

UNESP
Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá

Guaratinguetá
2012

JOÃO AUGUSTO GUEDES DE OLIVEIRA

**EFEITO DO TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE NA
OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS DA LIGA TI-7,5Mo**

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Rosifini
Alves Claro

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina
Rosifini Alves Rezende

Guaratinguetá
2012

O482e	Oliveira, João Augusto Guedes de. Efeito do tratamento de superfície na osseointegração de implantes dentários da liga TI-7,5Mo / João Augusto Guedes de Oliveira - Guaratinguetá : [s.n.], 2012. 73 f. : il. Bibliografia: f. 68-7 Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2012. Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Paula Rosifini Alves Claro Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria Cristina Rosifini Alves Rezende 1. Implantes dentários I. Título CDU 616-089.843(043)
-------	--



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE GUARATINGUETÁ

JOÃO AUGUSTO GUEDES DE OLIVEIRA

ESTA TESE FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
"DOUTOR EM ENGENHARIA MECÂNICA"

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA
ÁREA: MATERIAIS

APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO


Prof. Dr. Marcelo dos Santos Pereira
Coordenador

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO
Orientador / Unesp-Feg


Prof. Dr. CARLOS ROBERTO GRANDINI
FC/UNESP


Prof. Dr. ESTEVÃO TOMOMITSU KIMPARA
FOSJC/UNESP


Prof. Dr. MÔNICA BEATRIZ MATHOR
CEN-IPEN/USP


Prof. Dr. ANA CHRISTINA CLARO NEVES
UNITAU

Janeiro de 2012

DADOS CURRICULARES

JOÃO AUGUSTO GUEDES DE OLIVEIRA

NASCIMENTO	24.07.1977 – Recife / PE
FILIAÇÃO	Raimundo Alves de Oliveira Jozelha Guedes de Oliveira
2001/2002	Curso de Graduação em Odontologia Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP
2004	Curso de Especialização em Implantodontia Universidade de Taubaté – UNITAU
2006	Curso de Pós-Graduação em Ciências, Área Odontologia Nível de Mestrado, no Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté - UNITAU

DEDICATÓRIA

Agradeço à Deus pela minha vida e por todas as oportunidades concedidas, por sempre colocar em meu caminho pessoas boas; por me dar saúde e coragem para vencer as dificuldades; pela capacidade de conquistar sonhos, pela guarnição e orientação divina, sinto sempre a sua presença ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Este trabalho é dedicado a minha esposa Letícia, por estar presente em todos os momentos da minha vida, me apoiando. Grato pelo amor, carinho, paciência e compreensão nos momentos de dificuldade e sempre acreditando em um futuro melhor. Somente eu, você e Deus sabemos as dificuldades que venci para poder conquistar meus sonhos e chegar onde cheguei. Te amo sempre.

Ao meu pai Raimundo, amigo e companheiro, fez o possível para nos dar o conhecimento para eu poder alcançar meus objetivos. O senhor sempre esteve pronto para me auxiliar quando precisei, grato por tudo.

À minha mãe Jozelha, grato pela vida, por sempre querer o melhor para os seus filhos, pelo amor que sempre demonstrou por mim.

Ao meu irmão George, meu melhor amigo, grato pela sua amizade pois ela sempre foi importante na minha caminhada, estaremos sempre ligados desde o nosso nascimento pois somos os únicos com o mesmo sangue.

Ao meu sogro Tulio, pelo seu exemplo de firmeza e excelência profissional, pelas orientações nos momentos de dificuldades e impaciência. O considero como meu segundo pai.

À minha sogra Marina, pelos bons exemplos de dignidade, humildade, respeito ao próximo, pela paciência com a minha pessoa, te amo como uma mãe.

AGRADECIMENTO

Agradeço ao Mestre pela vida e por todas as oportunidades e pessoas que foram colocados em meu caminho.

Ao Departamento de Materiais e Tecnologia da Engenharia Mecânica da FEG – UNESP, pelas informações recebidas, apoio e incentivo, tornando possível a realização desse trabalho, especialmente à minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Paula Rosifini Alves Claro, pela amizade, carinho, paciência e dedicação.

