

***Eduardo Ferraz Ribeiro do Valle Neto***

***Análise morfológica de implantes do sistema titânio. Influência do tratamento de superfície***

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para obtenção do Título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

*Orientadora: Profa. Adj. Maria Cristina Rosifini Alves-Regende*

**Araçatuba – SP**

**2012**

## *Dedicatória*

## *Dedicatória*

Dedico esse trabalho a todos os meus familiares, em especial minha mãe Adriana Felippini e minha avó materna Cynira Callegari Felippini; por todo amor e confiança depositados em mim durante todos esses anos, por todas as vezes que abdicaram de si mesmas pela minha pessoa, pelo meu crescimento moral, intelectual e humano.

A todos os funcionários que contribuíram direta ou indiretamente com essa realização, e aos docentes desta faculdade, que com sua dedicação, seus conhecimentos e seus estudos, contribuem para tornar a F.O.A. uma faculdade renomada e de referência nacional em Odontologia e que trabalharam em conjunto para que chegássemos a um denominador comum na construção desse trabalho.

A minha orientadora Maria Cristina Rosifini Alves Rezende, por todos ensinamentos, conselhos e horas dedicadas na excelência de suas pesquisas.

## *Agradecimentos*

## *Agradecimentos*

Agradeço à Deus por nos permitir a existência, por ter me dado saúde para procurar conquistar meus objetivos, e pela maravilhosa família pela qual ingressei nesse mundo.

A minha mãe, a qual quaisquer palavras escritas em infinitas linhas, não seriam capazes de traduzir todo sentimento de gratidão e orgulho que tenho por ser seu filho, te amo! Essa é sem dúvida nenhuma uma conquista nossa.

A minha avó Cynira, por todas as preces, pelo amor incondicional dedicados a todos os seus entes queridos e principalmente a mim, por ter sido e ser sempre minha segunda mãe.

A meu padrinho Ailton, "In Memoriam", o qual tenho certeza estar muito orgulhoso pela conclusão do meu trabalho.

A todos os meus familiares, tios...tias...primos...e primas... que sempre torceram por mim todos esses anos e estão felizes em poder compartilhar esse momento de celebração.

A minha orientadora Maria Cristina Rosifini Alves Rezende, que por incontáveis ocasiões se mostrou muito mais que orientadora, uma pessoa amiga e conselheira, de uma educação, amor a vida e ao trabalho... raros... que tive o imenso privilégio de poder conviver e aprender nesses anos.

Em especial ao Professor Aberto Carlos Botazzo Delbem, por ter me dado o prazer de trabalharmos juntos, pela grande admiração que tenho por ele como pessoa, profissionalmente e como docente.

A todos os funcionários que trabalham na Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Com certeza, sem a cooperação e integração de todos os seguimentos, nada se conseguiria realizar.

A minha namorada Marília, por toda cumplicidade, amor e compreensão. Pela companhia e pelos maravilhosos momentos que compartilhamos juntos.

A todos amigos que fiz nessa nova casa que se tornou Araçatuba, sempre solícitos em ajudar um novo companheiro.

A todos os meus amigos da Moradia Estudantil, os quais tive prazer em ter como vizinhos e com os quais compartilhei incontáveis experiências e emoções, nos tornando uma verdadeira família.

A IX Turma do Curso Noturno da Faculdade de Odontologia de Araçatuba/UNESP, pelos anos de convivência e pelos ensinamentos compartilhados.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a concretização dessa conquista.

O meu mais sincero muito obrigado!

## Epígrafe

"O que mais me surpreende na humanidade, são os "homens".

Porque perdem a saúde para juntar dinheiro.  
Depois perdem dinheiro para recuperar a saúde.

E por pensarem ansiosamente no futuro, esquecem do presente de tal forma que acabam por não viver nem o presente nem o futuro.

E vivem como se nunca fossem morrer...  
... E morrem como se nunca tivessem vivido."

(Dalai Lama)

## *Resumo*

VALLE NETO EFR, ALVES-REZENDE MCR. **Análise morfológica de implantes de titânio. Influência dos tratamentos de superfície.** 76p. 2012 (Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

Biomateriais podem causar reações biológicas em razão de suas propriedades de superfície (rugosidade, topografia e energia de superfície). Avaliou-se a influência do tratamento de superfície na osseointegração de implantes de titânio. Lingotes foram obtidos a partir de titânio puro usando forno de arco voltaico. Confeccionaram-se 20 implantes, sendo 10 submetidos ao tratamento alcalino. Posteriormente foram usinados na forma de implantes rosqueáveis com 2,1 mm de diâmetro e 2,8 mm de comprimento. Após esterilização, foram implantados em tíbias de 20 ratos machos (250 gramas), os quais foram anestesiados (Xylazina/Ketamina) e tricotomizados em suas patas traseiras direitas. Após incisão, divulsão dos tecido e acesso ao leito ósseo, os implantes foram inseridos com motor cirúrgico (Adiel) montado em contra-ângulo (16/1). Após perfuração com broca helicoidal com 2.0 mm de diâmetro sob irrigação com soro fisiológico foram rosqueados com montador especialmente confeccionado. Na sequência realizou-se sutura (fio 4.0). Os animais foram sacrificados aos 60 dias pós-operatórios. As peças foram processadas em MMA (Stevenel's blue/Alizarin red S). Os resultados sugerem associação positiva entre tratamento alcalino e osseointegração.

**Unitermos :** Implante dentário, osseointegração, propriedades de superfície

## *Abstract*

VALLE NETO EFR, ALVES-REZENDE MCR. **Morphological analysis of titanium implants. Influence of surface treatments.** (Academic Paper). Araçatuba: Faculty of Dentistry – São Paulo State University; 76p. 2012

Biomaterials can cause biological reactions due to their surface properties (roughness, topography and surface energy). We evaluated the influence of surface treatment on osseointegration of titanium implants. Ingots were produced from pure titanium using electric arc furnace. Subsequently machined in the form of tapping implants with 2.1 mm diameter and 2.8 mm length. Twenty implants were fabricated, with 10 undergoing alkaline treatment surface. After sterilization, were implanted in the femurs of 16 male rats (250 g) which were anesthetized (Xylazine / Ketamine) and shaved on their hind right. After incision, the tissue dilatation and access to the bone site, the implants were inserted motor cirúrgico (Adiel) mounted in the handpiece (16/1). After drilling twist drill with 2.0 mm diameter under irrigation with saline were threaded with assembler specially made. Further was performed sutures to 4.0. The animals were sacrificed at 60 days postoperatively. The specimens were processed in MMA (Stevenel's blue / Alizarin red S). The results suggest a positive association between alkaline treatment and osseointegration.

**Uniterms:** Dental implant, osseointegration, surface properties

## *Lista de Tabelas*

## *Lista de Tabelas*

<b>Tabela 1 - Propriedades e características do titânio</b>	<b>.....23</b>
<b>Tabela 2 - Ligas de titânio do tipo <math>\alpha</math> comercialmente utilizadas</b>	<b>.....28</b>
<b>Tabela 3 - Vantagens e desvantagens das ligas de titânio do tipo <math>\beta</math> e <math>\alpha+\beta</math></b>	<b>.....30</b>
<b>Tabela 4 - Métodos de tratamentos superficiais em implantes de titânio e suas ligas</b>	<b>.....39</b>
<b>Tabela 5 - Características das principais fases de fosfatos de cálcio</b>	<b>.....47</b>
<b>Tabela 6 - Composição de soluções corpórea simulada</b>	<b>.....47</b>

## *Lista de Figuras*

## *Lista de Figuras*

<b>Figura 1 - Representação esquemática da formação da apatita sobre a superfície de titânio tratada com hidróxido de sódio imersa em SBF</b>	<b>46</b>
<b>Figura 2 – Reações dependentes da energia de superfície do implante (adaptado Geetha e <i>colabs.</i>, 2009)</b>	<b>51</b>
<b>Figura 3 - Forno a arco voltaico empregado no preparo das ligas</b>	<b>57</b>
<b>Figura 4 - Forno tubular empregado para homogeneização das ligas. Detalhe do lingote encapsulado a vácuo</b>	<b>57</b>
<b>Figura 5 - Equipamento para forjamento a frio FENN. Detalhe dos martelos.</b>	<b>57</b>
<b>Figura 6- Detalhe da barra no torno antes da usinagem</b>	<b>58</b>
<b>Figura 7- Implante usinado</b>	<b>58</b>
<b>Figura 8 - Banho termostaticado (TE 184, Tecnal)</b>	<b>59</b>
<b>Figura 9 - Forno EDG</b>	<b>59</b>
<b>Figura 10 - Detalhe do Implante</b>	<b>60</b>
<b>Figura 11– Acesso Cirúrgico</b>	<b>61</b>
<b>Figura 12 - Sutura</b>	<b>61</b>

## *Sumário*

## *Sumário*

<b>1. Introdução</b>	.....	<b>18</b>
<b>2. Revisão da Literatura</b>	.....	<b>21</b>
<b>3. Proposição</b>	.....	<b>53</b>
<b>4. Material e Método</b>	.....	<b>55</b>
<b>5. Resultados</b>	.....	<b>63</b>
<b>6. Discussão</b>	.....	<b>65</b>
<b>7. Conclusão</b>	.....	<b>68</b>
<b>8. Referências</b>	.....	<b>70</b>

## *Introdução*

## *Introdução*

Desde o século XVI os materiais metálicos têm sido utilizados em aplicações como implantes. Metais nobres como o ouro, a prata e a platina, em função de suas propriedades mecânicas inadequadas para a maioria das aplicações e devido ao custo elevado, tiveram sérias restrições<sup>4,5,11,14</sup>.

Atualmente, existem três grupos de materiais metálicos em amplo uso como biomateriais, são eles: os aços inoxidáveis, as ligas à base de cobalto, especialmente o Vitallium com 66% de Co, 28% de Cr e 6% de Mo e as ligas à base de titânio.

O metal titânio e suas ligas têm sido usados com sucesso como biomateriais, devido às suas propriedades mecânicas, químicas, excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade. Um biomaterial é qualquer material, sintético ou natural, que pode ser usado como um sistema ou parte de um sistema que oferece, aumenta, ou substitua algum tecido, órgão ou função do corpo. Já a biocompatibilidade de um implante por longo período compreende a capacidade do dispositivo cumprir com sua função destinada, com o desejado grau de incorporação no hospedeiro, sem provocar efeitos local ou sistêmico indesejáveis<sup>4,5,11,14</sup>.

Milhares de implantes são utilizados no mundo para restaurar ou restabelecer a função de órgãos ou dentes perdidos. Há uma grande variedade de implantes disponíveis no mercado, já que modificações no formato ou nos materiais podem melhorar o índice de sucesso desses implantes. Especificamente, eles deveriam promover uma aceleração no processo normal de cicatrização, resultando em uma matriz interfacial com composição e estrutura similares ao osso, além de adequada propriedade biomecânica. Muitos estudos têm relatado que a resposta celular e tecidual nos implantes não é afetada apenas pela sua propriedade química, mas também pela topografia ou rugosidade da superfície dos implantes. É amplamente aceito, que quatro propriedades das superfícies controlam os eventos na interface osso-implante: composição, energia, rugosidade e topografia.

Contudo, independente da topografia da superfície do titânio, a bioatividade desta superfície não é grande o suficiente para induzir o crescimento de tecido ósseo em um curto período de tempo<sup>4,5</sup>.

Denomina-se “método biomimético” a produção de biomateriais por meio da deposição de apatitas por precipitação. Esta técnica baseia-se na imersão do substrato em solução de composição química e pH semelhantes ao plasma sanguíneo e temperatura igual a do corpo. Com este método tornou-se possível recobrir com fosfato de cálcio a superfície de materiais com geometrias complexas e/ou sensíveis a altas temperaturas<sup>1,6</sup>.

Para Yang e colabs.<sup>52</sup> o tratamento biomimético teria efeito positivo sobre a ancoragem óssea no período inicial pós-implante, aumentando a osseocondutividade e beneficiando a osseointegração .

## *Revisão da Literatura*

## *Revisão da Literatura*

### *1. Titânio e suas ligas*

Em 1791, o reverendo, mineralogista e químico britânico William Gregor foi o primeiro a descobrir a existência do titânio. Quatro anos mais tarde, Martin Klaproth, um químico de Berlim, isolou o óxido desse metal. A história dos filhos de Urano e Gaia, os Titans da mitologia grega, inspirou Klaproth a nomear o novo elemento de titânio. Os Titans, odiados por seu pai, foram presos na crosta da terra de maneira semelhante ao minério que é de difícil extração. Foram necessários mais de 100 anos para que Mathew Albert Hunter isolasse o metal em 1910, com teor de 99% pela redução de cloreto de titânio com sódio em um recipiente de aço<sup>22, 28</sup>.

Em 1932, Wilhelm Justin Kroll ficou conhecido como pai do titânio ao produzir quantidades significativas desse elemento combinando  $TiCl_4$  com cálcio. Após o início da Segunda Grande Guerra, já nos Estados Unidos e no Departamento de Minas demonstrou que o titânio poderia ser extraído comercialmente pela redução do  $TiCl_4$  com magnésio. Este método ainda hoje é utilizado e é conhecido como processo Kroll de refino do titânio<sup>24</sup>.

