



MASSON

**Ricevuto il:**

3 agosto 2009

**Accettato il:**

6 ottobre 2009

**Disponibile online:**

19 febbraio 2010

# La topografia della superficie implantare nella moderna implantologia.

## Parte II: superfici nanostrutturate e DLF

### Implant surface topography in modern implantology. Part II: nanostructured and DLF surfaces

F. Mangano<sup>a</sup>, C. Mangano<sup>b,\*</sup>, A. Macchi<sup>b</sup>, V. Perrotti<sup>a</sup>, G. Iezzi<sup>c</sup>, A. Piattelli<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Libero Professionista, Gravedona (CO)

<sup>b</sup> Cattedra di Materiali Dentari (Titolare: Prof. A. Macchi), Clinica Odontoiatrica, Università degli Studi dell'Insubria, Varese

<sup>c</sup> Cattedra di Patologia Orale (Titolare: Prof. Adriano Piattelli), Università degli Studi G. D'Annunzio, Chieti-Pescara

**Parole chiave:**

Superficie implantare

Osteointegrazione

Superfici nanostrutturate

Fusione laser

Microparticelle di titanio

**Key words:**

Implant surface

Osseointegration

Nanostructured surfaces

Laser fusion

Titanium microparticles

**Riassunto**

**Obiettivi:** Analizzare l'influenza delle superfici implantari sui processi di guarigione ossea. In particolare, nella prima parte sono state prese in esame le superfici implantari lisce e microrugose: in questa seconda parte sono esaminate le superfici nanostrutturate e la DLF (*Direct Laser Fabrication*). **Materiali e metodi:** Mediante un'ampia revisione della letteratura viene presa in esame l'influenza della nanostruttura delle superfici implantari sui processi di guarigione ossea. Recentemente, è stato infatti introdotto sul mercato un discreto numero di superfici con caratteristiche nanotopografiche ottenute con diverse tecniche produttive. Viene infine presentata una nuova metodica per la creazione di impianti dentali a partire da microparticelle di titanio fuse tramite raggio laser.

**Risultati e conclusioni:** La moderna implantologia orale si orienta sempre più verso protocolli di carico anticipato e immediato e la topografia della superficie implantare, nei suoi aspetti micro- e ultrastrutturali, rappresenta un elemento fondamentale per poter ottenere l'osteointegrazione. Le superfici nanostrutturate sembrano in grado di modificare la risposta tissutale e dimostrano una superiore adesione da parte degli osteoblasti. La tecnica DLF permette di creare un impianto dentale modulando la densità e la porosità dei diversi strati, favorendo un migliore adattamento al carico e una migliore integrazione nella stessa struttura ossea.

© 2010 Elsevier Srl. Tutti i diritti riservati.

**Abstract**

**Objectives:** To analyze the influence of implant surfaces on bone healing processes. In the first part of this article, smooth and microrough surfaces were analyzed, while in the second part nanostructured and DLF (*Direct Laser Fabrication*) surfaces are discussed.

**Materials and methods:** By an extensive literature review, the fundamental aspects of bone healing processes are taken into consideration. Recently, many implant surfaces with nanotopographical features obtained with different techniques have been marketed. A new method to produce dental implants by laser fusion of titanium microparticles is described as well.

**Results and conclusions:** Modern implant dentistry aims at early and immediate functional loading, and implant surface topography, with its micro- and ultrastructural aspects, is a key factor for achieving osseointegration. Nanostructured surfaces can modify tissue response, enhancing osteoblasts adhesion. The DLF technique allows to create a dental implant by modifying the density and porosity of different layers, thus supporting better load adaptation and bone integration.

© 2010 Elsevier Srl. All rights reserved.

**\*Autore di riferimento:**

carlo@manganocarlo.191.it

(C. Mangano)

## PUNTI CHIAVE

1. A scopo biomimetico, le moderne superfici implantari tendono a riprodurre le caratteristiche strutturali della matrice residua e per questo devono essere nanostrutturate. Un materiale può definirsi *nanostrutturato* se possiede costituenti di dimensioni inferiori a 100nm.
2. Le superfici nanostrutturate sembrano in grado di modificare la risposta tissutale. Presentano un'estesa area superficiale e con essa energia libera superficiale e bagnabilità elevatissime, in grado di attirare e legare a sé una straordinaria quantità di proteine; inoltre, mostrano una superiore adesione da parte degli osteoblasti.
3. Recentemente, grazie agli straordinari sviluppi nel campo delle nanotecnologie, è stato introdotto sul mercato un discreto numero di superfici con caratteristiche nanotopografiche ottenute con tecniche produttive diverse, come la tecnica di strutturazione additiva, che permette di aggiungere alla superficie originaria particelle nanometriche di fosfato di calcio altamente cristalline, la tecnica che prevede la modificazione chimica della superficie implantare mediante trattamento con acido fluoridrico o la tecnica rappresentata dall'anodizzazione od ossidazione anodica.
4. Le proprietà elastiche degli impianti dentali prodotti attraverso la fresatura di barrette di titanio differiscono notevolmente da quelle dell'osso circostante. Tale discrepanza potrebbe comportare problematiche nel trasferimento del carico.
5. Il progresso nel campo delle tecniche di prototipazione rapida permette oggi di modulare le proprietà elastiche degli impianti a quelle dell'osso circostante attraverso la metodica nota come *fabbricazione diretta tramite laser* (DLF).
6. La DLF consiste nella creazione fisica di un intero oggetto, come un impianto dentale, a geometria complessa a partire da microparticelle di polvere di titanio che sono fuse insieme da un raggio laser sulla base di un disegno tridimensionale computerizzato.
7. Questa metodica permette di creare un impianto dentale modulando la densità e la porosità dei diversi strati: si ottengono così un migliore adattamento dell'osso al carico e una migliore integrazione dell'impianto nella stessa struttura ossea grazie all'interconnessione meccanica determinata dalla crescita ossea all'interno della struttura porosa.

## KEY POINTS

1. For biomimetic reasons, modern implant surfaces aim at reproducing the structural characteristics of residual bone matrix, therefore they must be nanostructured. A nanostructured material is a material with components smaller than 100nm.
2. Nanostructured surfaces seem to be able to modify tissue biological response. They are characterised by a wide surface, huge surface free energy and very high surface wettability; therefore, they can adsorb and link an extraordinary amount of proteins. Moreover, they show a greater osteoblast adhesion.
3. Following recent extraordinary progress in the field of nanotechnology, a large number of nanostructured implant surfaces have been marketed; these surfaces are obtained by different techniques, such as addition of calcium phosphate nanoparticles, chemical etching with fluoridric acid, or anodic oxidation.
4. The elastic properties of dental implants obtained by conventional milling of titanium bars differ from the elastic properties of the surrounding bone. This difference could be a potential problem during load transfer.
5. The progress in the field of rapid prototyping techniques allows now to adapt the elastic properties of dental implants to those of the surrounding bone, by the new method called Direct Laser Fabrication (DLF).
6. The DLF technique is the creation of an object with a complex geometry, such as a dental implant, starting from the laser fusion of titanium micropowders guided by a three dimensional computerized project.
7. This method permits the creation of a dental implant where density and porosity of different layers can be modulated for better load adaptation and osseointegration, due to the mechanical connection warranted by bone growth inside its porous structure.