À Dr^a Mônica Beatriz Mathor do CTR-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, pela realização das irradiações gama e auxílio nas cirurgias dos animais.

À Profa. Dra. Maria Cristina Rosifini Alves Rezende, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, pelo incentivo e grande auxílio na manipulação cirúrgica dos animais.

À Profa. Dra. Ana Cristina Claro Neves, pela atenção nas minhas dificuldades e o ingresso no programa de mestrado da UNITAU, acreditando no meu potencial, incentivando também a continuar no Doutorado.

Ao Professor Doutor Vicente de Paula Prisco da Cunha, que com muita dedicação incentivou o meu ingresso no mestrado e Doutorado.

Ao Professor Doutor Luiz Rogério de Oliveira Hein da FEG/UNESP, pelo auxílio com a realização das análises no MEV, indispensáveis para este estudo.

A minha amiga Ana Lúcia Escada, grato pela sua amizade, pelo auxílio e dedicação. Você participou de todas as fases deste trabalho e foi de grande importância para a realização do mesmo.

Aos professores e técnicos do Laboratório de Materiais e Tecnologia da FEG/UNESP, Manoel Francisco dos S. Filho, Domingos Hasmann Neto, José Manoel Bernardes, Célio José de Souza, Wilson Roberto Monteiro, pela dedicação e cooperação nos trabalhos.

À Neide, pelo cuidado com os animais e o auxílio na manipulação dos mesmos.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da FEG/UNESP, Regina Célia Galvão Faria Alves, Elisa Mara de Carvalho Nunes, Sidney Eustáquio Ramos Rabelo, Maria Cristina Silva de Oliva, Adriano Martins de Almeida pela atenção no atendimento.

À secretária do Departamento de Materiais e Tecnologia Maria Aparecida R. Vasconcelos pela gentileza no atendimento.

Este trabalho contou com o apoio da FAPESP (2007/00059-7)

"O sucesso é a soma de pequenos esforços –
repetidos dia sim, e no outro dia também"

(Robert Collier)

OLIVEIRA, J.A.G.. EFEITO DO TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE BIOMIMÉTICO NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS DA LIGA Ti-7,5Mo. 2012. Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, São Paulo, Guaratinguetá, 2012.

RESUMO

Os Biomateriais Metálicos são utilizados para reforçar ou para restaurar a forma e função de tecidos duros. Os implantes e próteses são utilizados para substituir ombros, joelhos, quadris e dentes perdidos entre outros. Nos últimos anos, varias ligas de titânio para aplicações biomédicas foram avaliadas. Neste trabalho, a influência do tratamento de superfície biomimético na osseointegração de implantes dentários da liga Ti-7,5Mo foi avaliada. Os lingotes foram obtidos a partir de titânio e molibdênio utilizando um forno a arco voltaico. Eles foram submetidos a tratamento térmico e conformados a frio em prensa rotativa. Posteriormente foram confeccionados implantes (2,0 mm de diâmetro e 2,5 mm de comprimento) sob medida os quais submetidos ao tratamento de superfície biomimético. Os implantes foram inseridos e analisados histológica realizada após 28 dias. A caracterização microestrutural e mecânica da liga Ti-7,5Mo também foi realizada. Aliga Ti-7,5Mo exibiu baixo modulo de elasticidade e elevada relação resistência/modulo. O uso do tratamento de superfície biomimético promoveu um aumento da osseointegração sobre a superfície dos implantes.

Palavra-chave: Implantes Dentários, Tratamento de Superficie, Osseointegração

OLIVEIRA, J.A.G.. EFFECT OF BIOMIMETIC SURFACE TREATMENT IN OSSEOINTEGRATION OF THE Ti-7.5Mo DENTAL IMPLANTS. 2012. Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, São Paulo, Guaratinguetá, 2012.