Após a Segunda Guerra, as ligas de titânio foram consideradas materiais importantes no desenvolvimento da engenharia aeronáutica. Em 1948, a Companhia DuPont foi a primeira a produzir comercialmente o material. Hoje a indústria aeroespacial é ainda a principal consumidora do titânio e de suas ligas, mas esse metal também é utilizado em outras áreas, tais como arquitetura, indústria química e medicina. As primeiras ligas, incluindo a clássica Ti-6Al-4V, foram desenvolvidas a partir dos anos 1940 nos Estados Unidos<sup>24</sup>.

A produção de titânio envolve níveis de complexidade elevados pela alta reatividade desse elemento com o oxigênio, o nitrogênio, o hidrogênio e o carbono. Como

a presença de pequenas quantidades desses elementos intersticiais provoca quedas acentuadas na ductilidade e na tenacidade do titânio, a fusão do titânio sob atmosfera normal ou em cadinhos constituídos de óxidos é inviável. Em geral, tal processamento é executado em atmosfera de argônio e em cadinhos de cobre submetidos à refrigeração por circulação de água. A Tabela 1 mostra as propriedades e características do titânio segundo Leyens, Peters<sup>29</sup>.

Tabela 1 - Propriedades e características do titânio (Leyens, Peters<sup>29</sup>)

Propriedades e Características do Titânio	
Número Atômico	22
Peso Atômico	47.90
Parâmetros de rede	a = 2,9504 ± 0,0004 (Å)
Ti- α	c = 4,6832 ± 0,0004 (Å)
Ti-β	a = 3,28 ± 0,003 (Å)
Coefficiente de expansão térmica α (20°C)	8,36x10 <sup>-6</sup> K <sup>-1</sup>
Condutividade térmica	14,99 W/mK
Calor específico	523 J/kgK
Resistência elétrica	564,9.10 <sup>-9</sup> Ωm
Módulo de elasticidade α	115 Gpa
Módulo de cisalhamento α	44 Gpa
Razão de Poisson α	0,33
Densidade	4.45g/cm <sup>3</sup>
Ponto de Fusão	1.668°C

O titânio pode cristalizar-se de acordo com dois tipos de estruturas cristalinas e cada modificação é estável em uma faixa particular de temperatura. A completa transformação de uma estrutura cristalina para outra é chamada transformação alotrópica e a respectiva temperatura é chamada temperatura transus<sup>3,22,24</sup>.

O titânio puro cristaliza-se em baixas temperaturas de acordo com a estrutura hexagonal compacta, denominada de fase α. Acima de 882,5 °C (temperatura β-transus), a estrutura cristalina estável é a cúbica de corpo centrado, chamada de fase β<sup>28</sup>.

A existência dessas duas diferentes estruturas cristalinas e da temperatura de transformação é de fundamental importância na metalurgia do titânio, uma vez que formam as bases para a compreensão e modificação da variedade de propriedades das ligas de titânio<sup>1</sup>.

Em sistemas metálicos, a deformação elástica e plástica, bem como a difusão atômica estão intimamente relacionadas com a estrutura cristalina do material. No caso do titânio, a estrutura hexagonal compacta pode produzir anisotropia elástica. O módulo de Young dessa fase (fase  $\alpha$ ) varia de 145 GPa para um carregamento normal ao plano basal, para 100 GPa para o carregamento paralelo a este plano. De todos os arranjos atômicos possíveis existem três tipos mais comuns, que referem-se às estruturas HC, CCC e CFC. Geralmente, a facilidade de deformação plástica de materiais metálicos aumenta da estrutura hexagonal compacta (HC) para a cúbica de corpo centrado (CCC) e depois para a cúbica de face centrada (CFC)<sup>3,30-32</sup>.

Esse fenômeno explica o reduzido nível de deformação plástica do titânio tipo  $\alpha$  em relação ao titânio tipo  $\beta$ . O número de sistemas de planos de escorregamento, que é equivalente à capacidade de movimentação de discordâncias na rede cristalina, é de apenas três para a estrutura hexagonal compacta e de doze para a estrutura cúbica de corpo centrado. O número de sistemas de planos de escorregamento é determinado pelo número de planos de escorregamento multiplicado pelas direções compactas nesses planos. Esses planos e direções com alta densidade atômica são energeticamente favoráveis à deformação plástica. Quanto mais denso o plano de escorregamento, mais fácil será a movimentação das discordâncias nele. Por essa razão, o plano de escorregamento da estrutura hexagonal compacta com densidade de átomos de 91% deveria ser superior ao plano de escorregamento da estrutura cúbica de corpo centrado com densidade de 83%. Entretanto, a energia necessária para a deformação plástica é também diretamente dependente do comprimento da distância entre os planos de escorregamento. Para a estrutura HC, a distância mínima do plano de escorregamento corresponde a  $b_{\min} = 1 a$ , enquanto para a estrutura CCC esta distância corresponde a  $b_{\min} = 0,87 a$ , onde  $a$  é o parâmetro de rede correspondente a cada célula unitária. Isto favorece a estrutura CCC quanto à deformação plástica em relação à estrutura hexagonal. Para o titânio do tipo  $\alpha$ , os parâmetros de rede são  $a = 0,295 \text{ nm}$  e  $c = 0,468 \text{ nm}$ , com a razão  $c/a$

= 1,587. O parâmetro de rede para o titânio do tipo  $\beta$  à temperatura de 900°C é para alfa com valor de 0,332 nm .

A adição de elementos intersticiais, como o carbono, o oxigênio ou o nitrogênio, na rede hexagonal ou a incorporação de átomos substitucionais de raio atômico menor do que o do titânio como o alumínio, causa um pequeno aumento na razão c/a do titânio do tipo  $\alpha$ . De acordo com o critério von-Mises, pelo menos 5 sistemas independentes de planos de escorregamento são necessários para a deformação plástica homogênea de metais. De fato, o titânio  $\alpha$  dificilmente sofre deformação plástica. A baixa ductilidade que é observada é resultado da deformação adicional dos sistemas de escorregamento secundários, assim como a possível maclação. Em relação à difusividade, o alto nível de empacotamento da estrutura HC resulta em baixa movimentação atômica por difusão quando comparada à estrutura CCC <sup>3, 22</sup>.

As propriedades das ligas de titânio são essencialmente determinadas por dois fatores: a composição química e a microestrutura. A temperatura de transformação em ligas de titânio é função do teor de elementos de liga, bem como é fortemente influenciada pela presença de elementos intersticiais. Dependendo da influência sobre a temperatura  $\beta$ -transus o elemento de liga pode ser classificado como neutro,  $\alpha$ -estabilizador ou  $\beta$ -estabilizador. Elementos que reduzem tal temperatura são definidos como  $\beta$ -estabilizadores, caso elevem a mesma são chamados de  $\alpha$ -estabilizadores e finalmente, caso não alterem essa temperatura são classificados como neutros. Em adição, elementos  $\beta$ -estabilizadores podem ser classificados como  $\beta$ -isomorfos ou  $\beta$ -eutetóides, de acordo com a natureza do diagrama formado <sup>3,25,34,35</sup>.

Em equilíbrio, a composição química das ligas de titânio é a principal variável na determinação das propriedades das ligas e das frações volumétricas das fases  $\alpha$  e  $\beta$ . A fase  $\alpha$  é menos dúctil que a estrutura cúbica de corpo centrado da fase  $\beta$  devido à capacidade limitada de deformação da estrutura cristalina hexagonal compacta, fase  $\alpha$ . Por outro lado, a estrutura mais compacta da fase  $\alpha$  resulta em difusividade atômica muito

inferior ao da fase  $\beta^3$ . Em termos de elementos de liga, os metais simples dos grupos III A e IV A (por exemplo Al e Ga) e os elementos intersticiais (B, C, O e N) são classificados como elementos  $\alpha$ -estabilizadores. Metais como o Nb, V, Ta e Fe são classificados como elementos  $\beta$ -estabilizadores. Finalmente, os metais Zr e Sn são classificados como elementos neutros <sup>3</sup>.

Uma classificação mais ampla das ligas de titânio é feita com referência às linhas de transformação martensítica inicial ( $M_i$ ) e final ( $M_f$ ), que são, geralmente, muito próximas ou quase coincidentes. Assim, as ligas de titânio podem ser divididas em cinco classes, sempre relacionadas com a retenção de fases à temperatura ambiente, que são: ligas  $\alpha$ , ligas near- $\alpha$ , ligas  $\alpha+\beta$ , ligas  $\beta$ -metaestável, ligas  $\beta$  <sup>12,16,22</sup>.

O grupo de ligas denominadas ligas  $\alpha$  consiste em titânio de vários graus de pureza comercial e ligas  $\alpha$  sob recozimento bem abaixo da temperatura  $\beta$ -transus contendo somente pequenas quantidades de fase  $\beta$  (2-5 % em volume) resultantes da adição de elementos  $\beta$  estabilizadores. (Lütjering, 1998). A fase  $\beta$  é útil não só no controle do tamanho de grão da fase  $\alpha$  recristalizada como também na tolerância dessa liga ao hidrogênio. Essas ligas contêm também quantidades bem definidas de elementos que apresentam solubilidade limitada tal como o Fe, o V e o Mo <sup>12,16,22</sup>.

A tabela 2 descreve algumas ligas do tipo  $\alpha$ , onde os graus de pureza apresentados foram definidos pela American Society for Testing and Materials (ASTM). Para quatro diferentes graus de pureza do titânio comercialmente puro encontram-se diferentes teores de oxigênio presente. Essas quantidades variam de 0,18% em peso para o titânio de grau 1 até 0,40% em peso para o de grau 4. As duas ligas Ti-0,2Pd e Ti-0,3Mo-0,8Ni oferecem resistência à corrosão mais alta do que o Ti-CP. Suas designações mais comuns são Ti-CP grau 7 e Ti-CP grau 12, respectivamente e seus limites de quantidade de Fe e O são idênticos à liga Ti-CP grau 2. O mais importante e extensamente estudado diagrama de fase do titânio é o do sistema Ti-Al. Além das fases  $\alpha$  e  $\beta$  existem algumas fases intermetálicas presentes como a  $\alpha_2$ -Ti<sub>3</sub>Al,  $\gamma$ -TiAl, TiAl<sub>2</sub> e TiAl<sub>3</sub>. Dessas, apenas os

compostos  $\alpha_2$ -Ti<sub>3</sub>Al e  $\gamma$ -TiAl são relevantes atualmente, uma vez que os compostos TiAl<sub>2</sub> e TiAl<sub>3</sub> são extremamente frágeis <sup>12,16,22</sup>.

A resistência à fluência e à oxidação aumenta com o aumento da quantidade de alumínio nessas ligas, enquanto simultaneamente a ductilidade, a capacidade de deformação e a resistência à corrosão se deterioram. Conseqüentemente, deve haver um cuidado especial no desenvolvimento de ligas com altos teores de alumínio <sup>11-13</sup>.

Em geral, a literatura indica <sup>2,3,4,11-13,16,22</sup> que esse teor não deve ultrapassar 9% em peso para que não haja precipitação da fase intermetálica Ti<sub>3</sub>Al, responsável pela fragilização da liga. Em alguns casos, esse teor máximo de Al pode ser ultrapassado, principalmente quando se deseja obter algumas propriedades típicas dos compostos intermetálicos  $\alpha_2$ -Ti<sub>3</sub>Al e  $\gamma$ -TiAl.

Em alguns casos, esse teor máximo de alumínio pode ser ultrapassado, principalmente quando se deseja obter algumas propriedades típicas dos compostos intermetálicos  $\alpha_2$ -Ti<sub>3</sub>Al e  $\gamma$ -TiAl. A presença de elementos estabilizadores da fase  $\alpha$  como soluto na matriz de titânio eleva as linhas de transformação  $\alpha/\alpha+\beta$  e  $\alpha+\beta/\beta$ , fazendo com que mesmo que a liga seja resfriada no campo  $\alpha+\beta$ , a porção de fase verificada esteja sempre à esquerda da linha Mi/Mf à temperatura ambiente, sendo então, termodinamicamente instável, transformando-se em  $\alpha$  <sup>13,16</sup>.

A presença de elementos estabilizadores da fase  $\alpha$  como soluto na matriz de titânio eleva as linhas de transformação  $\alpha/\alpha+\beta$  e  $\alpha+\beta/\beta$ , fazendo com que mesmo que a liga seja resfriada no campo  $\alpha+\beta$ , a porção de fase verificada esteja sempre à esquerda da linha Mi/Mf à temperatura ambiente, sendo então, termodinamicamente instável, transformando-se em  $\alpha$  <sup>13</sup>. Por sua vez, as ligas de titânio do tipo near- $\alpha$  são ligas  $\alpha$  que possuem pequenos teores elementos  $\beta$  estabilizadores. A presença de elementos estabilizadores da fase  $\beta$  na liga  $\alpha$ , mesmo em pequenas quantidades, faz com que o campo  $\alpha+\beta$  aumente o suficiente para permitir que uma pequena quantidade de fase  $\beta$ , em

equilíbrio metaestável, possa ficar retida em temperatura ambiente, permitindo dessa maneira que transformação martensítica da fase  $\beta$  ocorra dentro de uma faixa muito limitada, obtida através das altas taxas de resfriamento, a partir do campo  $\alpha+\beta$ <sup>13</sup>.

Tabela 2 - Ligas de titânio do tipo  $\alpha$  comercialmente utilizadas.