## Superfici nanostrutturate

Secondo Davies, durante il fisiologico rimodellamento osseo la complessa struttura tridimensionale

submicronica prodotta dall'azione degli osteoclasti rappresenta il substrato sul quale va a innestarsi la cosiddetta *linea cementante* (*cement line*), costituita da matrice extracellulare non collagenica

deposta dagli osteoblasti [1]. L'interdigitazione di queste due strutture è di importanza fondamentale e dipende strettamente dalla topografia superficiale submicronica della matrice residua. Per tale ragione, a scopo biomimetico, le moderne superfici implantari devono riprodurre le caratteristiche strutturali della matrice residua e pertanto essere nanostrutturate [1]. Un materiale può definirsi *nanostrutturato se possiede costituenti di dimensioni inferiori a 100 nm*. L'osso umano è un buon esempio di materiale complesso con caratteristiche nanostrutturali [2]: infatti, le proteine non collageniche della matrice, insieme alle fibrille collagene e ai cristalli di HA, che sono costituenti naturali dell'osso, sono strutture di dimensioni nanometriche; allo stesso modo, gli osteoni, i sistemi haversiani e le lamelle ossee sono strutture di dimensioni micrometriche, mentre l'osso spugnoso e l'osso corticale nel loro complesso rappresentano strutture superiori e di dimensioni millimetriche [2].

Le superfici nanostrutturate sembrano in grado di modificare la risposta tissutale [3]. Per prima cosa, infatti, esse presentano un'estesa area superficiale e, con essa, energia libera superficiale e bagnabilità elevatissime, in grado di attirare e legare a sé una straordinaria quantità di proteine [3]. Il tipo, la concentrazione, la conformazione e la bioattività delle proteine plasmatiche in grado di essere adsorbite su un materiale dipendono da chimica superficiale, idrofilicità o idrofobicità, carica, energia e naturalmente topografia superficiale. Pertanto, non sorprende che una superficie nanostrutturata possa presentare più siti di legame per proteine specifiche, coinvolte nei meccanismi di adesione cellulare [3]. Webster et al. [4,5] hanno evidenziato come superfici nanostrutturate fossero in grado di determinare un'aumentata adesione di proteine di legame specifiche, come la vitronectina, rispetto a superfici convenzionali. Le superfici nanostrutturate mostrano una superiore adesione da parte degli osteoblasti [4,5]. La vitronectina ha infatti un ruolo fondamentale nel mediare l'adesione degli osteoblasti, presentando specifiche sequenze di legame RGD, che interagiscono con le integrine, proteine di legame della membrana cellulare [4,5]. Recenti studi hanno dimostrato come le superfici nanostrutturate spingano le cellule a produrre un maggior numero di proteine, quali BSPs e OPN [6]. Non solo l'adesione,

ma anche il comportamento cellulare, la produzione di proteine e quindi l'espressione genica sembrano in qualche modo influenzate dalla presenza di superfici nanostrutturate [6]. Tutto questo è certamente in funzione dell'aumentata adesione di proteine, ma ne è anche indipendente: sembra infatti che le cellule siano propriamente in grado di "avvertire" la presenza di superfici nanostrutturate, proprio grazie alle integrine [7]. Recentemente, grazie agli straordinari sviluppi nel campo delle nanotecnologie, è stato introdotto sul mercato un discreto numero di superfici con caratteristiche nanotopografiche, ottenute con diverse tecniche produttive [3]. Alcune di queste tecniche hanno lo scopo di ottenere un ispessimento dello strato nanometrico di cristalli di calcio-fosfato che normalmente si forma sull'*oxide layer* in seguito all'adsorbimento di anioni e cationi, immediatamente dopo l'inserimento dell'impianto nel sito chirurgico; obiettivo di queste metodiche è rimodellare l'interfaccia tra impianto e biofilm proteico, per poter così stimolare l'apposizione di nuovo osso.

L'impianto Nanotite® (Biomet 3i, Palm Beach, FL, USA) è caratterizzato da una deposizione discreta di nanocristalli (*Discrete Crystal Deposit*, DCD) di calcio-fosfato su una superficie precedentemente caratterizzata da doppia acidificazione (Osseotite®; Biomet 3i, Palm Beach, FL, USA) [8-12]. Si tratta di una tecnica di strutturazione additiva, che permette di aggiungere alla superficie originaria particelle nanometriche di fosfato di calcio (20-100 nm) altamente cristalline [8]. Le particelle vengono sospese in soluzione e sono spinte ad auto-assemblarsi sull'ossido di titanio presente sulla superficie implantare. La deposizione dei cristalli conferisce alla superficie una topografia nanometrica che si sovrappone alla struttura micrometrica già esistente, con copertura di oltre il 50% della stessa [8-12]. Questo tipo di superficie si differenzia in modo sostanziale da quelle ottenute per tradizionale rivestimento plasma spray con HA: essa, infatti, preserva la microtopografia superficiale originale, rendendola al tempo stesso più complessa. Questo è impossibile per le superfici plasma spray classiche, caratterizzate da un rivestimento in HA molto più spesso, tale da alterare in modo sostanziale la topografia superficiale di partenza. In uno studio su 15 pazienti, con 30 mini-impianti (15 impianti test Nanotite®; 15 impianti

di controllo Osseotite®) posizionati nel mascellare superiore posteriore e rimossi dopo un periodo di guarigione sommersa di 2 mesi, l'analisi istologica e istomorfometrica ha rivelato una più rapida e ampia neoformazione ossea negli impianti rivestiti da nanoparticelle di calcio-fosfato [9]. In un altro lavoro su 9 pazienti, con mini-impianti posizionati nel mascellare superiore posteriore, in assenza di carico e rimossi dopo un periodo di guarigione di 1-2 mesi, l'impianto rivestito da nanoparticelle di calcio-fosfato ha dimostrato superiore apposizione ossea [10]. Questi interessanti risultati sono stati parzialmente confermati da un analogo, ma più recente lavoro comparativo, sempre su 15 pazienti, in cui 30 mini-impianti (15 impianti test Nanotite®; 15 impianti di controllo Osseotite®) erano posizionati nel mascellare superiore, con l'intento di fissare un innesto di osso autologo prelevato da cresta iliaca, e rimossi dopo 3 mesi di guarigione sommersa [11]: anche in questo caso, il dato istomorfometrico ha rivelato una superiore percentuale di contatto tra osso e impianto negli impianti test, a livello dell'osso nativo; nella zona dell'innesto, tuttavia, l'apposizione di nuovo osso era piuttosto scarsa, senza alcuna differenza tra le due superfici. La scarsa osteogenesi sulla superficie nanostrutturata a livello dell'innesto era presumibilmente legata alla scarsa vascolarizzazione presente in quell'area critica [11]. In un recente lavoro preclinico su modello animale, con 64 impianti posizionati in alveoli post-estrattivi di 16 cani Beagle, è emerso come in un protocollo chirurgico complesso la superficie rivestita da nanoparticelle si comportasse similmente a quella classica ottenuta per doppia mordenzatura acida, senza evidenziare un miglioramento nel contatto tra osso e impianto [12]. Precedenti studi preclinici sul ratto avevano invece evidenziato la capacità della nuova superficie di stimolare una più rapida e ampia apposizione di nuovo osso, confermata anche da più alti valori di "removal torque" [8]. Sono necessari ulteriori lavori istomorfometrici per valutare la capacità di questa nuova superficie di stimolare l'apposizione di nuovo osso, soprattutto in situazioni delicate come nei protocolli di carico anticipato e immediato; tuttavia, uno studio clinico multicentrico attualmente in corso su 185 pazienti trattati con 335 impianti sottoposti a carico immediato ha rivelato una sopravvivenza cumulativa a 1 anno del 94,9% [13].