ABSTRACT

Metallic biomaterials are used to reinforce or to restore form and function of hard tissues. Implants and prosthesis are used to replace shoulders, knees, hips and teeth. In the last years, several titanium alloys for biomedical applications have been studied. In the present work, influence of biomimetic surface treatment in osseointegration of Ti-7.5Mo dental implant was evaluated. Ingots were obtained from titanium and molybdenum by using an arc-melting furnace. They were submitted to heat treatment and cold worked by swaging. Then, screw-shaped implants (2.0 mm diameter by 2.5 mm length) were custom made and they were submitted biomimetic surface treatment. Implants were implanted in the rat's femur and histological analysis was realized after 28 days. Also, microstructural and mechanical properties of Ti-7.5Mo alloy were evaluated. Ti-7.5Mo showed low elasticity modulus and higher ratio strength/modulus. Results obtained suggest that Ti-7.5Mo exhibited excellent bulk properties. The use of the biomimetic surface treatment was able to promote an increase of osseointegration on surface of dental implants.

Keywords: Titanium alloys ; dental implants; surface treatment; osseointegration

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Implante dentário	20
FIGURA 2 – Representação dos eventos da osseointegração.....	21
FIGURA 3 - (a) Formação capsula fibrosa (Bioinerte), (b) Formação de osso (Bioativo).....	23
FIGURA 4 – Classificação dos biomateriais.....	23
FIGURA 5 – Diagrama de fases pseudobinário do titânio e estabilizadores da fase β	24
FIGURA 6 - Mudanças na superfície de Ti CP devido a tratamento de superfície.....	35
FIGURA 7 - Formação da camada de apatita após imersão em SBF.....	36
FIGURA 8 - Superfície da liga Ti-15Mo-5Zr-3Al: (a) após tratamento alcalino; (b) após tratamento alcalino e térmico a 600 °C por 1 h.....	37
FIGURA 9 - Micrografias da superfície da liga Ti-15Mo-5Zr-3Al após imersão em SBF por: (a) 3 dias; (b) 5 dias (c) 7 dias.....	37
FIGURA 10 - Micrografia da superfície da liga Ti-7,5Mo: (a) após tratamento alcalino e imersão em SBFX5 por 7 dias; (b) após tratamento alcalino e imersão em SBFX5 por 14 dias; (c) após tratamento alcalino, tratamento térmico e imersão em SBFX5 por 7 dias; (d) após tratamento alcalino, tratamento térmico e imersão em SBFX5 por 14 dias.....	40
FIGURA 11 - Fluxograma da metodologia empregada no trabalho.....	41
FIGURA 12 – Forno para a fusão da liga.....	42
FIGURA 13 – Forja rotativa.....	43
FIGURA 14 - Corpo de prova empregado no ensaio de tração.....	45
FIGURA 15 – Implante confeccionado de Ti-7,5Mo.....	46
FIGURA 16 – Preparo do SBF com inserção de CO ₂	48
FIGURA 17 – Imersão em SBF.....	47
FIGURA 18 - (a) implante em montador; (b) embalados e esterilizados.....	49
FIGURA 19 – Gaiolas utilizadas para manutenção dos ratos.....	50
FIGURA 20 – Representação dos grupos utilizados na pesquisa.....	51
FIGURA 21 – Anestesia.....	53
FIGURA 22 – Preparo para inserção do implante.....	53

FIGURA 23 – (a,b) motor cirúrgico; (c,d) broca helicoidal para perfuração.....	54
FIGURA 24 – Instalação dos implantes.....	55
FIGURA 25 – Sutura com fio de seda.....	55
FIGURA 26- Câmara de CO ₂ utilizada para sacrifício dos animais.....	56
FIGURA 27 -Rota de processamento empregada na confecção dos implantes.....	57
FIGURA 28 – Microestrutura obtida para liga Ti- 7,5Mo na condição bruta de fusão. Representação esquemática cadinho e lingote com as regiões avaliadas.....	58
FIGURA 29 – Microestrutura obtida para liga Ti- 7,5Mo na condição solubilizada.....	59
FIGURA 30 – Padrões de raios-X da liga Ti-7,5Mo nas condições bruta de fusão e solubilizada.....	59
FIGURA 31 - Superfície do implante após usinagem. Detalhe das estrias de usinagem.....	61
FIGURA 32 - Superfície do implante após tratamento alcalino (NaOH 5M, 80 °C) e térmico (600 °C).....	62
FIGURA 33 - Crescimento de apatita sobre a superfície da amostra após imersão em SBF durante 24 horas.....	63
FIGURA 34 - Micrografia da seção transversal do implante mostrando a interface osso/implante. A - Espaço medular; B - Trabéculas ósseas.....	65
FIGURA 35 - Micrografia da seção transversal do implante Ti C.P. mostrando a interface osso/implante.....	65
FIGURA 36 - Grupo Tratado da liga Ti-7,5Mo(28 dias) - Osso maduro no perímetro do implante.....	66