Designação	Composição (% peso)	$T_{\beta}$ (°C)
<b>Grau 1</b>	Ti-CP (0,2Fe; 0,18O)	890
<b>Grau 2</b>	Ti-CP (0,3; 0,25°)	915
<b>Grau 3</b>	Ti-CP (0,3Fe; 0,35O)	920
<b>Grau 4</b>	Ti-CP (0,5Fe; 0,40O)	950
<b>Grau 7</b>	Ti-0,2Pd	915
<b>Grau 12</b>	Ti-0,3Mo-0,8Ni	880
<b>Ti-5-2,5</b>	Ti-5Al-2,5Sn	1040
<b>Ti-3-2,5</b>	Ti-3Al-2,5V	935

Esta classe de ligas é ideal para aplicações em altas temperaturas devido à combinação do excelente comportamento à fluência, próprio de ligas  $\alpha$ , com a alta resistência mecânica das ligas  $\alpha+\beta$ . A liga Ti-8Al-1Mo-1V foi a primeira liga desenvolvida para o uso em altas temperaturas. Outro exemplo é a liga Ti-6Al-2Sn-4Zr-2Mo, desenvolvida pela Titanium Metals Corporation (Timet). Na década de 70, adições da ordem de 0,1% em peso de Si melhoraram substancialmente o comportamento à fluência dessa última liga. As pesquisas indicaram que o Si poderia precipitar-se em altas temperaturas junto às discordâncias, impedindo o deslocamento cruzado das mesmas e conseqüentemente, dificultando a deformação plástica. Desde então, todas as novas ligas de titânio para altas temperaturas possuem teores próximos a 0,5 % em peso de Si<sup>13,16</sup>.

As ligas  $\alpha+\beta$  contêm um ou mais elementos  $\alpha$ -estabilizadores adicionados a um ou mais elementos  $\beta$ -estabilizadores<sup>8</sup>. Estas ligas são formuladas de tal forma que a fase  $\alpha$  (hexagonal compacta) e a fase  $\beta$  (cúbica de corpo centrado) co-existam à temperatura ambiente com quantidades de fase  $\beta$  entre 10 e 50% em volume<sup>12</sup>.

Dentre todas as ligas de titânio, a liga Ti-6Al-4V é a mais utilizada atualmente. Essa liga foi desenvolvida na década de 50 pelo Instituto de Tecnologia de Illinois, EUA. Devido à combinação de ótimas propriedades mecânicas essa liga foi largamente testada e estudada, inicialmente para uso na indústria aeroespacial. Outras ligas do tipo  $\alpha+\beta$  foram desenvolvidas para terem alta resistência, como por exemplo a liga Ti-6Al-6V-2Sn e a Ti-4Al-4Mo-2Sn-0,5Si. Outras ligas como a Ti-6Al-2Sn-2Zr-2Mo-2Cr-0,25Si e a Ti-5Al-2Sn-2Zr-4Mo-4Cr foram desenvolvidas para aplicações em máquinas térmicas que operam em temperaturas acima dos 400°C<sup>12,13</sup>.

Quando o teor de elementos  $\beta$ -estabilizadores ( $\beta$ -isomorfos e  $\beta$ -eutetóides) é suficientemente elevado, a fase  $\beta$  não se transforma em martensita sob resfriamento rápido, o que resulta em uma liga constituída essencialmente pela fase  $\beta$ . Em condições de equilíbrio, as ligas  $\beta$ -metaestáveis podem apresentar fração volumétrica de fase  $\alpha$  superior a 50%. Os elementos  $\beta$ -isomorfos mais freqüentemente utilizados em ligas de titânio são V, Mo, Nb, Ta. Concentrações suficientes desses elementos tornam possível a estabilização da fase  $\beta$  em temperatura ambiente, de sorte que 35% em peso desse elemento de liga permite estabilizar completamente a fase  $\beta$  à temperatura ambiente, desde que um resfriamento rápido a partir do campo  $\beta$  seja imposto<sup>22,23</sup>.

As ligas de titânio do tipo  $\beta$  correspondem à classe de ligas mais versáteis em relação ao processamento, microestrutura e propriedades mecânicas. Estas ligas incluem a  $\beta$ ,  $\beta$ -metaestável e a  $\alpha+\beta$  rica em fase  $\beta$  e são utilizadas na indústria aeroespacial, materiais esportivos, indústria automotiva e aplicações ortodônticas e ortopédicas, com grande sucesso graças ao desenvolvimento apropriado das condições de processamento. Otimizações sistemáticas entre o processamento termo-mecânico, a microestrutura e as propriedades resultantes aumentam significativamente a janela de processamento dessas ligas. Fora do equilíbrio, isto é, para altas taxas de resfriamento, a microestrutura final depende da composição química da liga e do processamento termomecânico<sup>25,35</sup>. A tabela 3 mostra, segundo Leyens, Peters<sup>29</sup> algumas das vantagens e desvantagens das ligas de

titânio do tipo  $\beta$  em relação às ligas  $\alpha+\beta$ . Para as ligas  $\beta$ , as fases metaestáveis possíveis são: a matriz  $\beta$ , a fase  $\alpha$  e suas variantes e a fase  $\omega$  atérmica ou isotérmica. Delvat e colabs.<sup>11</sup> estudaram as propriedades físicas e biológicas de ligas à base de Ti-Mo e Ti-Ta-Mo e concluíram que ambas apresentaram excelente ductilidade e citocompatibilidade.

Lee e colabs.<sup>23</sup> estudaram o comportamento mecânico da liga Ti-15 Mo-5 Zr-3 Al e observaram que a precipitação da fase alfa é responsável pela fratura por tensão.

Tabela 3. Vantagens e desvantagens das ligas de titânio do tipo  $\beta$  quando comparadas às ligas  $\alpha+\beta$  (Leyens, Peters<sup>29</sup>)

Vantagens	Desvantagens
- alta razão resistência/densidade	- alta densidade
- baixo modulo de elasticidade	- absorção de impurezas intersticiais
- alta resistência, alta tenacidade	- propriedades ruins em altas temperaturas
- boa temperabilidade	- alto custo de produção
- baixa temperatura de forjamento	- problemas de segregação
- baixo custo de processamento mecânico (algumas ligas)	- alto retorno elástico
- conformável a frio (algumas ligas)	- instabilidades microestruturais
- tratável termicamente com facilidade	- baixa resistência à corrosão (algumas ligas)
- excelente resistência à corrosão (algumas ligas)	
- excelente resistência à combustão (algumas ligas)	

Shen e colabs.<sup>40</sup> relataram que a adesão de *Streptococcus mutans* causa corrosão na superfície de ligas de titânio polidas mecanicamente ou eletroquimicamente.

Kumar & Narayanan<sup>24</sup> determinaram o potencial de corrosão da liga Ti-15Mo em solução de cloreto de sódio 0.15M contendo íons flúor em concentrações variadas (190, 570, 1140 e 9500 ppm) utilizando polarização potenciodinâmica, espectroscopia de impedância eletroquímica e corrente cronoamperométrica. Concluíram que embora a liga

tenha apresentado ativa dissolução, a porção exposta do implante dentário na cavidade bucal é tão pequena que, a pequena quantidade de íons de molibdênio liberada no meio bucal, não comprometem a aceitação biológica da liga.

Oliveira, Guastaldi<sup>35</sup> caracterizaram o comportamento eletroquímico de ligas de TiCp e TiMo (6-20%) em meio eletrolítico fisiológico simulado. Concluíram que a adição de molibdênio ao titânio comercialmente puro aumenta as características de proteção do filme de óxido espontaneamente formado, sugerindo que esta associação permita o uso de material promissor na construção de dispositivos ortopédicos, uma vez que a estabilidade eletroquímica está diretamente associada com a biocompatibilidade, condição necessária à aplicação de um material em sítios biológicos.

Lee e colabs.<sup>27</sup> compararam as ligas Ti-15Mo-1Bi e Ti-6Al-4V em testes in vitro e in vivo e observaram maior osseointegração e menor efeito citotóxico na liga contendo molibdênio e bismuto.

Takemoto e colabs.<sup>43</sup> estudaram a influência do conteúdo de cromo na reação de superfície de ligas de TiCr imersas em solução salina contendo flúor. Seus resultados permitiram concluir que a presença do cromo aumentou a resistência à corrosão.

Zhang e colabs.<sup>53</sup> avaliando comparativamente a resistência à corrosão de ligas de TiAg e TiCp (comercialmente puro) por método de polarização potenciodinâmica concluíram que a adição de prata foi efetiva na redução da densidade da corrente de corrosão, aumentando o potencial de circuito aberto do titânio em ambiente de saliva artificial. A adição de íons flúor à solução reduziu severamente a resistência à corrosão das ligas de TiAg.

## *2. Tratamentos da superfície do titânio /Tratamentos com hidróxido de cálcio e fosfatos*

A capacidade de alguns materiais cerâmicos, entre eles os fosfatos de cálcio, de se ligarem aos tecidos ósseos é atribuída às propriedades de seus componentes CaO (óxido de cálcio) e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (óxido de fósforo). Por conseguinte, pode-se esperar que com o

enriquecimento da camada de óxido da superfície do titânio com óxido de cálcio (CaO) e (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) é possível aumentar a capacidade de haver a nucleação do fosfato de cálcio. Análise de espectroscopia de fotoelétrons de raio X do cálcio implantado no titânio revelou que o cálcio implantado possui a forma de óxido de cálcio (CaO), enquanto o fósforo implantado no titânio está parcialmente oxidado. Acredita-se que a implantação em dois passos, a primeira implantação com cálcio e a segunda com fósforo, permita a formação de superfície mais bioativa<sup>11</sup>. Wieser e cols.<sup>51</sup> avaliaram o efeito da implantação de cálcio e fósforo, em duas etapas, na composição química da camada da superfície do titânio e constataram que na camada havia se formado óxido de cálcio, porém não tinha fosfato de cálcio. Pham e cols.<sup>39</sup> estudaram a bioatividade do titânio sujeito a implantação de cálcio e fósforo seguido de aquecimento a 500°C em atmosfera de oxigênio. A camada de superfície obtida foi enriquecida com óxido de cálcio (CaO) e óxido de fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e, quando imersa em solução simulada de fluido corpóreo mostrou maior capacidade de nucleação da hidroxiapatita, em relação ao titânio não modificado. A implantação em dois passos de íons cálcio e fósforo sobre o titânio têm sido bem combinados com vários tratamentos de implantação com o objetivo de produzir camadas contínuas de hidroxiapatita.

Também Pham e cols.<sup>39</sup> submeteram o titânio implantado com íons ao aquecimento hidrotérmico, enquanto Baumann e cols.<sup>7</sup> realizaram a implantação de cálcio a uma temperatura de 600°C. As camadas de hidroxiapatita obtidas nos experimentos mostraram boa adesão ao substrato. Além disso, na análise de difração de raios X os anéis não definidos indicaram que a camada superficial era amorfa e, pela observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) constatou-se que as superfícies das amostras foram cobertas com precipitados, os quais não formaram camada contínua. Após imersão em SBF, as amostras apresentaram aumento no número e tamanho dos precipitados e também se observou a presença de oxigênio além de cálcio, fósforo e titânio.

Ademais, estes autores<sup>7</sup> verificaram ainda que a profundidade de penetração do oxigênio mostrou-se menor do que dos elementos implantados: profundidade de penetração do cálcio foi de aproximadamente 100nm, a do fósforo em torno de 60nm e a do oxigênio mostrou-se a menor. A concentração máxima de cálcio foi encontrada na superfície e mostrou-se constante até a profundidade de 30nm, o que sugere o local onde se realiza a reação química com o titânio. Os perfis de concentração dos elementos presentes na camada de superfície depois de expostos à solução SBF indicou que a composição da superfície da amostra foi alterada. As concentrações dos principais elementos (titânio e cálcio) diminuíram, o contrário ocorreu com as concentrações do fósforo e oxigênio. Essas mudanças podem ser atribuídas à formação de precipitados de fosfato de cálcio<sup>25</sup>. Portanto, é provável que a modificação da camada de superfície pela implantação dos íons de cálcio e de fósforo melhore a resistência à corrosão e a bioatividade do titânio. Embora as doses de cálcio e fósforo fossem as mesmas (1017 íons/cm<sup>2</sup>), a concentração de cálcio na superfície foi quatro vezes maior do que a do fósforo. A concentração de cálcio mostrou-se constante e abaixo da profundidade de aproximadamente 20nm; isso sugere que o cálcio presente na camada está na forma de composto químico. Por meio das análises em XPS (espectroscopia fotoeletrônica de raio X), mostrou-se que este composto era CaO (óxido de cálcio) e, que durante a implantação, parte do fósforo resistiu à oxidação e outra parte ocorria em forma de fosfatos.

Espera-se que a presença de óxido de cálcio (CaO) e óxido de fósforo (PO<sub>4-3</sub> ou P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) estimule a precipitação de fosfato de cálcio pela solução SBF. As avaliações da capacidade de nucleação da hidroxiapatita na superfície do titânio têm mostrado que a nucleação depende da quantidade de grupos hidroxila presentes na superfície do titânio. Hanawa e colabs. observaram que a quantidade de grupos hidroxila na superfície do titânio com cálcio implantado é maior que no titânio não-implantado. O mecanismo de formação de fosfatos de cálcio na superfície metálica de titânio ocorre em dois estágios: primeiro, há a adesão do íon fosfato da solução ligado ao grupo hidroxila através do envolvimento com

o hidrogênio e, então os íons fosfatos atraem os íons de cálcio da solução. A maior quantidade de grupos hidroxilas na superfície, o maior número de fosfato adsorvido e, por sua vez, o maior número de íons cálcio atraídos da solução têm como consequência, o aumento do número de precipitados. Quando há presença de cálcio na camada implantada, gradativamente ocorre difusão na região ao redor da solução, levando ao aumento do pH e da concentração de cálcio na superfície do titânio e, com isso ocorre a nucleação dos fosfatos de cálcio<sup>25</sup>. Por outro lado, pesquisadores também constataram que a aplicação de potenciais acima de 2,5 V expõe o cálcio implantado no titânio a “pite” de corrosão. Por essa razão, começou-se a implantar fósforo, o qual é um constituinte dos fosfatos.