Un'ulteriore metodica per ottenere un rivestimento di nanoparticelle di calcio e fosfato è la tecnica IBAD (*Ion Beam Assisted Deposition*). Si tratta di un approccio fisico per la realizzazione di superfici nanostrutturate. La nuova superficie dell'impianto Bicon® (Bicon, Boston, MA, USA) è un ottimo esempio dell'applicazione di questa tecnologia [14, 15]. Si tratta di un impianto sabbiato con ossido di alluminio e acidificato in cui l'aggiunta di uno strato nanometrico (20-50nm) di calcio-fosfato è ottenuta per deposizione di nanoparticelle assistita da raggio ionico. Questi impianti con superficie nanostrutturata sono stati confrontati con impianti sabbiati e acidificati tradizionali, impiegati come controllo, in un lavoro preclinico con inserimento nella tibia prossimale di cane [14]. Sebbene i risultati non evidenziassero differenze significative tra i valori di "removal torque" e di contatto osso-impianto dei due gruppi, l'osso a contatto della superficie nanostrutturata appariva più organizzato e maturo [14]. In un ulteriore lavoro preclinico su coniglio, questa stessa superficie ottenuta per deposizione assistita da raggio ionico di uno strato più spesso di nanoparticelle (300-500 nm) è stata comparata a una superficie di controllo, caratterizzata da tradizionale rivestimento plasma spray in HA [15]. Sono stati inseriti 48 impianti nel femore di coniglio, successivamente rimossi a 1 o 2 mesi di distanza. Nonostante la guarigione fosse ottimale sia per gli impianti test sia per i controlli, il contatto osso-impianto rivelava valori superiori per gli impianti plasma spray tradizionali [15]. Un precedente lavoro preclinico, tuttavia, aveva evidenziato come la superficie nanostrutturata ottenuta per deposizione guidata da raggio ionico fosse in grado di stimolare una più ampia neoformazione ossea rispetto a una tradizionale superficie sabbiata [16].

Un'ulteriore superficie implantare rivestita da nanoparticelle di HA (5-100 nm di spessore) e ancora in fase di studio è HA Nano® (Promimic, Goteborg, Sweden). Si tratta di una superficie liscia ricoperta da nanoparticelle di HA. Studi preclinici sulla tibia di coniglio hanno dimostrato per HA Nano®, quando comparata a una superficie di controllo liscia, un superiore contatto tra osso e impianto [17]. Tuttavia, l'assenza di una microtopografia superficiale sembra limitare in qualche modo l'efficacia della superimposizione della nanotopografia superficiale

[17]. Un'altra superficie rivestita da bioceramiche nanocristalline è la superficie Osseon® (Intralock, Boca Raton, FL, USA). In un lavoro su 10 pazienti, due impianti (l'impianto test con superficie Osseon® nanocristallina e l'impianto di controllo con superficie caratterizzata da doppia acidificazione) sono stati inseriti nel mascellare superiore posteriore e rimossi dopo 2 mesi di guarigione incontrastata. Il dato istomorfometrico rivelava un superiore contatto tra osso e impianto per la superficie nanocristallina, suggerendo come l'incorporazione di CaPO<sub>4</sub> nell'"oxide layer", caratteristica di questo impianto, possa positivamente influenzare l'osteogenesi da contatto [18]. Questi risultati sono stati confermati anche da un recente lavoro preclinico sul cane, in cui superiore contatto tra osso e impianto e più alti valori di "removal torque" sono stati evidenziati per questa superficie nanostrutturata rispetto a una superficie data da doppia acidificazione [19].

Una metodica completamente diversa e messa a punto per la realizzazione di superfici nanostrutturate è rappresentata dalla modificazione chimica della superficie implantare mediante trattamento con acido fluoridrico (HF). L'impianto Osseospeed® (Astra Tech, Molndal, Sweden) è ottenuto per sabbiatura con biossido di titanio e successivo trattamento chimico di blanda mordenzatura con acido fluoridrico. Il trattamento con acido fluoridrico determina la superimposizione alla superficie microrugosa tradizionale (sabbata con allumina e biossido di titanio [Tioblast®; Astra Tech, Molndal, Sweden]) di una nanostruttura (50-100 nm) in titanio. Inoltre, questa tecnica induce l'incorporazione di una minima, ma significativa quantità di ioni fluoro sulla superficie dell'impianto. Il fluoruro di titanio che ne risulta è molto stabile e lega gli atomi di ossigeno dei gruppi fosfato dell'HA, dando luogo a fluorapatite e HA fluorata. In numerosi lavori *in vitro* su osteoblasti questa superficie ha dimostrato di stimolare l'espressione di geni (Cbfa-1/Runx-2, Osterix) e la conseguente produzione di proteine (fosfatasi alcalina, sialoproteine ossee) fondamentali per la produzione di nuovo osso [20-22]. Un recente ulteriore lavoro *in vitro* su coltura di cellule mesenchimali indifferenziate umane ha dimostrato l'aumentata capacità di questa superficie nello stimolare la differenziazione osteoblastica e la conseguente produzione di matrice [23]. In uno studio

istomorfometrico preclinico sulla tibia di coniglio, l'impianto con superficie trattata con acido fluoridrico ha dimostrato superiore contatto osso-impianto quando comparato a un classico impianto sabbiato con biossido di titanio [24]. Nello stesso lavoro, inoltre, vi era una differenza significativa nei valori di "removal torque" tra impianti fluoro-modificati rispetto a sabbiati tradizionali [24]. In due diversi studi preclinici sulla mandibola di cane, l'impianto trattato con acido fluoridrico ha mostrato una notevole apposizione di osso rispetto a un impianto sabbiato con biossido di titanio, in particolare nelle primissime fasi di guarigione [25,26]. Sono in corso alcuni lavori clinici per valutare l'impiego degli impianti nanostrutturati per il trattamento con acido fluoridrico.

Infine, una tecnica di produzione di superficie tra le più considerate è attualmente rappresentata dall'anodizzazione od ossidazione anodica [27,28]. L'*ossidazione anodica* è un processo attraverso il quale lo strato di ossido che naturalmente riveste la superficie implantare viene ispessito in maniera controllata, fino a costituire una vera e propria struttura nanoporosa. Si tratta di un processo elettrochimico nel quale l'impianto è immerso in una soluzione elettrolitica cui viene applicata una corrente; l'impianto diviene così l'anodo di una cella elettrica e la sua superficie si ossida. TiUnite® (Nobel Biocare, Zurich, Switzerland) è un buon esempio di superficie ottenuta con tale processo [27-34]. Si ritiene che il meccanismo con cui le superfici anodizzate sono in grado di stimolare l'osteointegrazione sia duplice: da un lato, infatti, la loro struttura nanoporosa dovrebbe promuovere l'interconnessione con il nuovo osso; dall'altro, la superficie dovrebbe essere capace di un legame chimico con l'osso neoformato. Numerosi studi istomorfometrici hanno indagato la capacità degli impianti con superficie ossidata e anodizzata di determinare neoformazione ossea. In un lavoro sulla scimmia, con impianti posizionati in osso di scarsissima qualità (tipo IV) Huang et al. [27] hanno dimostrato una percentuale di contatto osso-impianto soddisfacente a 4 mesi. In un lavoro sul cane, impianti con superficie anodizzata hanno dimostrato percentuali di contatto osso-impianto superiori a impianti rivestiti con calcio-fosfati [28]. Questo risultato è stato solo parzialmente confermato da un successivo studio istomorfometrico sempre

