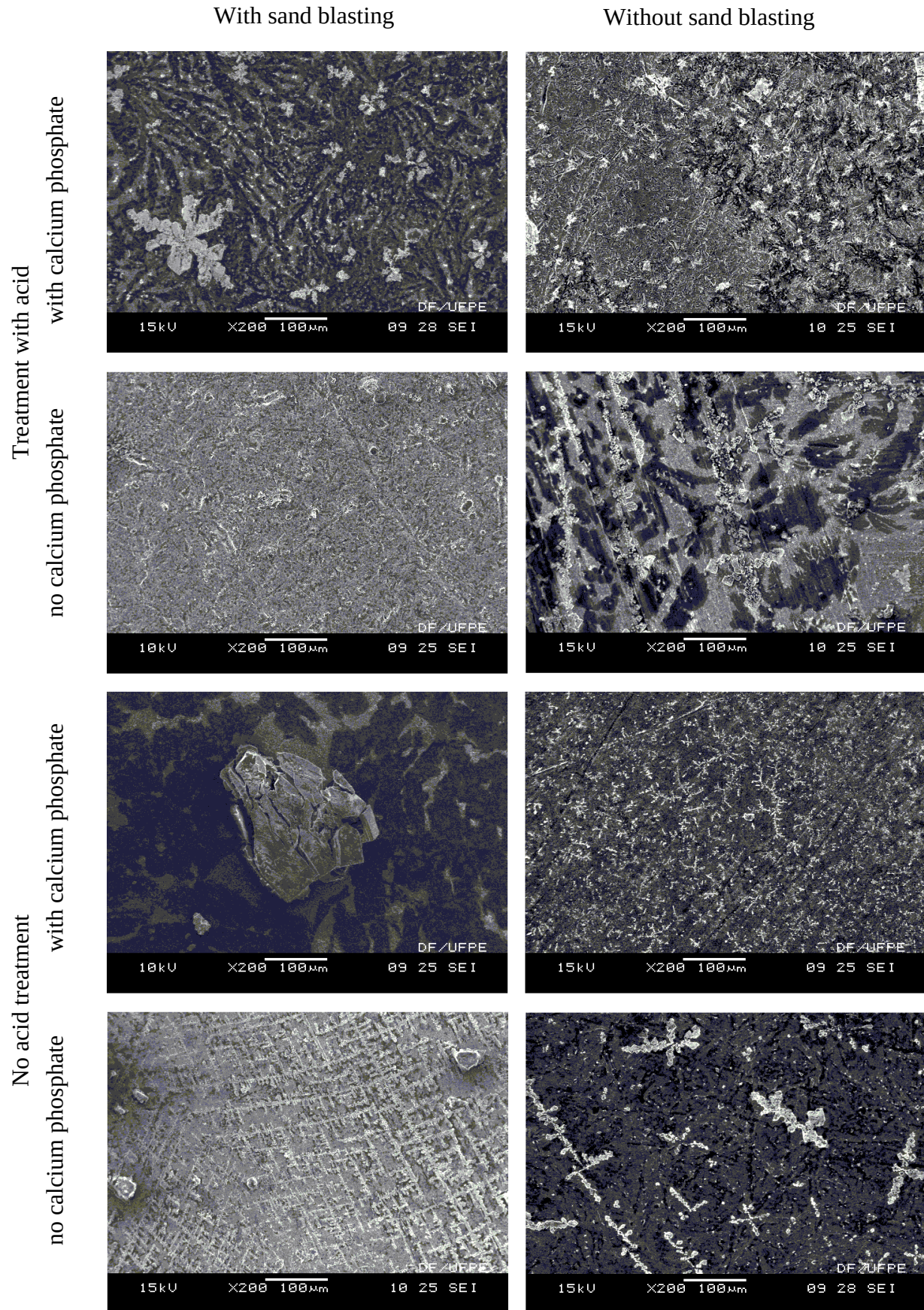


Figure 1. Electron microscope images of samples with different treatment, after submersion in simulated body fluid.