Ferdjani e colabs.<sup>15</sup> avaliaram a distribuição do fósforo na camada implantada com dose de  $5 \times 10^{16}$  P<sup>+</sup>/cm<sup>2</sup> e energia de 130 keV. Observaram que os átomos de fósforo ocupam os sítios intersticiais nessa camada. O efeito da implantação do íon fósforo na superfície do titânio sobre a composição química da camada implantada foi avaliado através de amostras implantadas com doses de  $1 \times 10^{15}$  a  $3 \times 10^{17}$  P<sup>+</sup>/cm<sup>2</sup> com uma energia de 20 keV.

Observaram que em doses abaixo de  $10^{16}$ , o fósforo não apresenta reação química com o titânio, enquanto que em doses equivalentes e acima de  $10^{17}$  P<sup>+</sup>/cm<sup>2</sup>, há formação de uma nova fase de fosfato de titânio (TiP). A quantidade da fase fosfato de titânio aumentou de acordo com o acréscimo da dose de fósforo. Os efeitos da energia do íon fósforo e a dose de fósforo na composição química, além da estrutura da camada implantada na superfície foram analisados por Wieser e colabs.<sup>51</sup> Seus parâmetros para a implantação foram de  $3 \times 10^{17}$  P<sup>+</sup>/cm<sup>2</sup> com energia de keV e  $5 \times 10^{17}$  P<sup>+</sup>/cm<sup>2</sup> com energia de 195 keV. A espessura da camada implantada era de 60nm com energia de 30 keV e, 250nm com energia de 195 keV. Pela análise de difração de raio X, não se identificou compostos químicos de fósforo, mas sim uma camada superficial parcialmente amorfa<sup>25</sup> Barrere e colabs.<sup>6</sup> investigaram a cinética da liberação de gás carbônico/óxido de carbono

(CO<sub>2</sub>) em relação à composição de SBF fator 5 (SBFx5) e a formação da camada de fosfato de cálcio (CaP). Quanto à intensidade iônica ou os íons anfóteros observaram que afetam a solubilidade do gás, influenciam as quantidades de cloreto de sódio e bicarbonatos na liberação de CO<sub>2</sub> (gás carbônico). Estes mesmos autores também estudaram o efeito das alterações individuais na concentração de cloreto de sódio (NaCl) ou ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) em relação à formação de fosfato de cálcio (CaP) imersa em solução e nas amostras da liga de titânio (Ti-6Al-4V).

Barrere e colabs.<sup>6</sup> prepararam diversos fluidos corpóreos simulados, mudando as concentrações salinas. Todas as soluções foram derivadas da solução clássica proposta por Kokubo e Takadaman<sup>23</sup> na qual as concentrações iônicas foram multiplicadas por 5. O ponto inicial do experimento ocorre quando o gás carbônico (CO<sub>2</sub>) interrompe a formação de borbulhas (t=0 h). Todos os experimentos foram avaliados em reator com termostato a 37°C e imersão de 24 horas. As soluções foram agitadas com imã magnético. A formação da camada de fosfato de cálcio (CaP) nas soluções SBF altamente concentradas, depende dos mecanismos de liberação do gás carbônico (CO<sub>2</sub>), a qual depende da quantidade de ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) e da intensidade iônica na solução devido à quantidade de NaCl. Com base nas curvas de pH x tempo para as várias soluções, observou-se que no caso da solução com cloreto de sódio o pH inicial foi de 4,06 a 3,75, enquanto que nos casos da solução com menos cloreto de sódio o pH inicial foi maior, sendo 6,29 a 5,99. Essa diferença de pH foi devido à capacidade do ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) borbulhar. Aumentando a quantidade de ácido carbônico os valores iniciais e finais de pH foram maiores. Portanto, o pH inicial foi ligeiramente menor quando a solução continha mais cloreto de sódio (NaCl). Com isto, houve maior solubilidade do gás CO<sub>2</sub> para alta intensidade iônica. A precipitação de Ca e P indica o limite de solubilidade ou saturação das soluções SBFx5, as quais possuem diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) e carbonato ácido de sódio (NaHCO<sub>3</sub>). Com a observação visual da precipitação em várias soluções SBFx5, pode-se definir três grupos. Primeiro, no caso da solução livre de

cloreto de sódio (NaCl), a precipitação ocorre imediatamente no final da adição de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) em pH igual a 6. Segundo, a precipitação ocorre em pH igual a 6,8 no caso de menor percentual de cloreto de sódio (NaCl) e soluções contendo ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) SBFx5 (NaClx3) e SBFx5 (HCO<sub>3</sub>-x3) e, no caso de solução SBFx5 regular. Terceiro, no caso da solução ser livre de ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) a precipitação ocorre em pH igual a 6,2. As quantidades de cloreto de sódio (NaCl) e ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) afetam a cinética da precipitação e a estrutura precipitada. A respeito da influência de cloreto de sódio (NaCl), isto é, a intensidade iônica, as soluções referência mostraram que a quantidade de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) é quase igual à intensidade iônica. Portanto, no início dos experimentos, as soluções gasosas SBFx5 possuem maior concentração de cloreto de sódio (NaCl) que as outras soluções calcificantes.

Assim, com menor intensidade iônica, o número de sítios de nucleação presentes na solução é maior. O aumento no número de sítios de nucleação obviamente aumenta a precipitação de fosfato de cálcio (CaP) na solução. Barrere e colabs. concluíram que o uso de gás acidífero em solução de fluido corpóreo simulado altamente concentrado permite a formação de camada de fosfato de cálcio em liga Ti-6Al-4V em tempo inferior a 24 horas. Esse método biomimético impede o tratamento da superfície do titânio. A cinética da deposição da camada é influenciada pela intensidade iônica da solução e, por isso controla a liberação de gás carbônico e perfil do pH. Portanto, a intensidade iônica e a precipitação lenta de fosfato de cálcio na solução SBFx5 favorece a nucleação de fosfato de cálcio (CaP) na liga Ti-6Al-4V. Além disso, a presença de ácido carbônico (HCO<sub>3</sub>) reduz o tamanho do cristal de apatita da camada, permitindo um melhor ataque ao substrato Ti-6Al-4V. Após experimentos, dois importantes parâmetros podem ser realçados no processo de formação do CaP biomimético das soluções SBFx5. Primeiro, a precipitação na solução deve ser demorada para favorecer a nucleação heterogênea no Ti-6Al-4V. Segundo, partículas de fosfato de cálcio (CaP) depositadas no substrato devem ter tamanho nanométrico para permanecer fisicamente aderida à liga Ti-6Al-4V.

### 3. Métodos mecânicos

Entre os métodos mecânicos de modificação das superfícies estão a usinagem, moagem, polimento, moldagem, ou a remoção de materiais superficiais. O objetivo da modificação mecânica é o de obter topografias e rugosidade superficial (tabela 4) específicas, remover contaminação da superfície e melhorar a aderência<sup>26,50</sup>.

A usinagem dos implantes provoca uma aspereza superficial, diferente da superfície lisa ou polida e é determinante na formação da superfície não tratada, porém a maioria dos implantes de titânio tem sua superfície posteriormente tratada por diferentes métodos, a fim de torná-la bioativa<sup>10</sup>.

### 4. Métodos físicos

Durante alguns processos de modificação da superfície, tais como deposição física a vapor e a aspersão térmica, não ocorrem reações químicas. Neste caso, a formação da camada de superfície modificada, filmes ou revestimentos em titânio e suas ligas são atribuídos principalmente à energia térmica, cinética e elétrica (escada)

No processo de deposição física a vapor (PVD) ocorre o crescimento do filme pela reação entre um substrato e uma superfície de vapor adjacente, que fornece o material de revestimento na forma de átomos, moléculas ou íons, gerados a partir de um alvo. Este processo se caracteriza pela alta densidade do revestimento, forte adesão ao substrato, formação de uma camada com múltiplos componentes, e pode ser feito com resistência de aquecimento, feixe de elétrons, laser ou descarga elétrica no vácuo. Na deposição física a vapor, estão incluídos os processos de evaporação, desintegração do catodo e eletrodeposição<sup>30</sup>.

A aspersão térmica (AT) consiste na deposição de camadas metálicas ou não metálicas, sobre uma superfície previamente preparada. Esses materiais de revestimento são fundidos em uma fonte de calor gerada pela combustão de gases, arco elétrico ou plasma e revestidos com o substrato em alta velocidade.

## 5. Métodos químicos

São considerados métodos químicos as modificações bioquímicas, deposição sol-gel (SG), deposição de vapor químico (CVD) e os tratamentos químicos e eletroquímicos (oxidação anódica).

A deposição de vapor químico é um processo que envolve reações químicas entre as substâncias químicas na fase gasosa e a superfície da amostra resultando na deposição de um composto não volátil sobre o substrato. Por outro lado, no processo sol-gel, reações químicas não ocorrem na interface entre a superfície da amostra e da solução ou gel, mas sim na solução<sup>31</sup>.

Durante os tratamentos químicos, eletroquímicos e modificações bioquímicas, na interface entre o titânio e uma solução, ocorrem reações químicas, eletroquímicas e químicas, respectivamente. Os tratamentos químicos podem ser à base de peróxido de hidrogênio, tratamentos ácidos ou alcalinos.

Peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um importante componente oxidante por curar lesões no corpo. Assim é importante investigar a interação entre implante e  $H_2O_2$ . No caso de titânio, é muito interessante a supões-se que alguns radicais de hidroxila (os agentes potentes para deterioração celular) se formam da interação com  $H_2O_2$ .

Superfícies de titânio têm mostrado reagir com  $H_2O_2$  produzindo gel de peróxido de hidrogênio. A interação titânio /  $H_2O_2$  funciona como pré-tratamento para precipitação de apatita e resulta na formação de uma camada amorfa de gel de titânia na superfície do titânio, a qual pode melhorar a bioatividade de implante de titânio, induzindo a formação de apatita quando imersa em fluido corpóreo simulado (SBF)<sup>38</sup>.

Segundo Wang e colabs.<sup>47</sup> a espessura da camada de gel de titânia depende da duração do tratamento químico. Um tempo reduzido de tratamentos químicos rende uma fina camada de gel com maior porosidade, porém camadas espessas permitem a deposição de uma maior quantidade de apatita, após imersão em SBF por período de 1 dia.

Após a imersão durante 2 dias, as superfícies das amostras são cobertas quase

Tabela 4 - Métodos de tratamentos superficiais em implantes de titânio e suas ligas (Adaptado de LIU e colabs.<sup>31</sup>)

Tratamentos superficiais	Camadas modificadas	Objetivo
<b>Métodos Mecânicos</b> Usinagem Moagem Polimento Moldagem	Superfícies ásperas ou lisas formadas por processos de subtração	Obter topografias/rugosidade superficial específicas; remover contaminação da superfície; melhorar a aderência
<b>Métodos Físicos</b> <b>Aspersão térmica</b> Spray de chama Plasma Spray HVOF  <b>Deposição física a vapor (PVD)</b> Evaporação Revestimento iônico Sputtering  <i>Beam-line ion</i> Implantação  <b>Tratamento por descarga de plasma</b>	Recobrimentos com filmes de HA, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> e TiO <sub>2</sub> como feitos em titânio (≈ 30 μm a 200 μm).  Filmes finos (≈ 1 μm). TiN, TiC e TiCN, diamante e carbono diamante  ≈ 10 μm de camada superficial modificada ou ≈ 1 μm de filme fino  ≈ 1 nm a 100 nm de camada superficial modificada	Melhora resistência a corrosão, ao desgaste e propriedades biológicas  Resistência a corrosão, ao desgaste e biocompatibilidade sanguínea  Modificação da composição superficial melhora resistência a corrosão, e ao desgaste.  Limpa e esteriliza superfícies. Remove camada de óxido
<b>Métodos Químicos</b> <b>Tratamento químico</b> Tratamento ácido  Tratamento alcalino  Tratamento com peróxido De hidrogênio  <b>Sol-gel</b>  <b>Oxidação anódica</b>  <b>Deposição química a vapor (CVD)</b>  <b>Modificações bioquímicas</b>	Camada superficial de óxido (<10 nm)  Gel de titanato de sódio (≈ 5 μm)  Camada de óxido (≈ 5 nm). Internamente densa Externamente porosa  Filmes fino (≈ 10 μm). Fosfato de cálcio, sílica ou TiO <sub>2</sub>  Camada de 10 μm a 40 nm. Incorporação e deposição de íons elétricos  Filmes finos (≈ 1 μm). TiN, TiC e TiCN, diamante e carbono diamante  Modificação fotoquímica, resistência a proteínas e auto-Montagem de monocamadas	Remoção de camadas óxidas  Melhora da biocompatibilidade, bioatividade e condutividade óssea.  Melhora da biocompatibilidade, bioatividade e condutividade Óssea.  Melhora da biocompatibilidade, bioatividade e condutividade Óssea.  Produz topografias específicas; melhora a resistência a corrosão.  Resistência a corrosão, ao desgaste e biocompatibilidade sanguínea.  Indução de resposta celular específica imobilizando peptídeos, proteínas e fatores de crescimento.

completamente com apatita, independente das densidades das camadas de gel de titânio<sup>47</sup>.