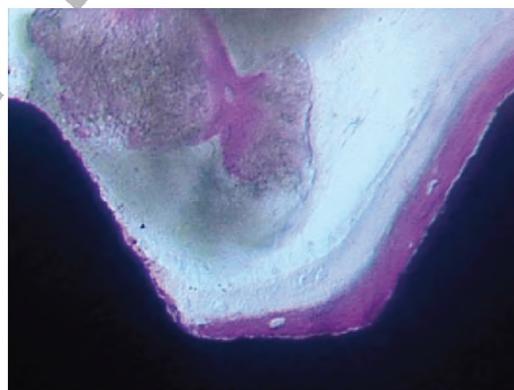
sul cane, in cui diverse superfici da minimamente (*machined*) a moderatamente (anodizzate; sabbiato e acidificate) a fortemente (plasma spray) rugose sono state messe a confronto. Dopo 8 settimane sotto carico, infatti, i risultati ottenuti con superfici moderatamente rugose, compresa quella anodizzata, non erano statisticamente superiori, nel loro complesso, a quelli ottenuti per le altre superfici [29]. In un ulteriore studio istologico sul cane, una superficie ossidata e anodizzata ha confermato discreti risultati [30]. I risultati di tutti questi studi istologici su modello animale sono stati sostanzialmente confermati da due lavori istologici e istomorfometrici su impianti rimossi da mandibola posteriore di uomo, in funzione da 5 a 9 mesi con differenti protocolli di carico [31,32]. Seppur con un numero minimo di impianti, il dato istomorfometrico era incoraggiante, suggerendo anche in protocolli di carico immediato la capacità di questo impianto di stimolare la neoformazione ossea sulla propria superficie ossidata e anodizzata [31]. L'analisi microscopica dei campioni, d'altra parte, evidenziava la crescita ossea all'interno dei pori della superficie, a conferma di un forte meccanismo di interlocking meccanico garantito da questa nuova superficie tra impianto e osso [32]. Numerosi studi clinici sull'uomo hanno valutato gli impianti con superficie anodizzata [33–38]. In un recente studio su 126 pazienti, in cui 290 impianti con superficie TiUnite® erano inseriti in osso mascellare di scarsa qualità o in associazione a tecniche rigenerative e sottoposti a carico ritardato a sostegno di corone singole o riabilitazioni parziali fisse, la sopravvivenza a 3 anni era del 99,3% [33]. In un altro lavoro clinico su 136 pazienti, in cui venivano inseriti 394 impianti

(199 con superficie anodizzata e 195 con superficie *machined*) per diverse applicazioni cliniche, il successo implantare era del 100% negli impianti con superficie anodizzata contro il 96,4% negli impianti tradizionali [34]. In un ulteriore studio clinico a 4 anni, Glauser et al. [35] hanno evidenziato come il trattamento con impianti con superficie anodizzata sia predicibile in protocolli di carico immediato su restauri fissi nelle regioni posteriori di entrambe le ossa mascellari. Un altro lavoro clinico ha evidenziato come anche in alveoli post-estrattivi gli impianti TiUnite® rendano possibili buoni risultati [36]. Infine, altri due studi clinici hanno confermato come in caso di carico immediato impianti con superficie anodizzata inseriti nella mandibola [37] così come nel mascellare superiore [38] mostrino percentuali di successo prossime al 100%. Gli impianti con superficie anodizzata si prestano infine a ulteriori trattamenti, atti a modificare la composizione chimica del loro strato di ossidi superficiale, al fine di potenziarne l'osteointegrazione [39–41]. La superficie anodizzata sembra acquisire caratteristiche superiori, quali una spiccata idrofilia, se sottoposta a irradiazione con raggi UVA [39]. Infatti, in un lavoro preclinico sul coniglio, la fotocatalisi ha dimostrato di essere in grado di aumentare i valori di contatto tra osso e impianto [39]. Inoltre, l'incorporazione di ioni magnesio e calcio su superficie anodizzata è stata studiata dal gruppo di Sul in diversi lavori preclinici [40,41]. Impianti anodizzati, sperimentalmente arricchiti con magnesio, hanno mostrato valori superiori di contatto osso-impianto e di "removal torque" nel coniglio, quando comparati con impianti anodizzati soltanto o acidificati [40]. Allo stesso modo, in un precedente lavoro, impianti anodizzati arricchiti con ioni calcio hanno dimostrato valori di contatto tra osso e impianto e "removal torque" superiori a impianti anodizzati soltanto [41]. In sostanza, gli impianti anodizzati sperimentalmente arricchiti con ioni magnesio e calcio sembrano in grado di stimolare chimicamente il legame tra nuovo osso e superficie dell'impianto [40,41]. I risultati di tutti i lavori istomorfometrici sull'uomo e su modello animale per superfici nanostrutturate sono riportati nella *tabella I*. La *fig. 1* mostra un esempio di risposta istologica a superfici nanostrutturate. I lavori clinici attualmente pubblicati sulle superfici nanostrutturate sono invece riportati nella *tabella II*.

**Fig. 1**

Superficie nanostrutturata. Una porzione della concavità della spira implantare è a contatto con tessuto neoformato e matrice osteoide non ancora mineralizzata (blu di toluidina e fucsina acida, 100x).