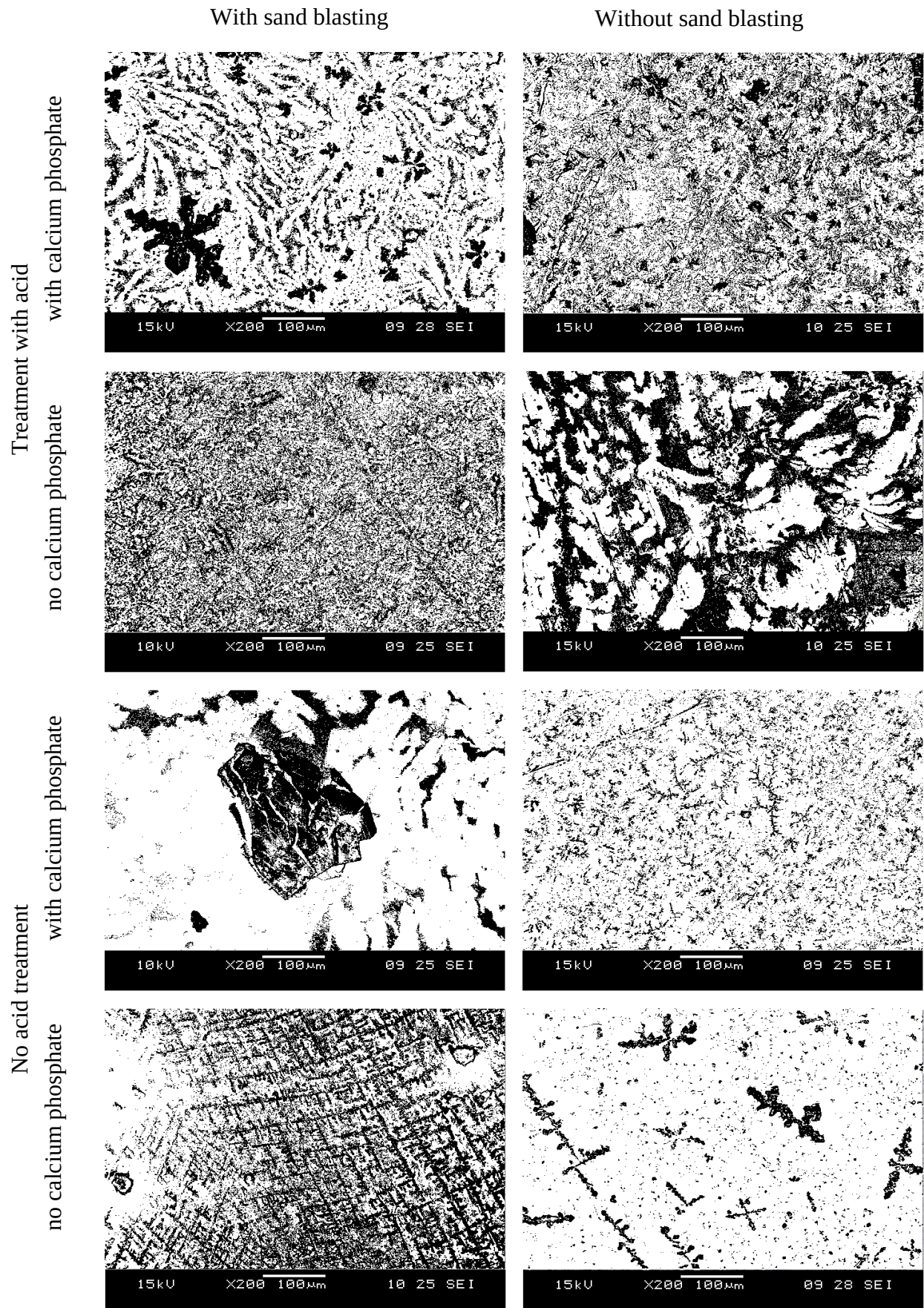


Figure 2. Same images as in Fig1, after binarization.