O tratamento ácido tem como objetivo a remoção de óxidos e obtenção de acabamentos superficiais limpos e uniformes. Quando comparados em sua eficácia na descontaminação,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{HCl}$ , responde pela facilidade na dissolução dos sais de titânio, sem fragilização da superfície. Condições ácidas geralmente levam a uma fina camada de  $\text{TiO}_2$  (<10 nm), no entanto resíduos provenientes de soluções de decapagem são freqüentemente observados. Também é sabido que alguns tratamentos podem levar à incorporação de hidrogênio na região abaixo da superfície de óxido<sup>44,46</sup>.

Além disso, o tratamento ácido foi usado diversas vezes para combinar outros métodos de tratamento para melhorar as propriedades de titânio e suas ligas. Wen e colabs.<sup>48</sup> mostraram que a bioatividade da liga Ti pode ser melhorada empregando-se duas etapas de tratamentos químicos, com  $\text{HCl}$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , respectivamente, seguido de imersão em uma solução alcalina.

Diniz e colabs.<sup>12</sup> demonstraram a importância do tratamento superficial com  $\text{HF}$  a 4% e  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 8% em placas de titânio, após o processo de jateamento com alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) para a homogeneização da superfície. Estas soluções retiraram os resíduos de alumina fixadas na superfície do substrato e possibilitaram a suavização da topografia.

## ***6. Tratamento alcalino***

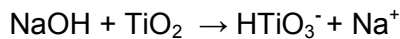
Os tratamentos alcalinos e térmicos foram empregados pela primeira vez por Kim e colabs.<sup>21</sup> para melhorar a bioatividade de biomateriais metálicos. Ao submeterem titânio CP a uma solução de  $\text{NaOH}$  (5M) a 60°C, durante 24 horas, seguido de um tratamento térmico a 600°C por 1 hora, os autores observaram a formação de uma camada de titanato de sódio microporosa. Quando implantados *in vivo*, essa camada de titanato de sódio estimula a formação de uma camada de apatita biologicamente ativa, capaz de se ligar ao osso.

Nessa técnica, inicialmente as amostras são imersas em solução de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) a 5 ou 10 M por 24 horas, seguido de lavagem em água destilada e limpeza em ultra-som por 5 minutos e depois secas em estufa a 40° C por 24 horas. Finalmente as

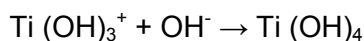
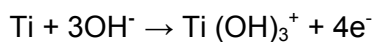
amostras são aquecidas entre 600 - 800°C por 1 hora, a uma pressão de  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$  Torr, devido à forte tendência de oxidação do titânio<sup>19,21,27,28</sup>. Após os tratamentos, verifica-se a formação de uma estrutura porosa de titanato de sódio sobre a superfície do titânio conforme observado por Nishiguchi e colabs.<sup>34</sup>.

Segundo Lee e colabs.<sup>27</sup> as reações químicas envolvidas no método alcalino podem ser expressas da seguinte forma:

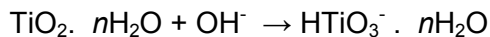
a) Durante o tratamento alcalino, a camada de  $TiO_2$  parcialmente dissolve na solução alcalina por causa dos ataques de grupos hidroxila.



b) Esta reação ocorre simultaneamente com a hidratação do titânio.



c) Um ataque à hidroxila do  $TiO_2$  ainda mais hidratado produz hidratos carregados negativamente sobre as superfícies do substrato da seguinte forma:



d) Estas amostras carregadas negativamente incorporam íons  $Na^+$  e produzem uma camada de hidrogel de titanato de sódio. Durante o tratamento térmico, a camada de hidrogel é desidratada e densificada para formar uma camada estável titanato de sódio



## 7. Tratamento biomimético

De acordo com Muller e Muller<sup>32</sup> na década de noventa, Abe e colabs.<sup>1</sup> desenvolveram procedimento que permitia recobrir praticamente qualquer substrato com uma camada uniforme de apatita biológica. Inicialmente esse procedimento foi empregado sobre Ti, ligas de Ti (Ti - 6Al - 4V) e aço inoxidável SUS 316. Essa técnica consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética (SBF) de composição iônica semelhante a do plasma sanguíneo. Junto ao substrato coloca-se uma placa de vidro

bioativo distante cerca de 0,5 mm do substrato. Após 7 dias de imersão a 36,5°C forma-se uma camada contínua e homogênea de 1 µm de espessura composta por cristalitos de hidroxiapatita biológica muito finos e de aparência fibrosa e alongada. Por meio de uma nova imersão, por mais 7 dias, em uma solução 1,5 vezes mais concentrada do que a primeira obteve-se um aumento na espessura da camada de até 15 µm<sup>32</sup>.

Após a imersão em SBF verifica-se que a superfície do titanato de sódio é carregada negativamente e, conseqüentemente, combina seletivamente com os íons  $\text{Ca}^{2+}$  carregados positivamente no fluido, formando assim titanato de cálcio<sup>22,23</sup>.

Como os íons cálcio se acumulam na superfície, esta se torna carregada positivamente e como resultado, esses íons combinam-se com os íons fosfatos carregados negativamente, formando assim fosfato de cálcio amorfo.

O fosfato de cálcio se transforma espontaneamente em apatita, pois é a fase mais estável no corpo humano<sup>44</sup>. Os fosfatos têm sido identificados como as principais fases que se precipitam durante os testes de bioatividade realizados *in vitro*<sup>13</sup>. Muitas fases químicas do fosfato de cálcio estão presentes nos tecidos humanos, como nos dentes e ossos, o que justifica o uso de alguns fosfatos de cálcio como biomateriais. A parte inorgânica do tecido ósseo consiste em uma fase amorfa e uma fase cristalina, a primeira sendo fosfato tricálcio enquanto que a última é hidroxiapatita. A fase amorfa predomina em ossos novos e é parcialmente transformada em fase cristalina com a idade<sup>8</sup>.

A Hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) é um fosfato de cálcio hidratado, que compõe cerca de 95% da fase mineral dos ossos e dentes humanos. Sua similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos a torna um dos materiais biocompatíveis mais conhecidos, pois favorecem o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondução) e possibilitam ligações químicas entre ela e o tecido ósseo (bioatividade) com a conseqüente proliferação de osteoblastos. Sua superfície permite ainda a interação de ligações do tipo dipolo, possibilitando a adsorção de moléculas de água, proteínas e colágenos, o que induz a regeneração tecidual<sup>28</sup>.

O titânio é coberto com uma camada passiva de óxido de titânio, quimicamente durável. Quando imerso em uma solução aquosa alcalina reage de modo a incorporar íons  $\text{Na}^+$  formando camada de titanato de sódio hidrogel. Quando essa camada é exposta ao SBF, o revestimento de titânio formado por tratamento químico libera íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) da camada de titanato de sódio em troca de íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  do fluido, o que aumenta o pH da solução e favorece o processo de nucleação de alguns fosfatos. Os grupos Ti-OH carregados negativamente reagem com íons  $\text{Ca}^{2+}$  do fluido, formando titanato de cálcio amorfo, que por sua vez reagirão com os íons fósforo, dando origem à camada de apatita<sup>28</sup>.

Assim, conclui-se que o tratamento alcalino com hidróxido de sódio (NaOH) resulta em filme poroso aderente ao substrato, enquanto a imersão em SBF resulta em uma camada de fosfato de cálcio (apatita)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Esse tipo de tratamento pode ser realizado em outros tipos de metais, como por exemplo, nióbio, conforme verificado por Godley e cols.<sup>17</sup>.

Esta técnica tem sido proposta por apresentar algumas vantagens em relação às demais<sup>31,6</sup>: a) pode ser realizada em condições fisiológicas; b) a temperatura utilizada fica em torno de 37°C, o que possibilita revestir materiais sensíveis à temperatura como os polímeros; c) apresenta baixo custo; d) pode ser utilizada para revestir materiais que apresentem geometria complexa; e) os revestimentos apresentam boa uniformidade e adesão, devido à existência de ligação química que é responsável pela união do revestimento ao substrato; f) existe a possibilidade de incorporar moléculas orgânicas, como proteínas, na estrutura dos cristais.

Li e cols.<sup>30</sup> estudaram o revestimento da superfície do titânio modificado quimicamente com hidróxido de sódio (NaOH) a 5 M por 72 horas a 80°C, e imersão em SBF por 28 dias, obtendo revestimentos de fosfatos de cálcio com espessura na faixa de 30-40  $\mu\text{m}$ . Já Chen e cols.<sup>9</sup> analisaram a formação de apatita sobre a superfície de titânio comercialmente puro (TiCP) tratado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 5

M por 48 horas a 80°C, seguido por lavagem em água deionizada, e imersão das amostras em fluido corporal simulado (SBF) de acordo com Kokubo e colabs.<sup>23</sup> por 14 e 28 dias.

Verificaram que nas amostras imersas em SBF por 14 dias ocorreu a formação de partículas esféricas de apatita de 5-10 µm, e as amostras imersas em SBF por 28 dias foram recobertas por partículas esféricas de apatita de 10-20 µm.

Quando o método biomimético é utilizado para revestir implantes metálicos, um dos pontos críticos é a questão do tempo, que é considerado relativamente grande para recobrir todo o substrato. Em função dessa problemática, vários trabalhos têm sugerido alguns tratamentos com o objetivo de diminuir o tempo de formação da apatita, como por exemplo, imergir os substratos em soluções cujas concentrações são maiores que as dos fluidos corpóreos, ou apenas de algumas espécies<sup>6</sup>.

Na Figura 1 observa-se o esquema da formação da apatita sobre a superfície do titânio. Habibovic e colabs.<sup>18</sup> avaliaram o uso de três tipos de soluções de SBF: solução SBF convencional, solução preparada com uma concentração 5x superior e solução com teores de magnésio ( $Mg^{2+}$ ) e ácido carbônico( $HCO_3^-$ ) reduzidos e sem potássio ( $K^+$ ) e sulfatos( $SO_4^{2-}$ ). Os autores concluíram que para o crescimento de camada uniforme de apatita é necessário pré-tratamento térmico antes da imersão em SBF e que as amostras imersas em solução com concentração cinco vezes superior a solução convencional foram as que apresentaram maior crescimento de fosfato de cálcio.

Na Tabela 5 destacam-se as principais fases de fosfatos de cálcio que se precipitam durante os testes de bioatividade realizados *in vitro*, com algumas características importantes. A razão cálcio / fósforo (Ca /P) é um parâmetro importante, pois através desta é possível determinar a fase de fosfato presente e a sua solubilidade. O tipo de fase de fosfato formado vai depender das condições do meio, tais como: temperatura, pH, concentração de íons e razão molar Ca/P. Solubilidade alta, requer razão Ca/P inferior a 1,0 enquanto razão próxima de 1,67 significa solubilidade baixa<sup>13</sup>.

Barrere e colabs.<sup>6</sup> estudaram várias composições de soluções corpórea simulada com o propósito de avaliar a influência dos íons  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{NaCl}^-$  (Tabela 6), no processo de mineralização dos fosfatos de cálcio e observaram que a camada de apatita formada sobre a superfície do Ti-6Al-4V variou de acordo com a solução utilizada. Para as soluções SBF 5x, SBF 5x ( $\text{HCO}_3^- \times 0$ ), SBF 5x ( $\text{HCO}_3^- \times 3$ ) e SBF 5x ( $\text{NaCl}^- \times 3$ ), o revestimento com fosfato de cálcio (CaP) ocorreu em simultâneo com a precipitação. A camada de fosfato de cálcio apresentou-se densa e com cristais alongados<sup>22</sup>.

Tal como os precipitados, a deposição do revestimento foi dependente da composição da solução saturada. Já para a solução SBF 5x ( $\text{NaCl}^- \times 0$ ), devido à baixa força iônica, o revestimento com fosfato de cálcio (CaP) no substrato Ti-6Al-4V ocorreu no prazo máximo de precipitação da solução. Este início súbito de precipitação diminuiu acentuadamente a saturação da solução, e menos espécies iônicas ficaram disponíveis na solução para a nucleação fosfato de cálcio (CaP) sobre Ti-6Al-4V. A camada de fosfato de cálcio apresentou constituída por cristais menores, e o substrato não foi totalmente revestido. Além das soluções cujas concentrações são maiores que as dos fluidos corpóreos, muitos pesquisadores têm estudado o emprego do tratamento alcalino simultâneo ao tratamento térmico para melhorar o crescimento da apatita.

Lee e colabs.<sup>27</sup> analisaram amostras da liga Ti-6Al-4V tratadas em hidróxido de sódio (NaOH) a 5M por 24 horas, seguido por tratamento térmico a 600°C e 800°C por 1 hora e imersão em SBF. Os autores verificaram que em ambas as superfícies ocorreu a formação de camada porosa de titanato de sódio, porém após os tratamentos térmicos diferenças significativas foram encontradas. O aquecimento a 600°C proporcionou a formação de filme de titanato de sódio cristalino, o que favoreceu o crescimento de apatita, enquanto o aquecimento a 800°C permitiu crescimento bem menor de apatita.

Wei e colabs.<sup>49</sup> (2002) estudaram diversos parâmetros de tratamento alcalino com posterior tratamento térmico e imersão em solução SBF, na tentativa de agilizar a formação de apatita na liga Ti-6Al-4V.