**Fig. 1**



**TABELLA I – STUDI ISTOMORFOMETRICI SU UOMO E MODELLO ANIMALE CON SUPERFICI NANOSTRUTTURATE (segue)**

Studio	Anno	Modello	Guarigione	Superfici	BIC
Orsini et al. [9]	2007	Uomo	2 mesi	Nanotite® (Biomet 3i)	32,2 ± 18,5%
				Osseotite® (Biomet 3i)	19,0 ± 14,2%
Goene et al. [10]	2007	Uomo	1 mese	Nanotite® (Biomet 3i)	44,5 ± 7,4%
				Osseotite® (Biomet 3i)	15,5 ± 4,6%
			2 mesi	Nanotite® (Biomet 3i)	45,3 ± 22,4%
				Osseotite® (Biomet 3i)	18,3 ± 12,9%
Tellemann et al. [11]	2009	Uomo	3 mesi	Nanotite® (Biomet 3i)	29,0 ± 15,1%
				Osseotite® (Biomet 3i)	27,0 ± 19,7%
Shibli et al. [18]	2009	Uomo	2 mesi	Osseon® (Intralock)	43,3 ± 22,5%
				Doppia acidificazione	21,8 ± 7,0%
Rocci et al. [31]	2003	Uomo	9 mesi	TiUnite® (Nobel Biocare)	84,2 ± 10,5%
Huang et al. [27]	2005	Scimmia	4 mesi	TiUnite® (Nobel Biocare)	74,1 ± 4,8%
Marin et al. [19]	2008	Cane	2 settimane	Osseon® (Intralock)	57,3 ± 7,4%
				Doppia acidificazione	47,3 ± 7,4%
			1 mese	Osseon® (Intralock)	58,9 ± 7,4%
				Doppia acidificazione	47,7 ± 7,4%
Berglundh et al. [25]	2007	Cane	2 settimane	Osseospeed® (Astra Tech)	56,5 ± 6,7%
				Tioblast® (Astra Tech)	43,4 ± 9,8%
			6 settimane	Osseospeed® (Astra Tech)	60,9 ± 14,1%
				Tioblast® (Astra Tech)	58,7 ± 16,6%
Abrahamsson et al. [26]	2008	Cane	2 settimane	Osseospeed® (Astra Tech)	55,7 ± 9,7%
				Tioblast® (Astra Tech)	33,7 ± 11,7%
			6 settimane	Osseospeed® (Astra Tech)	63,7 ± 19,3%
				Tioblast® (Astra Tech)	45,2 ± 11,7%
Xiropaidis et al. [28]	2005	Cane	2 mesi	TiUnite® (Nobel Biocare)	70,7 ± 9,0%
				CP Coated (Nobel Biocare)	56,6 ± 18,5%
Vignoletti et al. [12]	2009	Cane	1 mese	Nanotite® (Biomet 3i)	29,0 ± 14,2%
				Osseotite® (Biomet 3i)	26,0 ± 19,0%
			2 mesi	Nanotite® (Biomet 3i)	42,4 ± 21,5%
				Osseotite® (Biomet 3i)	45,7 ± 18,8%
Coelho et al. [14]	2009	Cane	2 settimane	Nano® (Bicon)	69,4 ± 8,5%
				Sabbiato e acidificato	72,6 ± 8,5%
			1 mese	Nano® (Bicon)	69,1 ± 9,0%
				Sabbiato e acidificato	70,4 ± 8,5%
Kim et al. [30]	2006	Cane	3 settimane	Ossidati anodizzati	37,6 ± 8,8%
				"Machined"	21,3 ± 9,9%
			8 settimane	Ossidati anodizzati	47,7 ± 13,4%
				"Machined"	46,9 ± 11,3%
Park et al. [16]	2005	Coniglio	6 settimane	Nano® (Bicon)	68,8 ± 6,2%
				Sabbiato	59,2 ± 9,2%
Meirelles et al. [17]	2008	Coniglio	1 mese	HA Nano® (Promimic)	9,0 ± 6,1%
				"Electropolished"	3,2 ± 3,6%
Quaranta et al. [15]	2009	Coniglio	1 mese	Nano® (Bicon)	31,5 ± 2,4%
				Plasma spray	43,0 ± 3,0%
			2 mesi	Nano® (Bicon)	46,0 ± 4,1%
				Plasma spray	61,0 ± 4,5%

**TABELLA I – STUDI ISTOMORFOMETRICI SU UOMO E MODELLO ANIMALE CON SUPERFICI NANOSTRUTTURATE (continua)**

Studio	Anno	Modello	Guarigione	Superfici	BIC
Sawase et al. [39]	2007	Coniglio	1 mese	UVA TiUnite® (Nobel Biocare)	47,3 ± 11,6%
				TiUnite® (Nobel Biocare)	41,3 ± 9,0%
Sul et al. [40]	2006	Coniglio	3 settimane	Mg TiUnite® (Nobel Biocare)	29,0 ± ns%
				TiUnite® (Nobel Biocare)	18,0 ± ns%
				Osseotite® (Biomet 3i)	15,0 ± ns%
			6 settimane	Mg TiUnite® (Nobel Biocare)	39,0 ± ns%
				TiUnite® (Nobel Biocare)	31,0 ± ns%
				Osseotite® (Biomet 3i)	26,0 ± ns%
Sul et al. [41]	2002	Coniglio	6 settimane	Ca TiUnite® (Nobel Biocare)	49,0 ± 12%
Ellingsen et al. [24]	2004	Coniglio	1 mese	Osseospeed® (Astra Tech)	35,0 ± 14%
				Tioblast® (Astra Tech)	26,0 ± 8%
			3 mesi	Osseospeed® (Astra Tech)	39,0 ± 11%
				Tioblast® (Astra Tech)	31,0 ± 6%
Mendes et al. [8]	2007	Ratto	9 giorni	Nanotite® (Biomet 3i)	26,9 ± ns%
				Osseotite® (Biomet 3i)	12,0 ± ns%

**TABELLA II – STUDI CLINICI SU IMPIANTI CON SUPERFICI NANOSTRUTTURATE**

Autore	Durata	Pazienti	Impianti	Sede	Carico	Sopravvivenza
Ostman et al. [13]	1 anno	185	335 Nanotite®		Immediato	94,9%
Bahat et al. [33]	3 anni	126	290 TiUnite®	Osso tipo III-IV	Dilazionato	99,3%
Jungner et al. [34]	2 anni	136	394 TiUnite®		Dilazionato	100,0%
Glauser et al. [35]	4 anni	38	102 TiUnite®	Osso tipo III-IV	Immediato	97,1%
Van der Bogaerde et al. [36]	3 anni	19	50 TiUnite®	Alveoli post-ex	Immediato	100,0%
Ostman et al. [37]	4 anni	77	257 TiUnite®		Immediato	99,4%
Degidi et al. [38]	3 anni	29	142 TiUnite®		Immediato	100,0%

### Impianti ottenuti dalla fusione di microparticelle di titanio tramite laser

Gli impianti dentali attualmente sul mercato sono comunemente prodotti attraverso fresatura di barrette di titanio, seguita, come abbiamo visto, da una notevole varietà di possibili trattamenti o rivestimenti superficiali atti ad accelerare i processi di guarigione ossea e favorire l'osteointegrazione [42]. Tuttavia, le proprietà elastiche degli impianti dentali così ottenuti differiscono notevolmente da quelle dell'osso circostante. La rigidità di un impianto dentale dipende dal modulo elastico del materiale da cui è costituito (nel titanio commercialmente puro, 112 GPa), nonché dalle

caratteristiche geometriche dell'oggetto. Questo valore è notevolmente superiore a quello dell'osso corticale (10-26 GPa). Tale discrepanza potrebbe comportare problematiche nel trasferimento del carico, problema senz'altro trascurato, ma di notevole importanza nel contesto della moderna implantologia, sempre più orientata a protocolli di carico anticipato e immediato [42,43].

Lo straordinario progresso nel campo delle tecniche di prototipazione rapida (*Rapid Prototyping*, RP) permette oggi di modulare le proprietà elastiche degli impianti a quelle dell'osso circostante, attraverso la metodica nota come fabbricazione diretta tramite laser (*Direct Laser Fabrication*, DLF). Si tratta della creazione fisica di un intero oggetto, come

Fig. 2



Fig. 3

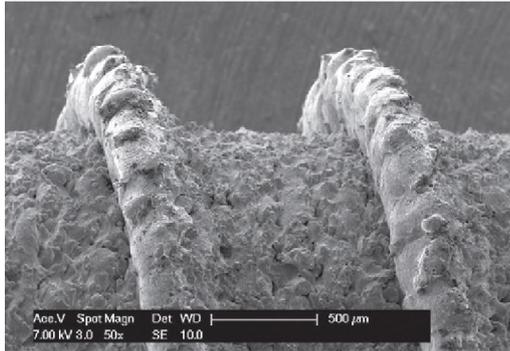
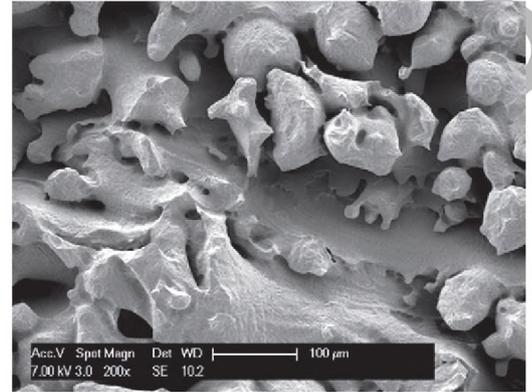