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Efeito dos elementos de liga.....	25
QUADRO 2 - Propriedades Mecânicas do sistema binário Ti-Mo.....	26
QUADRO 3 - Características das principais fases do fosfato de cálcio.....	30
QUADRO 4 - Concentrações iônicas do plasma humano e das principais soluções SBF encontradas na literatura.....	31
QUADRO 5 - Métodos de modificação de superfície empregados para titânio e suas ligas.....	32
QUADRO 6 - Concentrações iônicas do plasma humano e das principais soluções SBF.....	38
QUADRO 7 - Composição SBF 5x	47
QUADRO 8 - Número de animais/ implantes utilizados.....	51
Quadro 9 - Propriedades mecânicas obtidas para a liga Ti-7,5Mo na condição solubilizada a partir da realização do ensaio de tração comparados com valores obtidos na literatura para o Ti CP e Ti-6Al-4V (NIINOMI, 1998).....	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 Objetivos Gerais.....	18
1.2.2 Objetivos Especificos.....	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 CONSIDERAÇÃO GERAIS	20
2.2 IMPLANTES DENTÁRIOS.....	27
2.3 MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS.....	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.1 CONFECÇÃO DA LIGA.....	42
3.1.1 Preparo da liga e obtenção dos implantes.....	42
3.2.CARACTERIZAÇÃO DA LIGA DA SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES.....	43
3.2.1 Caracterização da Liga.....	44
3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	45
3.3 CONFECÇÃO DOS IMPLANTES.....	45
3.3.1 Confecção do montador.....	46
3.4 TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES.....	46
3.2.1 Tratamento de superfície Biomimético.....	47
3.5 ESTUDO IN VIVO – CIRURGIA E INSTALAÇÃO DOS IMPLANTES.....	49
3.5.1 Grupos Experimentais.....	50
3.5.2 Técnica Cirúrgica.....	52
3.5.3 Análise Histológica.....	56
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
4.1 CONFECÇÃO DOS IMPLANTES.....	57
4.1.1 Caracterização microestrutural e mecânica da liga.....	57
4.1.2 Caracterização dos Implantes.....	61
4.2 AVALIAÇÃO IN VIVO – Analise Histológica.....	64
5 CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS BIBIOGRÁFICAS.....	68
ANEXO.....	73

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as técnicas de implantação já eram empregadas na substituição dos dentes perdidos. A implantação pode ser definida como a inserção de qualquer objeto ou material, como uma substância aloplástica ou outro tecido, parcial ou completamente, no corpo, com objetivo de reparar um órgão ausente. Dessa forma, novos materiais capazes de substituir as funções desempenhadas pelo corpo humano foram criados levando ao desenvolvimento dos biomateriais (ANUSAVICE, 2005).

Os implantes dentários possuem uma longa história de sucesso. Atualmente, a porcentagem de falha é muito baixa, em torno de 5%, e geralmente ocorre devido a fatores como infecção, perda óssea acelerada e osseointegração insuficiente com perda do implante. No entanto, a causa mais frequente associada a falha é a formação óssea insuficiente em torno do biomaterial após implantação (TOMSIA et al., 2011).

De acordo com Palmquist et al. (2010) a primeira geração de implantes de titânio, já é utilizada clinicamente há aproximadamente 50 anos e é caracterizada pelo emprego de implantes usinados com superfície plana. Por outro lado, a segunda geração, empregada clinicamente há 15 anos, possui modificações de superfície químicas e topográficas. É interessante observar que enquanto as propriedades mecânicas dos materiais, como por exemplo, módulo de elasticidade e resistência à fadiga, são determinadas pelo volume do material, interações químicas e biológicas entre o material e o hospedeiro estão intimamente ligadas às propriedades de superfície do material.