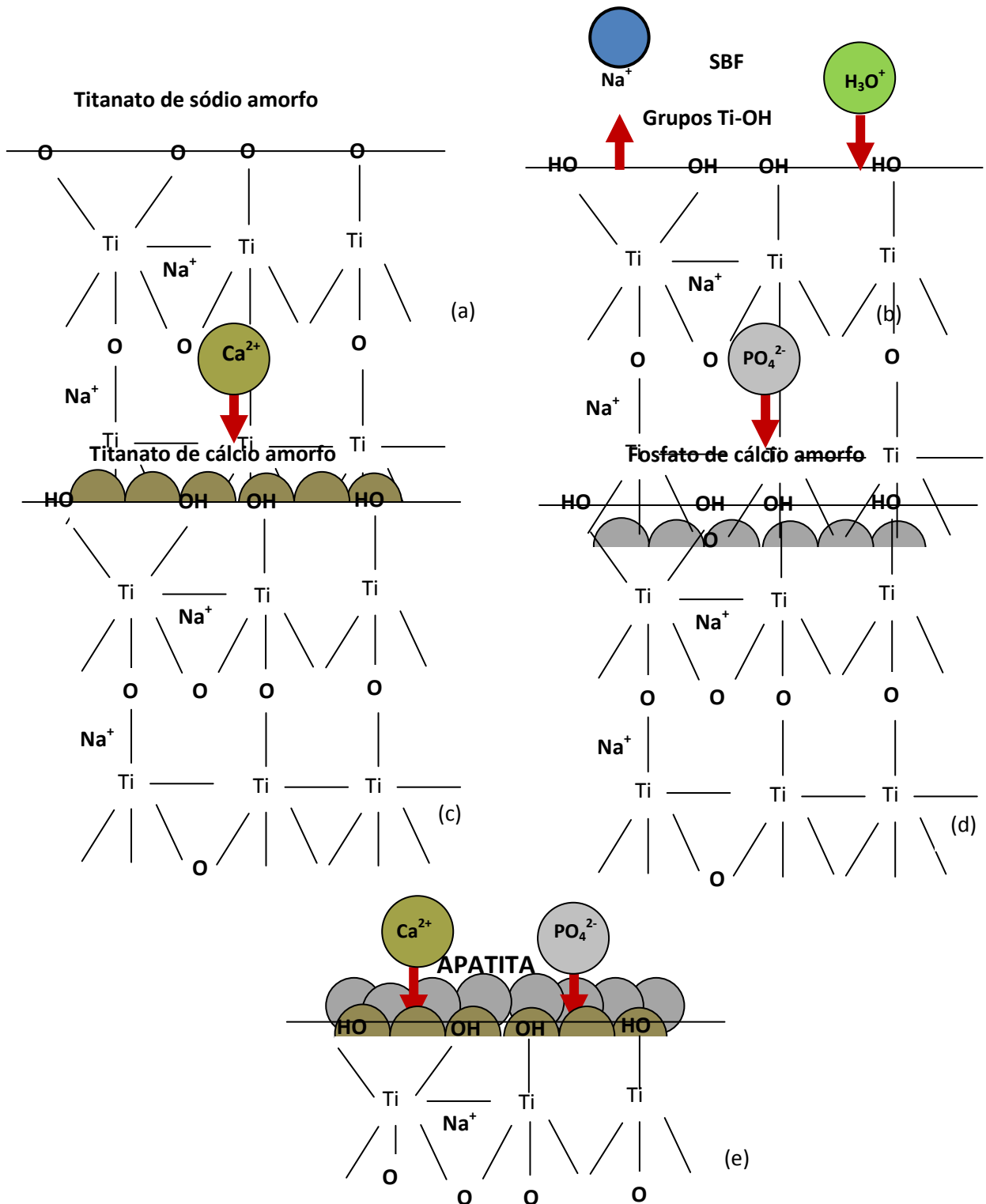


Figura 1 - Representação esquemática da formação da apatita sobre a superfície de titânio tratada com hidróxido de sódio imersa em SBF (adaptado de KOKUBO<sup>22</sup>)

Tabela 5 – Características das principais fases de fosfatos de cálcio (Dorozhkin e Epple<sup>13</sup>)

Nome	Fórmula	Razão molar Ca/P	Solubilidade a 37°C -log (Kps)
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	117,2
Hidroxiapatita deficiente em Cálcio (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ( $0 < x < 1$ )	1,5 - 1,67	85,1
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2 - 2,2	-
$\alpha$ -Fosfato Tricálcio ( $\alpha$ -TCP)	$\alpha - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	25,5
$\beta$ -Fosfato Tricálcio ( $\beta$ -TCP)	$\beta - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	29,5
Fosfato Octacálcio (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	95,9
Hidrogenofosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	6,63
Hidrogenofosfato de Cálcio Anidro (DCPA)	$\text{CaHPO}_4$	1,0	7,02

Tabela 6 - Composição de soluções corpórea simulada<sup>6</sup>

Soluções	Varição dos íons $\text{HCO}_3^-$ e $\text{NaCl}^-$
SBF 5x	_____
SBF 5x ( $\text{HCO}_3^- \times 0$ )	Isento de $\text{HCO}_3^-$
SBF 5x ( $\text{HCO}_3^- \times 3$ )	Concentração de $\text{HCO}_3^- \times 3x$
SBF 5x ( $\text{NaCl}^- \times 0$ )	Isento de $\text{NaCl}^-$
SBF 5x ( $\text{NaCl}^- \times 3$ )	Concentração de $\text{NaCl}^- \times 3x$

As amostras foram tratadas em soluções de hidróxido de sódio (NaOH) em concentração 3, 5, 10 e 15M e em temperaturas de 60 ou 80°C; por 1, 3 ou 7 dias. Verificou-se que o melhor tratamento para a liga Ti-6Al-4V ocorreu em solução de NaOH 5M a 80°C por 3 dias. As amostras tratadas nestas condições foram posteriormente

submetidas a tratamento térmico a 500, 600 e 700°C por 1 hora, a fim de consolidar a camada de hidrogel de titanato de sódio e melhorar sua adesão ao substrato. O tratamento térmico realizado a 600°C por 1 hora resultou na melhor adesão e melhor taxa de formação de apatita. Após a imersão em SBF, a formação de apatita sobre a liga Ti-6Al-4V ocorreu em apenas 3 dias, período bem mais curto que os 7 dias relatado por Kim e colabs.<sup>21</sup>.

Uchida e colabs.<sup>45</sup> demonstraram que a habilidade de formação de apatita em titanato é dependente da estrutura cristalina do titanato. Gel de titanato com estrutura amorfa não induz a formação de apatita em sua superfície após imersão em SBF, enquanto géis com estrutura cristalina (rutilo ou anatásio) induzem a formação de apatita em sua superfície. Além disso, deposição de apatita é mais pronunciada em gel de anatásio que em gel de rutilo.

Este processo permite obter uma camada de fosfato de cálcio na superfície dos implantes de ligas de titânio, aumentando a osseocondutividade, e beneficiando a osseointegração<sup>21</sup>.

O método biomimético tem quatro vantagens principais:

- processamento em baixas temperaturas;
- formação de cristais de hidroxiapatita bem semelhantes ao tecido ósseo;
- deposição em implantes com qualquer geometria;
- alta bioatividade e boa reabsorção para sua substituição (KOKUBO e colabs., 1998).

Este método tem sido empregado em implantes de titânio comercialmente puro (Ti CP), tântalo comercialmente puro (Ta CP) e em algumas ligas como: Ti-7,5Mo, Ti-6Al-4V, Ti-13Zr-13Nb.

## ***8. Respostas tissulares ao implante de biomateriais***

Os biomateriais utilizados induzem diferentes respostas do tecido em função do desenvolvimento do tipo de interface implante/osso, podem ser classificados como:

- biotolerantes ou bioinertes: são definidos como aqueles que não são necessariamente rejeitados quando implantados no tecido vivo, mas são envolvidos por uma cápsula fibrosa que o isolam do meio biológico. São materiais bem tolerados pelo organismo, pois são menos suscetíveis a causar uma reação biológica adversa devido a sua estabilidade química em comparação com outros materiais. A espessura dessa cápsula fibrosa depende de muitos fatores existente na interface, condições do implante e o tecido<sup>46</sup>.

- bioativos: permitem o íntimo contato com o osso, conduzindo a osteogênese, a formação de novo osso e a troca de íons com o tecido ósseo. Favorecem a ligação química entre implante/osso (osseointegração), sem a presença da cápsula fibrosa. Quando um material bioativo é implantado no corpo, uma série de reações bioquímicas e biofísicas ocorrem na interface implante/tecido. Podem ainda ser classificados como osteoindutores, que promovem uma resposta intracelular e extracelular na interface, e os osteocondutores, que promovem uma superfície biocompatível, favorecendo o desenvolvimneto das células ósseas<sup>46</sup>.

- bioabsorvíveis: degradam-se gradualmente ao longo de um período de tempo e são substituídos pelo tecido natural do hospedeiro. Esses materiais são fagocitados pelo organismo após certo período em contato com o tecido. Possuem papel importante em aplicações clínicas, pois são desnecessárias novas intervenções cirúrgicas para a retirada do material<sup>46</sup>.

Um biomaterial sintético ideal como substituto ósseo, além de provocar reação fibrosa mínima, deve ser bioativo, capaz de levar à neoformação óssea e trocar íons com o tecido ósseo. Ademais, mecanicamente, deve apresentar resistência similar ao tecido ósseo que está sendo substituído. Deve também possuir características de superfície favoráveis para o depósito de tecido ósseo em um processo denominado osseocondutividade<sup>20</sup>.

A interação entre o tecido e a superfície do implante é um processo dinâmico. Água, moléculas livres e íons dissolvidos circundam a superfície do implante durante os segundos iniciais após a implantação. O processo de cicatrização inicia-se com a mudança na composição do fluido e adsorção de camada de biomoléculas, conforme esquematizado na Figura 1. Em seguida, as células alcançam a superfície e a camada formada irá impor a maneira como as células respondem. Com o tempo, os tipos de células formadas e sua atividade na superfície mudam, resultando em uma integração do tecido ou formação de uma cápsula fibrosa.

A osseointegração refere-se ao contato direto entre o osso e o implante sem a intervenção de tecido mole, sendo a superfície do biomaterial diretamente responsável pela sua formação. A osseointegração pode portanto ser definida como uma ancoragem direta do osso a superfície do implante sob a ação de cargas funcionais, sem a formação de camada fibrosa<sup>20</sup>. Após a colocação de um implante dentário diversas reações biológicas podem ocorrer em vários estágios<sup>16</sup>:

1. formação de osteoblastos sobre a superfície do implante, com posterior diferenciação, levando à osseointegração;
2. resposta inflamatória culminando na rejeição ao implante;
3. micromovimentação do implante levando a formação de tecido fibroso ao invés de interface óssea, impedindo a osseointegração.

O processo que ocorrerá dependerá das propriedades da superfície tais como superfície química, topografia, rugosidade de superfície e principalmente a energia de superfície. A dependência das interações celulares sobre a energia de superfície é ditada pelas várias propriedades de superfície (Figura 2). Entretanto, a influência da energia de superfície sobre a diferenciação celular, produção da matriz celular e calcificação ainda não está totalmente esclarecida<sup>16</sup>. Em processos como Plasma spray e deposição física de vapor (Physical Vapor Deposition – PVD) a formação do revestimento

não ocorre a partir de reações químicas e sim a partir de processos físicos envolvendo energia térmica, cinética e elétrica.

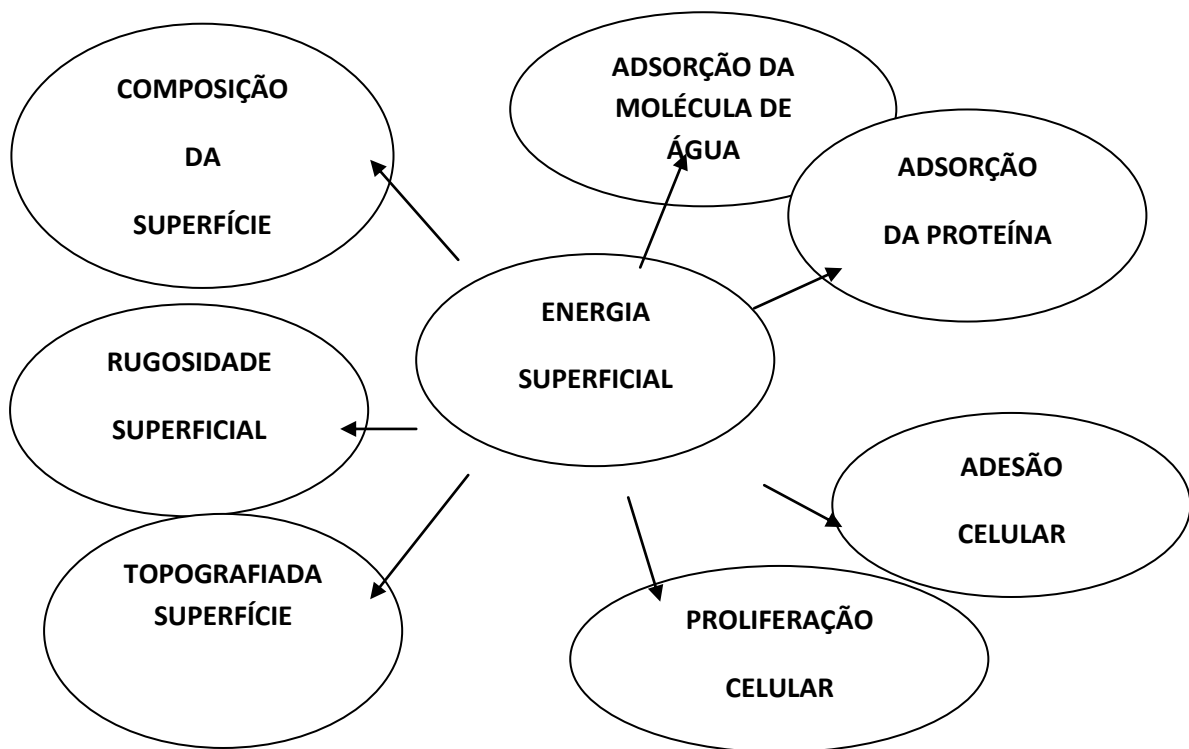


Figura 2 – Reações dependentes da energia de superfície do implante (adaptado Geetha *e colabs.*, 2009)

Nos processos com aspersão térmica os materiais são termicamente fundidos e aspergidos na forma de gotas, com elevada velocidade, sobre o substrato (energia cinética). A deposição física de vapor produz o crescimento de um filme a partir da reação da superfície do substrato com o vapor adjacente, que fornece o material para o revestimento na forma de átomos, íons ou moléculas gerados por um alvo. A implantação iônica e a descarga por plasma também são considerados processos de modificação física de superfície<sup>41,42</sup>.