Fig. 4



un impianto dentale, a geometria complessa a partire da microparticelle di polvere di titanio, che sono fuse insieme da un raggio laser sulla base di un disegno tridimensionale computerizzato [42–44]. Questa rivoluzionaria metodica permette di creare un impianto dentale modulando la densità e la porosità dei diversi strati [43–45]. Recentemente, è stato così creato il primo impianto dentale al mondo ottenuto dalla fusione di microparticelle (25–45  $\mu\text{m}$ ) di titanio tramite laser (Tixos®, Leader Italia, Milano, Italia), con porosità accentuata a livello della superficie e progressivamente ridotta verso la parte centrale dell'impianto, che risulta ad alta densità [42,45,46]. L'impianto così ottenuto (figg. 2-4) presenta una superficie altamente porosa, caratterizzata da porosità aperta e interconnessa, con pori di diametro prestabilito [45,46]. Si ottiene pertanto un impianto che permette, da una parte, un migliore e più graduale adattamento dell'osso al carico e dall'altra favorisce l'integrazione nella stessa struttura ossea, grazie all'interconnessione meccanica determinata dalla crescita ossea all'interno della struttura porosa [42]. Nell'impianto Tixos®, il trattamento con una miscela di acidi

organici (acido ossalico e acido maleico) superimponesse alla superficie DLF una serie di concavità di diametro definito (100–200  $\mu\text{m}$ ), che si continuano nella struttura porosa sottostante [42,45,46]. I primi lavori *in vitro* hanno dimostrato la capacità di questa superficie di sostenere la formazione e ritenzione di un esteso coagulo di fibrina tenacemente adeso [45,46]. Questo aspetto è positivo perché, come abbiamo visto, la formazione del network di fibrina rappresenta un passaggio importante nei fenomeni di guarigione perché essa costituisce una vera e propria autostrada che le cellule con potenziale osteogenico utilizzano per raggiungere la superficie implantare. D'altra parte, la geometria superficiale e la struttura porosa e interconnessa dell'impianto DLF sembrano rappresentare un ambiente ideale per le cellule osteogeniche [46]. In un recente lavoro *in vitro* con osteoblasti umani coltivati su dischi di titanio ottenuti con procedura di microfusione tramite laser, Xue et al. [47] hanno studiato il comportamento di cellule osteogeniche in cavità e pori di diverse dimensioni. In questo lavoro, è stato dimostrato come le cellule fossero in grado di penetrare nei pori e nelle cavità di 200  $\mu\text{m}$  di diametro, come se disponessero "a ponte" su cavità con diametro compreso tra 100–200  $\mu\text{m}$  e come non penetrassero in cavità di diametro inferiore a 100  $\mu\text{m}$  [47]. Si tratta di un dato interessante perché, ove possibile, le cellule migrano all'interno dei pori o si stabiliscono al di sopra di essi, aderiscono, assumono una caratteristica morfologia "stirata", cessano di proliferare e si differenziano in osteoblasti, come confermato dall'espressione di geni caratteristici, insieme alla precoce produzione di matrice

**Fig. 2**  
Impianto in titanio  
microfuso tramite laser.

**Fig. 3**  
Superficie in titanio  
microfuso tramite laser.  
A maggior ingrandimento  
si nota la caratteristica  
porosità superficiale  
(SEM, 50x).

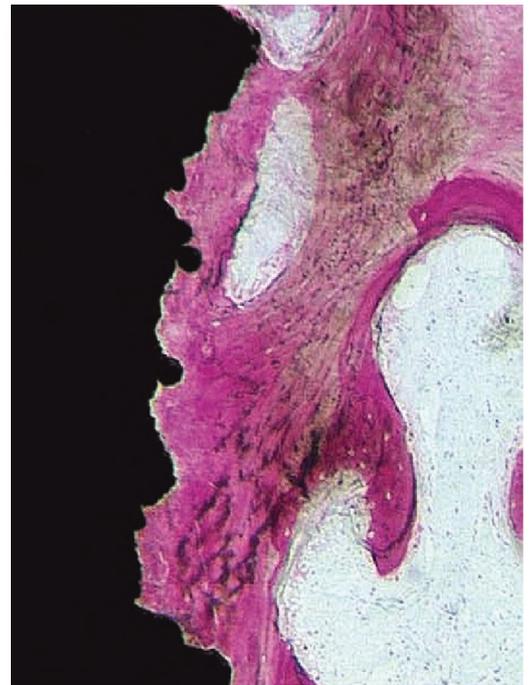
**Fig. 4**  
Superficie in titanio  
microfuso tramite laser.  
A ulteriore ingrandimento  
si nota l'interconnessione  
dei pori (SEM, 200x).

[47]. Il lavoro di Xue et al. conferma una precedente esperienza *in vitro* con coltura di osteoblasti su superficie porosa di titanio DLF, in quanto il comportamento cellulare era analogo e comparabile, con evidenza precoce di produzione di matrice ossea [45,46]. Questi risultati incoraggianti sembrano confermati da un primo studio istologico e istomorfometrico sull'uomo, nel quale 30 mini-impianti (10 impianti test con superficie DLF Tixos® e 20 impianti di controllo, di cui 10 con superficie liscia e 10 con superficie sabbiata e acidificata) sono stati inseriti nelle regioni posteriori del mascellare superiore, in osso a bassa densità, e rimossi dopo 2 mesi di guarigione incontestata [42,48]. Il dato istomorfometrico a 2 mesi descriveva una percentuale di BIC superiore per gli impianti test ( $23,2 \pm 2,9\%$ ) rispetto alle superficie di controllo liscia ( $13,0 \pm 5,7\%$ ) e sabbiata e acidificata ( $21,8 \pm 3,7\%$ ). La densità ossea, inoltre, mostrava un grado di maturazione superiore nell'area compresa tra le spire dell'impianto in titanio microfuso ( $33,3 \pm 5,9\%$ ) rispetto a quella presente negli impianti di controllo con superficie liscia ( $17,9 \pm 11,7\%$ ) e sabbiata e acidificata ( $30,3 \pm 6,9\%$ ) [42,48]. In sostanza, nell'impianto in titanio microfuso, il tessuto osseo neoformato era intimamente in contatto con la superficie implantare e presentava una precoce maturazione e mineralizzazione con vere e proprie trabecole neoformate e segni di rimodellamento, come confermato da microscopia ottica (fig. 5), a scansione elettronica e spettrometria a raggi X [42,48]. Questo è senz'altro un dato significativo perché la rapida maturazione dell'osso neoformato è un requisito importante per ottenere stabilità in contesti difficili, laddove si vogliono applicare protocolli di carico anticipato o immediato. È ormai noto come le proprietà strutturali e geometriche della superficie implantare possano influenzare forma e dimensioni delle cellule, con riflessi sull'espressione genica [49–51]. I primi ricercatori a sottolineare come i problemi biologici non potessero essere risolti studiando unicamente gli aspetti genetici e biochimici, ma richiedessero un'attenta analisi delle problematiche meccaniche, strutturali e architetturali delle cellule sono stati Folkman [49] e Ingber [50]. Oggigiorno, dopo più di 15 anni di ricerca, i meccanismi che relazionano la forma delle cellule alla loro funzione sono stati in parte rivelati [51]. Come abbiamo visto, infatti, le cellule si