Results and Discussion

It is seen on Fig.1 that different combinations of implant surface treatment lead to rather different crystal pattern formation during the simulated body fluid submersion. No clear conclusions can be drawn as to the size of spatial distribution of formed crystals, corresponding to any single treatment; rather, it is the combinations of these procedures that lead to specific resulting structures. Large and small crystals, uniformly or locally deposited, of simple or dendritic shape, are found for different treatment combinations, and further *in vivo* studies are necessary to determine which of these provide more robust implants, with best mechanical properties.

In line with the previous study [15] that has motivated the current work, we calculate the fractal dimension of binarized images shown in Fig.2, with the results presented in Table 1. The obtained fractal dimension values vary between $D_f=1.68$ and $D_f=1.93$, indicating the potential of this method to quantify spatial complexity of formed crystals for different implant surface treatments. It is seen from Table 1 that, in general, the fractal dimension of implant surface after submersion in SBF tends to be greater in the cases of treatment with acid (keeping the same combination of sand blasting and calcium phosphate coating), that reflects the fact that acid etching produces micro pits on titanium surface that greatly enhance osseointegration [4]. The highest value of fractal dimension (1.93) is obtained for the implant treated by sand blasting and acid etching, indicating that the surface roughness produced by this treatment results in more uniform and more space filling crystal deposits. The fractal dimension of surfaces treated only by sand blasting, acid etching and calcium phosphate, are 1.903, 1.845 and 1.881 respectively, and they are significantly higher than the fractal dimension of untreated surface (1.687), confirming the role of implant surface chemistry and topology in the process of osseointegration. Although our results show that surface topology of treated implants has higher fractal dimension than that of untreated implants, it is still not clear which treatment or combination of treatments produces the best surfaces for osseointegration. It is also seen from Table 1 that the fractal dimension is higher for all of the treated surfaces in comparison with the surface without any treatments (with the smallest fractal dimension value), which reflects the fact that all these treatments produce surface effects that favorably influence the complexity of the final crystal structure. On the other hand, there is no clear evidence as to how these values may be associated with the quality of implants, without further *in vivo* experiments.

Table 1. Fractal dimension (standard deviation) of binarized images shown in Fig.2

	Acid treatment		No acid	
	Calcium phosphate	No calcium phosphate	Calcium phosphate	No calcium Phosphate
Sand blasted	1.859 (0.014)	1.930 (0.015)	1.693 (0.011)	1.903 (0.014)
No sand blasting	1.920 (0.015)	1.845 (0.013)	1.881 (0.014)	1.687 (0.012)

The current study suggests that a general Deposition Difusion Aggregation (DDA) model [21] may be used to describe crystal formation in the different scenarios covered in the present work. One may perceive that the molecules present in the solution deposit on the implant surface, and move along this surface until they reach other such molecules, and/or already crystallized formations, where they become incorporated into the crystal structure. The concentration of the (in the current experiment, simulated corporal) fluid determines the flux of deposition, and the mobility of the molecules (and perhaps larger molecular agglomerates) is governed by the topology (roughness) of the implant surface. It is well known [21] that the flux and mobility of aggregate particles lead to rather different deposition patterns, ranging from many uniformly distributed small DLA (Diffusion Limited Aggregation) like crystals, to large dendritic structures, and the DDA model apparently represents an excellent candidate to describe the diversity of observed crystal patterns, seen on the electron microscope images of Fig. 1.

Conclusion

We apply fractal analysis on binarized scanning electron microscopy images of the surface of titanium implants, that were first subjected to different treatment combinations of i) sand blasting, ii) acid etching and iii) exposition to calcium phosphate, and were then submersed in a simulated corporal fluid for thirty days. The obtained fractal dimension values vary between $D_f=1.68$ to $D_f=1.93$, reflecting the complexity and space filling property of the final crystal structure characterized by large and small crystals, uniformly or locally deposited, of simple or dendritic shape, that were found for different treatment combinations. Further in vivo studies are necessary to determine how these values may be associated with the quality of implants.