As modificações químicas são empregadas para garantir aos implantes características tais como: limpeza e assepsia para o seu uso em cirurgias, eliminação de impurezas do processo de fabricação, rugosidade adequada da superfície visando o

aumento de biocompatibilidade, obtenção de uma camada homogênea regular de óxido de espessura variável sobre a sua superfície. Dentre os processos químicos podemos citar: tratamento químico, tratamento eletroquímico (oxidação anódica), deposição por vapor químico, processo biomimético, deposição sol-gel e deposição por eletroforese<sup>31</sup>.

## *Proposição*

## *Proposição*

O propósito deste trabalho foi estudar, por meio de análise morfológica em ratos, a influência do tratamento de superfície na osseointegração de implantes do sistema titânio.

## *Material e Método*

## *Material e Método*

### *1. Processamento da liga*

Foram fundidos lingotes a partir dos elementos puros, de acordo com a seqüência preconizada por Alves (1998):

- limpeza dos materiais;
- pesagem;
- fusão.

A limpeza foi realizada empregando-se a decapagem química, a partir de solução preparada com reagentes de grau analítico (P.A. Merck) composta por 50ml de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), 20ml de ácido fluorídrico (HF), 20ml de ácido nítrico ( $HNO_3$ ) e 10ml de água destilada. A pesagem na composição escolhida para estudo (Ti) foi então realizada em balança analítica e a fusão dos elementos em forno a arco voltaico com atmosfera controlada e cadinho de cobre refrigerado (Figura3).

### *2. Tratamento térmico da liga*

Após a fusão, os lingotes foram encapsulados a vácuo, em tubo de quartzo, para tratamento térmico. Esse tratamento foi realizado em forno tubular (EEL-USP), com aquecimento a 1100 °C por 24 horas, seguido de resfriamento rápido em água gelada (Figura 4).

Posteriormente ao tratamento térmico foi realizado o forjamento a frio dos lingotes de tal forma que barras com 5 mm de diâmetro fossem obtidos. O forjamento foi realizado em uma forja do tipo *swaging* (forjamento rotativo), FENN, utilizando matrizes 6F ( $2^2$  até  $3/8^2$ ) e 3F ( $1/2^2$  até  $1/8^2$ ), com potência de aproximadamente 30 CV (HP) e velocidade de 1700 rpm/ EEL-USP A cada passe ocorreu troca das matrizes (martelos), causando redução da ordem de 20% no diâmetro das amostras (diâmetro final de 5mm) (Figuras 5 e 6).

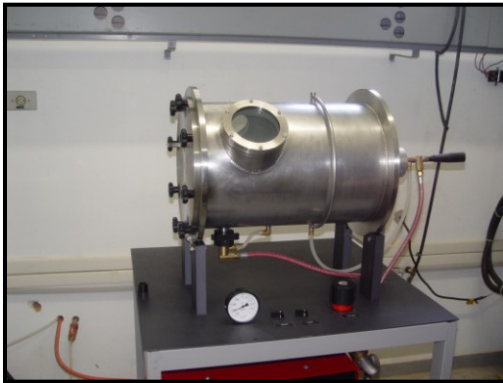


Figura 3 - Forno a arco voltaico empregado no preparo das ligas



Figura 4 - Forno tubular empregado para homogeneização das ligas.  
Detalhe do lingote encapsulado a vácuo



Figura 5 - Equipamento para forjamento a frio FENN. Detalhe dos martelos.

Após o forjamento a frio foram obtidas barras com 13 mm de comprimento e 5mm de diâmetro.

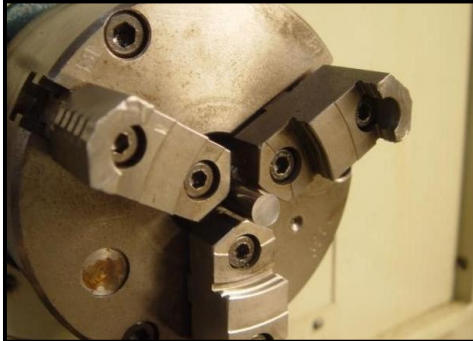


Figura 6- Detalhe do tarugo preso a castanha do torno antes da usinagem

### 3. Usinagem dos implantes

Barras de titânio (IV) foram usinadas a fim de se confeccionar 20 implantes rosqueáveis com 2.1 mm de diâmetro por 2.8 mm de altura (Figura 7).

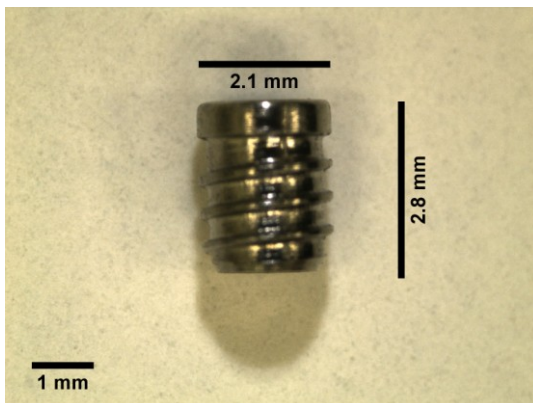


Figura 7- Implante usinado

### 4. Tratamento Biomimético - NaOH + Heat treatment (HT) + Simulated Body Fluid (SBF)

Dez implantes foram imersos em solução aquosa de NaOH a 0,5M, em banho termostático (TE 184, Tecnal) a 60°C, por 24 horas conforme metodologia adotada por Miyazaki e cols.<sup>33</sup>(Figura 8). Após esse período foram lavados abundantemente em água destilada e secos em estufa (Quimis) a 40°C por 24 horas (FEG/UNESP)

Em seguida os implantes foram levados ao forno EDG (Figura 9) com aquecimento por resistência elétrica, a 300°C por 24 horas, com taxa de aquecimento de 5°C/min

(FEG/UNESP). O resfriamento das amostras foi realizado dentro do forno até a temperatura ambiente.



Figura 8 - Banho termostático (TE 184, Tecnal)



Figura 9 - Forno EDG

##### 5. Implantação - procedimento cirúrgico

O experimento utilizou vinte ratos machos com peso entre duzentos e cinquenta e trezentos gramas, da espécie *Rattus norvegicus*, ordem *Rodentia*, linhagem *Wistar*, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, com dez animais cada. Os grupos foram nomeados da seguinte forma: Grupo I (Ti) e Grupo II (Ti tratado). Considerou-se tratado o grupo em que os implantes foram submetidos ao tratamento alcalino.

Durante todo o experimento, os animais permaneceram alojados em gaiolas plásticas padronizadas (39x32x16cm) com forração de cepilho (estéril) e mantidos em temperatura controlada de aproximadamente 21 graus centígrados, com ciclo de luz claro-escuro de 12 horas (luz de 6:00 às 18:00 horas), tendo água e ração "*ad libitum*". Todos os experimentos foram realizados entre 07:30 e 09:30 horas, com objetivo de minimizar as influências circadianas. Os procedimentos de manipulação, alimentação e limpeza foram realizados seguindo rotina habitual. O procedimento cirúrgico foi realizado sob anestesia geral com Cloridrato de Xilazina e Cloridrato de Ketamina na dose de 40-80 mg/kg Ketamina para 5-10 mg/kg de Xilazina, via intraperitoneal. Após a indução anestésica a tibia direita foi tricotomizada em sua porção ventral, higienizada com gaze e solução

fisiológica a 0,9 % e a antissepsia da região foi realizada com Clorexidine 0,12 %. O animal foi posicionado em decúbito dorsal e o local de eleição para a incisão foi estabelecido pela porção mais volumosa do tecido ósseo, por meio de palpação, sendo realizada com cabo de bisturi nº 3, montado com lâmina nº 15. Para o descolamento, utilizou-se, além da pinça de Adson com dente, os descoladores de Freer e de Molt. Esses mesmos instrumentos, juntamente com pinça anatômica auxiliaram no afastamento do retalho e estabilização da tibia. A secagem do campo operatório foi realizada com gaze estéril. O preparo do local para a inserção do implante foi realizado com broca (2.0 mm de diâmetro) em baixa rotação, montada em contra-ângulo redutor (16:1) e, ligado ao motor elétrico (velocidade de 1200 rpm e um torque de 35 N/cm). A perfuração da tibia foi realizada em apenas um estágio (broca única) e delimitada por lima endodôntica, previamente calibrada, com o seu cursor em 2,8 mm. A refrigeração foi realizada através de irrigação copiosa com solução fisiológica a 0,9 %. O implante, após ser removido do grau cirúrgico estéril por meio de pinça de titânio, foi levado ao local da sua inserção e a chave foi posicionada no seu interior no local respectivo ao parafuso do pilar protético em implantes convencionais utilizados em humanos. O ato operatório foi finalizado com o fechamento primário dos tecidos, por meio de suturas simples, com fio nylon 4-0, montado em agulha atraumática, semicircular, de 1,5 cm de comprimento, secção triangular, por planos e com auxílio de pinça Adson com dente (Figuras 8-10). Para facilitar a localização do implante uma tatuagem com azul de metileno foi realizada.

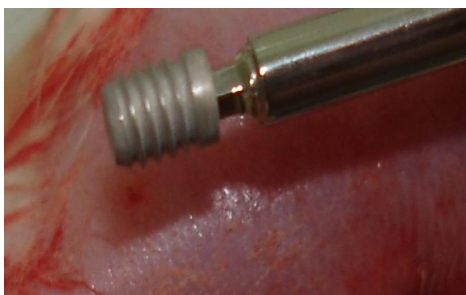


Figura 10- Detalhe do implante



Figura 11 - Acesso Cirúrgico



Figura 12 - Sutura

#### **6. Preparo dos espécimes para análise histológica**

Decorridos 60 dias os animais foram eutanasiados em câmara saturada com halotano. A tíbia direita de cada animal foi cuidadosamente removida. Os segmentos ósseos contendo os implantes foram imersos em solução de formalina 10%, tamponados com Cacodilato de Sódio 0,1 M (pH 7,3) por 48 horas e transferidos para solução de etanol 70 %, onde permaneceram imersos por 72 horas. A seguir foram desidratados por concentrações graduais de álcoois e imersos em tubo de ensaio contendo o líquido da resina acrílica ativada quimicamente ( Clássico, Artigos Odontológicos Ltda) , ativado com peróxido de benzoíla no volume de 2%. Os tubos foram vedados à vácuo e armazenados em estufa controlada a 36°C para polimerização do material. Após polimerização, os tubos foram quebrados, os blocos obtidos foram debastados com lâmina anular utilizando serra de precisão Microslice 2 (Ultra Tec Manufacturing Inc., Santa Ana, CA, EUA) e lixados com lixas progressivas (3M) até atingir 40 µm de espessura. Na sequência foram colados em lâmina de vidro (Araldite®) e lixados até espessura de 10 µm para posterior corados com vermelho de alizarina e azul de Stevenel . As lâminas obtidas foram submetidas à análise histológica e histomorfométrica.

### *7. Análise histológica e histomorfométrica*

Com o objetivo de avaliar morfológicamente o osso formado adjacente aos implantes, a porcentagem de contato osso/implante foi determinada. Para as mensurações, as imagens foram gravadas digitalmente utilizando microscópio ótico Leica DMLB (Leica Microsystems, Nussloch, Alemanha), com objetivas N Plan (X2.5/0.07, X10/0.25, X20/0.40) e HCX PL Fluotar (X40/0.75), acopladas à câmera digital Leica DC 300F. As imagens digitais adquiridas foram analisadas utilizando o programa Adobe Photoshop (Adobe Systems).

## *Resultados*

## *Resultados*

**Grupo Controle:** No Grupo Controle foi possível observar tecido ósseo neoformado em contato com a maior parte do perímetro do implante. A matriz neoformada coloca-se de forma desorganizada caracterizando a imaturidade do tecido. São observados espaços medulares amplos. Grandes áreas de tecido conjuntivo fibroso organizado ainda podem ser observadas. Stevenel's Blue /Alizarina Red.

**Grupo Tratado-** No Grupo Tratado o tecido ósseo maduro entra em contato com a maior parte do perímetro do implante. A matriz óssea coloca-se de forma organizada caracterizando a maturidade do implante. São observados espaços medulares diminutos. Stevenel's Blue/Alizarina Red.