rapportano al proprio substrato attraverso recettori di membrana, le integrine, responsabili dell'adesione focale [50–55]. Le integrine, però, attraverso il proprio dominio citoplasmatico e proteine di legame come l'alfa-actinina, la talina, la vinculina, la tensina e la paxilina sono connesse in modo funzionale con il citoscheletro [50–55]. Il citoscheletro è l'impalcatura interna della cellula, network complesso di microfilamenti (actina), filamenti intermedi (desmina) e microtubuli (tubulina), tutti interconnessi funzionalmente, e dotato di una propria attività contrattile, generata dai microfilamenti di actina [51–55]. Poiché il citoscheletro è connesso al nucleo cellulare, è evidente come attraverso il meccanismo dell'adesione focale forze meccaniche impartite dal substrato possano essere trasformate in segnali biochimici dalle cellule [51–54]. In sostanza, le integrine, le caderine e i meccanicettori cellulari, connessi funzionalmente al citoscheletro, se attivati spazialmente in un certo numero e in determinati punti della membrana a opera della geometria del substrato "accendono" meccanismi di trasduzione per i quali l'espressione genica è modulata da forze meccaniche applicate sulla cellula [42,50–55]. In questo senso, la geometria superficiale costituita

**Fig. 5**  
Superficie in titanio microfuso tramite laser. Osso compatto con piccoli spazi midollari a contatto con la superficie impiantare (blu di toluidina e fucsina acida, 200x).

**Fig. 5**



da una sequenza di cavità che si continuano in un sottostante network poroso sembra rappresentare un ambiente ideale per l'espressione del fenotipo osteogenico [42]. Gli spazi porosi sono infatti a loro volta, per le cellule, cavità, questa volta interne alla struttura superficiale dell'impianto e di dimensioni definite. La geometria superficiale è perciò probabilmente in grado di determinare un sistema di compressioni e tensioni ottimali sui meccanoettori cellulari, che attivano cascate di chinasi e segnali intracellulari, determinando l'espressione del fenotipo osteogenico [42,51-55]. Il citoscheletro è quindi un elemento di importanza fondamentale e duplice, essendo uno scaffold meccanico chimico che è allo stesso tempo struttura e catalizzatore [50,51]. Esso infatti traduce globalmente una forza meccanica impartita sulla cellula in segnali chimici e al tempo stesso ne modula l'intensità e l'espressione perché è un sistema attivo dotato di una propria attività contrattile [51-55]. È vero allora che la struttura può dettare la funzione [56]. Modificazioni conformazionali e riarrangiamenti strutturali a livello del citoscheletro sono in grado di determinare l'espressione di un dato fenotipo cellulare [51,55], in questo caso quello osteogenico. È ciò che normalmente avviene in natura, laddove nelle concavità scavate dagli osteoclasti, durante il fisiologico rimodellamento osseo, gli osteoblasti trovano l'ambiente ideale per deporre nuovo osso [52-55]. La microfusione tramite laser permette quindi di realizzare un impianto dotato di una geometria realmente biomimetica, attraverso lo scrupoloso controllo di parametri come grado di porosità, forma e dimensioni dei pori, loro distribuzione e interconnessione. La superficie così ottenuta è infatti caratterizzata da una porosità aperta e interconnessa, con pori di diametro controllato. Questo tipo di impostazione strutturale è valido: permette una profonda penetrazione di cellule e nutrienti (ossigeno) in grado di sostenere la crescita e la differenziazione cellulare; al tempo stesso, garantisce lo smaltimento dei prodotti di scarico del metabolismo cellulare [42]. La sovrapposizione mediante trattamento superficiale di una sequenza ripetuta di cavità con raggio di curvatura definito, in grado di continuarsi nel network poroso sottostante, rappresenta infine un aspetto centrale perché le cellule sembrano riconoscere nel motivo geometrico della concavità un potente stimolo alla

differenziazione osteogenica [42-54]. L'impianto DLF, ricco di cavità superficiali che si continuano nel network poroso e interconnesso sottostante, sembra in grado di modulare specifiche risposte biologiche, come l'apposizione di nuovo osso, attraverso un meccanismo biomimetico [42,52-55].

### Conflitto di interessi

Gli autori dichiarano di non aver nessun conflitto di interessi.

### Finanziamento allo studio

Gli autori dichiarano di non aver ricevuto finanziamenti istituzionali per il presente studio.

### Bibliografia

1. Davies JE. Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials* 2007;28:5058-67.
2. Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys* 1998;20:92-102.
3. Mendonca G, Mendonca DB, Aragao FJ, Cooper LF. Advancing dental implant surface technology: from micron to nanotopography. *Biomaterials* 2008;29:3822-35.
4. Webster TJ, Schadler LS, Siegel RW, Bizios R. Mechanisms of enhanced osteoblast adhesion on nanophase alumina involve vitronectin. *Tissue Eng* 2001;7:291-302.
5. Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, Siegel RW, Bizios R. Specific proteins mediate enhanced osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *J Biomed Mat Res* 2000;51:475-83.
6. De Oliveira PT, Nanci A. Nanotexturing of titanium based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells. *Biomaterials* 2004;25:403-13.
7. Cavalcanti-Adam EA, Volberg T, Micoulet A, et al. Cell spreading and focal adhesion dynamics are regulated by spacing of integrin ligands. *Biophys J* 2007;92:2964-74.
8. Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. The effect of discrete calcium phosphate nanocrystals on bone-bonding to titanium surfaces. *Biomaterials* 2007;28:4748-55.