O titânio comercialmente puro (CP) e suas ligas são os materiais mais empregados na fabricação de implantes dentários devido as suas excelentes propriedades mecânicas, superior resistência à corrosão e biocompatibilidade. Nos últimos anos, diversas ligas de titânio livres de elementos citotóxicos foram pesquisadas buscando essa aplicação, por exemplo, ligas binárias do sistema Ti-Mo (Alves et al., 2004; Alves-Rezende et al., 2007; Escada et al. 2010) e Ti-Zr (HO et al., 2008).

Entretanto, esses materiais metálicos são considerados bioinertes, ou seja, eles não podem se unir diretamente ao tecido ósseo após a implantação, levando muitas vezes a movimentação na interface osso-implante (XUE *et al.*, 2005). Dessa forma, uma melhor união da interface osso/implante pode ser obtida com a aceleração da cicatrização óssea ou com o aumento da ancoragem mecânica, partindo-se de duas abordagens: primeira, a interface é modificada quimicamente a partir da incorporação de fases inorgânicas, tais como fosfato de cálcio, sobre ou dentro da camada de TiO₂. Esta modificação estimula a regeneração óssea e

aumenta o embricamento bioquímico entre as proteínas da matriz óssea e a superfície do material. A modificação bioquímica da superfície é uma variante e está relacionada com a incorporação de moléculas orgânicas, tais como proteínas, enzimas ou peptídeos, para induzir uma resposta específica. Uma outra abordagem é a modificação física da interface, a partir da alteração da topografia da superfície. Ao nível micrométrico, a razão para o emprego desta técnica é que uma superfície rugosa apresenta maior área do que uma superfície plana. Ao nível nanométrico, a rugosidade aumenta a energia superficial, e desse modo aumenta a adsorção de proteína, a migração e proliferação celular, e finalmente a osseointegração (EHRENFEST et al., 2010).

Diferentes tratamentos de superfície foram relatados na literatura buscando a modificação da superfície de implantes dentários. A seleção apropriada de uma dessas técnicas ou a combinação delas é um fator importante para alcançar a superfície desejada (CHEN 2005).

O emprego de revestimentos de Ca-P sobre implantes metálicos, combinando a biocompatibilidade das cerâmicas com as propriedades mecânicas do metal, é uma alternativa atrativa para essas aplicações. A apatita é um dos principais componentes da matriz óssea extracelular e apresenta vantagens únicas como osteocondutividade, elevada afinidade com células e habilidade para absorver proteínas. Um das técnicas mais promissoras para deposição de apatita sobre a superfície dos implantes é o método biomimético. (BARRERE et al., 2001; CHEN et al., 2005; CHEN et al., 2009). Nessa técnica, o material é submetido a um tratamento alcalino em solução de hidróxido de sódio (NaOH), havendo a formação de uma camada de gel hidratada. Posteriormente, é realizado o tratamento térmico e imersão em fluido corpóreo simulado (SBF), com concentrações inorgânicas próximas do plasma humano. Essa solução foi introduzida na década de 1990 por Kokubo et al. 1998, buscando avaliar inicialmente a bioatividade *in vitro*, de materiais sintéticos. Para simular a condição do corpo humano, a solução SBF original foi preparada às condições fisiológicas (pH=7,4 e temperatura de 36,7 °C) usando Tris (Tri-hidroximetilaminometano) como solução tampão (QU, WEI, 2008). Posteriormente, Barrere et al. (2000) conseguiram obter um revestimento de fosfato de cálcio na superfície da liga Ti-6Al-4V a partir da imersão dos substratos em fluido corpóreo simulado (Simulated Body Fluid) em uma técnica conhecida como Tratamento de Superfície Biomimético. Essa técnica possui quatro vantagens principais: (i) é um processo que ocorre em temperaturas baixas podendo ser aplicável a substratos sensíveis a temperaturas elevadas; (ii) forma cristais de apatita semelhantes ao osso tendo elevada

bioatividade e bioreabsorção; (iii) pode ser empregado em materiais de geometria complexa e (iv) pode ser incorporada durante o crescimento ósseo (HABIBOVIC et al., 2002).