## *Discussão*

## *Discussão*

O desenvolvimento de novos materiais capazes de substituir funções desempenhadas pelo corpo humano, devido a traumas ou surgimento de doenças, cresceu nas últimas quatro décadas devido ao aumento da expectativa de vida da população. Devido a sua aplicação, esses materiais são conhecidos como biomateriais, podendo ser de origem natural ou sintética, utilizados por tempo indeterminado na substituição total, parcial ou ainda na reparação de tecidos vivos danificados, para substituir a estrutura biológica perdida ou doente, buscando restabelecer a forma e/ou a função. As ligas de titânio utilizadas na confecção de implantes dentários são exemplos de biomateriais<sup>2-5</sup>.

Existem dois tipos de resposta após o implante de um biomaterial – o primeiro tipo consiste na formação de tecido fibroso sobre o implante, que o isola do osso circunvizinho<sup>19,34</sup>. Esta membrana de tecido fibroso não garante uma adequada fixação biomecânica ao osso, podendo afrouxar e/ou soltar durante os esforços mecânicos. O segundo tipo de resposta está relacionado com o contato direto entre o osso e o implante sem a interposição de tecido conjuntivo fibroso, promovendo a osseointegração<sup>8</sup>. A osseointegração e a proliferação das células entre o implante e o osso depende da morfologia (rugosidade superficial) e composição do filme de óxido<sup>36,37,50</sup>. O óxido de titânio formado sobre o material é bioativo e atua como uma barreira eletroquímica contra a dissolução iônica, promovendo a aderência direta das células ósseas sobre a superfície do óxido<sup>41</sup>.

Há um grande empenho dos pesquisadores em modificar a superfície dos implantes dentários de titânio, visando melhorar a resposta celular<sup>11</sup>. Contudo, independente da topografia da superfície do titânio, sua bioatividade não é grande o suficiente para induzir o crescimento de tecido ósseo em um curto período de tempo<sup>36</sup>. Diversos estudos têm

demonstrado maior osteocondutividade nos implantes de titânio que foram submetidos a tratamentos químicos e térmicos. No presente trabalho realizou-se tratamento biomimético alcalino dos implantes de titânio.

Pode-se afirmar que o exame histológico, em nível de microscopia óptica, responde a mais importante pergunta sobre a estrutura da interface, demonstrando que tipo de tecido está em contato com a maior parte do implante.

No presente trabalho, quando comparados os resultados entre grupo controle e tratado observou-se resultados mais significativos tanto em relação à finalização do processo de osteogênese quanto em quantidade de deposição de tecido ósseo no grupo tratado. O aspecto da maturidade reflete diretamente na qualidade da cicatrização óssea periimplantar. Essa diferença pode estar relacionada com o aumento da aceleração da incorporação da matriz inorgânica caracterizando o processo de mineralização do tecido ósseo. Observa-se ainda o acréscimo do volume e a melhora na distribuição tecidual ao redor dos implantes no grupo tratado, com conseqüente otimização da deposição da matriz óssea na interface tecido ósseo implante, provavelmente atribuída ao aumento da atividade osteoblástica e síntese de ATP. Estes dados mostram a ação benéfica do tratamento de superfície no processo de osseointegração, demonstrando que o tratamento alcalino tem como produto final a aceleração da formação da matriz óssea e um contato mais íntimo entre o implante e o tecido ósseo, promovendo uma cicatrização óssea periimplantar mais acelerada afirmativa esta corroborada por vários estudos<sup>5,9,10,13,17</sup>.

## *Conclusão*

## *Conclusão*

Com base na metodologia empregada e a partir dos dados e resultados coletados é possível concluir:

- O Grupo Tratado quando comparado ao Grupo Controle exibiu maior deposição óssea ao longo da interface implante/tecido ósseo.
- O Grupo Tratado quando comparado ao Grupo Controle exibiu maior maturidade do tecido ósseo formado.

## *Referências*

## *Referências*

1. Abe Y, Kokubo T, Yamamuro T. Apatite Coating on Ceramics, Metals and Polymers utilizing a Biological Process. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1990; 1:233-8.
2. Alves APR. Preparação de materiais compósitos in situ a partir de ligas eutéticas nos sistemas Nb-Al-Ti e Nb-Al-Cr. 1998 (Tese de Doutorado) Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas.
3. Alves APR, Santana FA, Rosa LAA, Cursino SA, Codaro EN. A study on corrosion resistance of the Ti-10Mo alloy after different processing methods. *Mater Sci & Engineering C*. 2004; 24: 693-696.
4. Alves-Rezende MCR, Alves APR, Codaro EM, Dutra CAM. Effect of commercial mouthwashes on the corrosion resistance of Ti-10Mo experimental alloy. *J Mater Sci: Mater Med*. 2007;18:149–154.
5. Alves-Rezende MCR, Dekon SFC, Grandini CR, Bertoz APM, Alves-Claro APR. Tratamento de superfície de implantes dentários: SBF. *Rev Odontol Araçatuba* 2011; 32:38-43.
6. Barrere F, Van Blitterswijk CA, De Groot K, Layrolle P. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFx5 solution. *Biomaterials*. 2002; 23:1921-30.
7. Baumann B, Rader CP, Seufert J, Nöth U, Rolf O, Eulert J, Jakob F. Effects of polyethylene and TiAlV wear particles on expression of RANK, RANKL and OPG mRNA. *Acta Orthop Scand*. 2004;75:295-302.
8. Branemark PI. Osseointegration and its experimental back-ground. *J Prosthet Dent* 1983;50(3):399-410.

9. Chen X , Li ANY, Lin J, Hodgson PD, Wen C. Effect of Surface Roughness of Ti, Zr, and TiZr on Apatite Precipitation From Simulated Body Fluid Biotechnology and Bioengineering. 2008; 101: 378-87.
10. Cooper LF, Masuda T, Whitson S W. Formation of mineralizing osteoblast cultures on machined, titanium oxide grit-blasted, and plasma sprayed titanium surfaces. Int J Oral Maxillofac Implant. 1999; 14: 37-47.
11. De Oliveira JAG, Escada ALA; Alves-Rezende MCR; Mathor MB; Alves-Claro, APR . Analysis of the effects of irradiation in osseointegrated dental implants. Clinical Oral Implants Research 2012; 23 :511-14.
12. Diniz MD, Fernandes MH, Soares GA. Influência da Micromorfologia da Superfície de Titânio Sobre o crescimento In Vitro e a Diferenciação de Osteoblastos da Medula Óssea Humana. Anais do XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. 2000. Florianópolis, Brasil.
13. Dorozhkin SV. A Review on the dissolution models of calcium apatites. Progress in Crystal Growth and Characterization of Material 2002: 45-61.
14. Escada ALA, Machado JPB, Schneider SG, ALVES-REZENDE MCR, Alves-Claro APR. Biomimetic calcium phosphate coating on Ti-7.5Mo alloy for dental application. J Mater Sci. Mater Med 2011; 22 (11): 2457-65.
15. Ferdjani, S. et al. Phosphorus implantation in titanium: application to calibration analysis. J. Alloys Compounds.1991; 177:265-72.
16. Geetha M, Mudali AK, Gogia AK, Asokamani R, Raj B. Influence of microstructure and alloying elements on corrosion behavior of Ti-13Nb-13Zr alloy. Corrosion Science. 2003; 46: 877-92.
17. Godley R, Starosvetsky D, Gotman I. Bonelike apatite formation on niobium metal treated in aqueous NaOH. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2004;15: 1073-7.

18. Habibovic P, Barrère F, Van Blitterswijk CA, Groot K, Layrolle P. Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Metal Implants. *Journal of the American Ceramic Society*. 2002;85:517-22.
19. Hench LL. Biomaterials: a forecast for the future. *Biomaterials*. 1998; 19: 1419-31.
20. Jones FH. Teeth and Bones: Applications of Surface Science to Dental Materials and Related Biomaterials *Surface Science Reports* 2001; 42: 75-205.
21. Kim HM, Miyaji F, Kokubo T, Nakamura T. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1996; 32:409-17.
22. Kokubo T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. *Acta Biomaterialia*. 1998; 46:2519-27.
23. Kokubo T, Takadaman H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*. 2006; 27:2907–15.
24. Kumar S, Narayanan TS..Corrosion behaviour of Ti-15Mo alloy for dental implant applications. *J Dent*. 2008; 36(7):500-7.
25. Krupa, D. et al. Effect of dual ion implantation of calcium and phosphorous on the properties of titanium. *Biomaterials*. 2005;26:2847-56.
26. Lausmaa J in: Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P. *Titanium in Medicine*. Springer. 2001;2001: 231–66.
27. Lee JW, Lin DJ, Ju CP, Yin HS, Chuang CC, Lin JH.. In-vitro and in-vivo evaluation of a new Ti-15Mo-1Bi alloy. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009 Nov;91(2):643-50
28. Legeros, R. et.al., *Bioceramics - tissue interfaces: characterization of ultrastructural properties* proceedings of the 6<sup>th</sup> International Symposium on Ceramics in Medicine Philadelphia. 1993; 11:79-84.

29. Leyens, C., Peters, M. Titanium and Titanium Alloys – Fundamentals and Applications. DLR – German Aerospace Center – Institute of Materials Research, Wiley-VCH, Köln, Germany. 2003: 379.
30. Li F, Feng QL, Cui FZ. A simple biomimetic method for calcium phosphate coating. *Surface & Coatings Technology*. 2002;154:88-93.
31. Liu X, Chu PK, Chuanxian D. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering R*. 2004; 47: 49-121.
32. Müller L, Müller FA. Preparation of SBF with different HCO<sub>3</sub> - content and its influence on the composition of biomimetic apatites. *Acta Biomaterialia*. 2006 ;2:181-9.
33. Miyazaki T, Kim HM, Kokubo T. Induction and acceleration of bonelike apatite formation on tantalum oxide gel in simulated body fluid. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 2001; 21:83 - 8.
34. Nishiguchi S, Kato H, Neo, M, Oka M, Kim HM, Kokubo T. Alkali- and heat-treated porous titanium for orthopedic implants. *J Biomed Mater Res*. 2001;54:198-208.
35. Oliveira NT, Guastaldi AC. Electrochemical stability and corrosion resistance of Ti-Mo alloys for biomedical applications. *Acta Biomater*. 2009 ;5(1):399-405.
36. Ong JL, Lucas LC. Auger electron spectroscopy and its use for the characterization of titanium and hydroxyapatite surfaces. *Biomaterials*. 1998;19:455-64.
37. Pan J, Liao H, Leygraf C, Thierry D, Li J. Variation of oxide films on titanium induced by osteoblast-like cell culture and the influence of an H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment. *J Biomed Mater Res*. 1998 ;40:244-56.
38. Peltola T, Pätsi M, Rahiala H, Kangasniemi I, Yli-Urpo A. Calcium phosphate induction by sol-gel-derived titania coatings on titanium substrates in vitro. *Biomed Mater Res*. 1998; 41:504-10.

39. Pham MT, Maitz MF, Matz W, Reuther H, Richter H, Steiner G. *Thin Solid Films* 2000, 1, 379.
40. Shen XT, Liu L, Mo KN, Zhang YZ, Liang BG. Study of the correlation between *Streptococcus mutans*' adhesion and surface corrosion in casting titanium and Ti alloy. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2008;17(6):633-7.
41. Sul Y. On the bone response to oxidized titanium implants. PhD Dissertation. Gotenborg University, 2002
42. Taborelli M, Jobin M, Francois P, Vaudaux P, Tonetti M, Szmuklermoncler S, Simpson JP, Descouts P. Influence of surface treatments developed for oral implants on the physical and biological properties of titanium. *Clinical Oral Implants Research*. 1997; 8:208-16.
43. Takemoto S, Hattori M, Yoshinari M, Kawada E, Asami K, Oda Y. Corrosion mechanism of Ti-Cr alloys in solution containing fluoride. *Dent Mater*. 2009; 25(4):467-72.
44. Tung MS. *Calcium Phosphate in Biological and Industrial System*, Kluwer Academic Publishers, 1998.
45. Uchida M, Kim HM, Kokubo T, Fujibayashi S, Nakamura T. Structural dependence of apatite formation on titania gels in a simulated body fluid. *Journal of Biomedical Materials Reserch Part A*. 2003; 64: 164 -70.
46. Vallet-Regi M, Gonzalez-Calbet JM. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry*. 2004; 32:1-31.
47. Wang XJ, Li YC, Lin JG, Yamada Y, Hodgson PD, Wen CE. In vitro bioactivity evaluation of titanium and niobium metals with different surface morphologies. *Acta Biomaterialia*. 2008; 4:1530–35.
48. Wen HB, De Wijn JR, Liu Q, De Groot K. A simple method to prepare calcium phosphate coatings on Ti6Al4V. *J Mater Sci: Mater Med*. 1997;8:765-70.

49. Wei M, Uchida M, Kim KM, Kokubo T, Nakamura T. Apatite forming ability of calcium-containing titania. *Biomaterials*. 2002; 23: 167 – 72.
50. Wennerberg A, Albrektsson T. Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*. 2000; 15:331-34.
51. Wieser E. et al. Modification of titanium by ion implantation of calcium and/or phosphorus. *Surf Coat. Technol.* 1999; 111:103-9.
52. Yang GL, He FM, Yang XF, et al: Bone responses to titanium implants surface-roughened by sandblasted and double etched treatments in a rabbit model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 106:516, 2008
53. Zhang M, Huang QY, Zhou XJ, Sun Q, Yang F, Chen WT. The effects of TiO<sub>2</sub> nanopore on titanium surface on cell adhesion and spreading of bone marrow stromal cells. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2009;18(5):493-8.