9. Orsini G, Piattelli M, Scarano A, et al. Randomized, controlled histologic and histomorphometric evaluation of implants with nanometer-scale calcium phosphate added to the dual acid-etched surface in the human posterior maxilla. *J Periodontol* 2007;78:209-18.
10. Goene RJ, Testori T, Trisi P. Influence of a nanometer-scale surface enhancement on de novo bone formation on titanium implants: a histomorphometric study in human maxillae. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007;27:211-9.
11. Telleman G, Albrektsson T, Hoffman M, et al. Peri-implant endosseous healing properties of dual acid etched mini-implants with a nanometer sized deposition of CaP: a histological and histomorphometric human study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009 (epub ahead of print).
12. Vignoletti F, Johansson C, Albrektsson T, et al. Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. De novo bone formation. *J Clin Periodontol* 2009;36:265-77.
13. Ostman PO, Hupaló M, del Castillo R, et al. Immediate provisionalization of Nanotite® implants in support of single tooth and unilateral restorations: one year interim report of a prospective, multicenter study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009 (epub ahead of print).
14. Coelho PG, Cardaropoli G, Suzuki M, Lemons JE. Early healing of nanothickness bioceramic coatings on dental implants. An experimental study in dogs. *J Biomed Mater Res B Applied Biomaterials* 2009;88:387-93.
15. Quaranta A, Iezzi G, Scarano A, et al. A histomorphometric study on nanocoated implants in bone rabbit. *J Periodontol* 2009 (epub ahead of print).
16. Park YS, Yi KY, Lee IS, et al. The effects of ion beam assisted deposition of hydroxyapatite on the grit blasted surface of endosseous implants in rat tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:31-8.
17. Melles L, Arvidsson A, Andersson M, et al. Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation. *J Biomed Mater Res A* 2008;87:299-307.
18. Shibli JA, Grassi S, Piattelli A, et al. Histomorphometric evaluation of bioceramic molecular impregnated and dual acid etched implant surfaces in the human posterior maxilla. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009 (epub ahead of print).
19. Marin C, Granato R, Suzuki M, et al. Removal torque and histomorphometric evaluation of bioceramic grit blasted/acid etched and dual acid etched implant surfaces. An experimental study in dogs. *J Periodontol* 2009;79:1942-9.
20. Guo J, Padilla RJ, Ambrose W, et al. Modification of TiO<sub>2</sub> grit blasted titanium implants by hydrofluoric acid treatment alters adherent osteoblast gene expression in vitro and in vivo. *Biomaterials* 2007;28:5418-25.
21. Isa ZM, Schneider GB, Zaharias R, et al. Effects of fluoride modified titanium surfaces on osteoblast proliferation and gene expression. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006;21:203-11.
22. Masaki C, Schneider GB, Zaharias R, et al. Effects of implant surface microtopography on osteoblast gene expression. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:650-6.
23. Valencia S, Gretzer C, Cooper L. Surface nanofeature effects on titanium adherent human mesenchymal stem cells. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:38-46.
24. Ellingsen JE, Johansson CB, Wennenberg A, Holmen A. Improved retention and bone to implant contact with fluoride modified titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:659-66.
25. Berglundh T, Abrahamsson I, Al bouy JP, Lindhe J. Bone healing at implants with a fluoride modified surface: an experimental study in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2007;18:147-52.
26. Abrahamsson I, Al bouy JP, Berglundh T. Healing at fluoride modified implants placed in wide marginal defects: an experimental study in dogs. *Clin Oral Impl Res* 2008;19:153-9.
27. Huang YH, Xiropaidis AV, Sorensen RG, et al. Bone formation at titanium porous oxide (TiUnite®) oral implants in type IV bone. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:105-11.
28. Xiropaidis AV, Qahash M, Lim WE, et al. Bone implant contact at calcium phosphate coated and porous titanium oxide (TiUnite®) modified oral implants. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:532-9.
29. Al Nawas B, Groetz KA, Goetz H, et al. Comparative histomorphometry and resonance frequency analysis of implants with moderately rough surfaces in a loaded animal model. *Clin Oral Impl Res* 2008;19:1-8.
30. Kim SK, Lee HN, Choi YC, et al. Effects of anodized oxidation or turned implants on bone healing after using conventional drilling or trabecular compaction technique: histomorphometric analysis and RFA. *Clin Oral Impl Res* 2006;17:644-50.
31. Rocci A, Martignoni M, Burgos PM, et al. Histology of retrieved immediately and early loaded oxidized implants: light microscopic observations after 5 to 9 months of loading in the posterior mandible. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003;5:88-98.

32. Schupbach P, Glauser R, Rocci A, et al. The human bone oxidized titanium implant surface: a light microscopic, scanning electron microscopic, back scatter scanning electron microscopic, and energy dispersive x-ray study of clinically retrieved dental implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:36-43.
33. Bahat O. Technique for placement of oxidized titanium implants in compromised maxillary bone: prospective study of 290 implants in 126 consecutive patients followed for a minimum of 3 years after loading. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:325-34.
34. Jungner M, Lundqvist P, Lundgren S. Oxidized titanium implants (Nobel Biocare TiUnite®) compared with turned titanium implants (Nobel Biocare Mark III®) with respect to implant failure in a group of consecutive patients treated with early functional loading and two stage protocol. *Clin Oral Impl Res* 2005;16:308-12.
35. Glauser R, Ruhstaller P, Windisch S, et al. Immediate occlusal loading of Branemark system TiUnite® implants placed predominantly in soft bone: 4-year results of a prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:552-9.
36. Van der Bogaerde L, Rangert B, Wendelhag I. Immediate/early function of Branemark system TiUnite® implants in fresh extraction sockets in maxillae and posterior mandibles: a 18-month prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7:121-30.
37. Ostman PO, Hellman M, Sennerby L. Immediate occlusal loading of implants in the partially edentate mandible: a prospective 1-year radiographic and 4-year clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:315-22.
38. Degidi M, Perrotti V, Piattelli A. Immediate loaded titanium implants with a porous anodized surface with at least 36 months of follow up. *Clin Implant Dent Relat Res* 2006;8:169-77.
39. Sawase T, Jimbo R, Wennenberg A, et al. A novel characteristic of porous titanium oxide implants. *Clin Oral Impl Res* 2007;18:680-5.
40. Sul YT, Johansson C, Albrektsson T. Which surface properties enhance bone response to implants? Comparison of oxidized magnesium, TiUnite® and Osseotite® implant surfaces. *Int J Prosthodont* 2006;19:319-28.
41. Sul YT, Johansson C, Albrektsson T. Oxidized titanium screws coated with calcium ions and their performance in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:625-34.
42. Mangano C, Shibli JA, Mangano F, et al. Impianti dentali ottenuti dalla fusione di microparticelle di titanio tramite laser: dalla ricerca alla clinica. *J Osseointegration* 2009;1:9-22.
43. Traini T, Mangano C, Sammons R, et al. Direct laser metal sintering as a new approach to fabrication of an isoelastic functionally graded material for manufacture of porous titanium dental implants. *Dent Mater* 2008;24:1525-33.
44. Hollander DA, von Walter M, Wirtz T, et al. Structural, mechanical and in vitro characterization of individually structured Ti-6Al-4V implants produced by direct laser forming. *Biomaterials* 2006;27:955-63.
45. Mangano C, Traini T, Piattelli A, et al. Impianti dentali in titanio sinterizzato tramite laser. *Ital Oral Surg* 2006;4:7-12.
46. Mangano C, Raspanti M, Traini T, et al. Stereo imaging and cytocompatibility of a model dental surface formed by direct laser fabrication. *J Biomed Mater Res A* 2009;88:823-31.
47. Xue W, Krishna V, Bandyopadhyay A, Bose S. Processing and biocompatibility evaluation of laser processed porous titanium. *Acta Biomater* 2007;3:1007-18.
48. Shibli JA, Mangano C, d'Avila S, et al. Influence of direct laser fabrication (DLF) implant topography on type IV bone: a histomorphometric study in humans. *J Biomed Mater Res A* 2009 (epub ahead of print).
49. Folkman J, Moscona A. Role of cell shape in growth control. *Nature* 1978;273:345-9.
50. Ingber D. The architecture of life. *Sci Am* 1998;48:48-59.
51. Ingber D. From molecular cell engineering to biologically inspired engineering. *Cell Mol Bioeng* 2008;1:51-7.
52. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials* 2000;21:667-81.
53. Cretel E, Pierres A, Benoliel AM, Bongrand P. How cells feel their environment: a focus on early dynamic events. *Cell Mol Bioeng* 2008;1:5-14.
54. Janmey PA. The cytoskeleton and cell signalling: component localization and mechanical coupling. *Physiol Rev* 1998;78:763-81.
55. Wang N, Butler JP, Ingber D. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science* 1993;260:1124-7.
56. Ripamonti U. Soluble, insoluble and geometric signals sculpt the architecture of mineralized tissues. *J Cell Mol Med* 2004;8:169-80.