References

- [1] Albrektsson T, Sennerby L, Wennerberg A. State of the art of oral implants. *Periodontol* 2000 2008; 47: 15-26.
- [2] Wazen JJ, Gupta R, Ghossaini S, Spitzer J, Farrugia M, Tjellstrom A. Osseointegration timing for Baha system loading. *Laryngoscope* 2007; 117: 794-796.
- [3] Palmquist A, Jarmar T, Emanuelsson L, Brånemark R, Engqvist H, Thomsen P. Forearm bone-anchored amputationprosthesis: a case study on the osseointegration. *Acta Orthop* 2008; 79: 78-85.
- [4] Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. ***Dental Materials*** 2007; 23: 844-854.
- [5] Mandelbrot BB. *The Fractal Geometry of Nature*. New York: Freeman, 1983: 25.
- [6] Dellino P, Liotino G. The fractal and multifractal dimension of volcanic ash particles contour: a test study on the utility and volcanological relevance. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 2002; 113: 1-18.
- [7] Majumdar A, **Alencar AM, Buldyrev SV, Hantos Z, Lutchen KR, Stanley HE, Suki B.** *Relating airway diameter distributions to regular branching asymmetry in the lung.* *Phys Rev Lett* 2005; 95: 168101.
- [8] Jelinek HF, Fernandez E. Neurons and fractals: how reliable and useful are calculations of fractal dimensions? *Journal of Neuroscience Methods* 1998; 81: 9 – 18.
- [9] Chung HW, HUANG YH. Fractal Analysis of Nuclear Medicine Images for the Diagnosis of Pulmonary Emphysema. *American Journal of Roentgenology* 2000; 174: 1055-1059.
- [10] Zaia A, Eleonori R, Maponi P, Rossi R, Murri R. MR imaging and osteoporosis: fractal lacunarity analysis of trabecular bone. *IEEE Trans Inf Technol Biomed* 2006; 10: 484-489.
- [11] Stosic T, Stosic B. Multifractal Analysis of Human Retinal Vessels. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 2006; 25: 1101-1107.
- [12] Goldberger AL, Amaral LAN, Hausdorff JM, Ivanov PCh, Peng CK, Stanley HE. Fractal dynamics in physiology: Alterations with disease and aging. *PNAS* 2002; 99: 2466-2472.
- [13] Sánchez I, Uzcátegui G. Fractals in dentistry. *Journal of Dentistry* 2011; 39: 273-292.
- [14] **Updike SX, Nowzari H.** Fractal analysis of dental radiographs to detect periodontitis-induced trabecular changes. *J Periodontal Res* 2008; **43: 658-664.**
- [15] Perotti V, Aprile G, Degidi M, Piatelli A, Lezzi G. Fractal analysis: a novel method to assess roughness organization of implant surface topography. *Int J Periodontic Restorative Dent* 2011; 31: 633-639.
- [16] Ehrenfest D. Fractal patterns applied to implant surface: definitions and perspectives. *J. Oral Implantol* 2011; 37: 506-509.

- [17] Lezzi G, Aprile G, Tripodi D, Scarano A, Piatelli A, Perotti V. Implant surface topographies analyzed using fractal dimension. *Implant Dent* 2012; 20: 131-138.
- [18] Guo CY, Tang ATH, Matinlinna JP. Insights into surface treatment methods of titanium dental implants. *Journal of Adhesion Science & Technology* 2012; 26: 189–205.
- [19] Kokubo T, Takadama H, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 2006; 27: 2907-2915.
- [20] Theiller J. Estimating fractal dimension. *J Opt Soc Am* 1990; 7: 1055-1073.
- [21] P. Jensen, A.-L. Barabási, H. Larralde, S. Havlin, H. E. Stanley. Model incorporating deposition, diffusion, and aggregation in submonolayer nanostructures. *Phys. Rev. E* (1994) 50, 618–621.