As propriedades do revestimento Ca-P depositado, tais como composição química, espessura, resistência de união, bioatividade *in vitro* e *in vivo*, dependerão fortemente da natureza do SBF. Nos últimos anos, foram desenvolvidas variações da solução SBF preconizadas por Kokubo et al. (1998), sendo mais comum atualmente o uso de soluções saturadas com tempos reduzidos de deposição (BARRERE et al. 2004).

O emprego de soluções SBF em ligas de titânio Ti-7,5Mo tem sido avaliado por nosso grupo nos últimos anos (ESCADA et al., 2010;), tornando possível a realização de estudos *in vitro* para desenvolvimento do método biomimético com subsequente deposição de apatitas nesses materiais.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivos Gerais

O objetivo do presente trabalho foi a partir do emprego de técnicas de modificações de superfície obter a formação de apatita sobre a superfície de parafusos de titânio confeccionados de lingotes da liga Ti-7,5Mo. Técnicas de caracterização de superfície do implante foram empregadas. Um estudo *in vivo* com animais foi realizado para avaliar a osseointegração dos implantes com e sem tratamento de superfície (grupo controle).

1.2.2. Objetivos Específicos

Criar e desenvolver um implante a partir de uma nova liga de titânio (Ti-7,5Mo), com modificação da superfície a partir do uso de tratamento biomimético, para acelerar o processo de cicatrização óssea.

1.3. ESTRUTURA DA TESE

Esta tese é composta por cinco capítulos e pelas referências bibliográficas, e seu conteúdo apresenta-se distribuído da seguinte forma:

Capítulo 1 - Introdução: expõe aspectos gerais sobre a tese, proposta do trabalho, objetivos e a estrutura da tese.

Capítulo 2 - Revisão da Literatura: Considerações Gerais, Implantes Dentários, Modificação da Superfície de Implantes Dentários.

Capítulo 3 - Materiais e Métodos: obtenção Confeção dos Implantes, Tratamento de Superfície dos Implantes, Caracterização da Liga e da Superfície dos Implantes, Estudo in vivo – cirurgia e instalação dos implantes.

Capítulo 4 - Resultados e Discussão: Apresentação dos resultados alcançados nos experimentos realizados no trabalho e discussão a partir das pesquisas desenvolvidas por outros autores.

Capítulo 5, Conclusões: Principais conclusões obtidas a partir da realização da pesquisa.

Referências.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O objetivo da Odontologia moderna é restaurar a função, a fala, a saúde e a estética em pacientes com perdas dentárias devido a traumas ou patologias do sistema estomatognático. Nesse último caso, os implantes dentários são uma excelente opção para a substituição de dentes perdidos devido a problemas periodontais ou traumas, ou a outros fatores. Confeccionados a partir de metais biocompatíveis, funcionam como uma raiz artificial, ancorada cirurgicamente ao rebordo ósseo servindo de base para prótese (Figura 1). O período da osseointegração após a cirurgia varia de três a seis meses, período em que a osseointegração ocorre (OSHIDA et al., 2010).



Figura 1 – Implante dentário utilizado em substituição a dentes perdidos (<http://www.netdentista.com>)

A osseointegração é definida experimentalmente como o contato íntimo entre o osso e o implante e, em termos clínicos, como a estabilidade e a anquilose de um implante ao osso (EHRENFEST *et al.*, 2010). O sucesso da osseointegração está relacionado diretamente com a

interface osso/implante e dessa forma a resposta do hospedeiro e o desempenho do material nesse meio serão decisivos.

Na Figura 2 é possível observar uma representação esquemática da interação que ocorre entre o material após sua inserção e o meio biológico. Quando o bio material é implantado o primeiro evento que ocorre é a adsorção de proteínas. Estas proteínas chegam com sangue e líquidos teciduais no local da ferida e, posteriormente, começa a atividade óssea celular na região implantada. Uma vez sobre a superfície, as proteínas começam a absorver as células nativas ou desnaturadas ou interagir com o osso e implante. Além da proteína de adsorção entre o osso e o implante, ocorrem mudanças na superfície óssea, dessa forma o substrato será diretamente responsável pela resposta do hospedeiro (PULEO e NANCI, 1999).

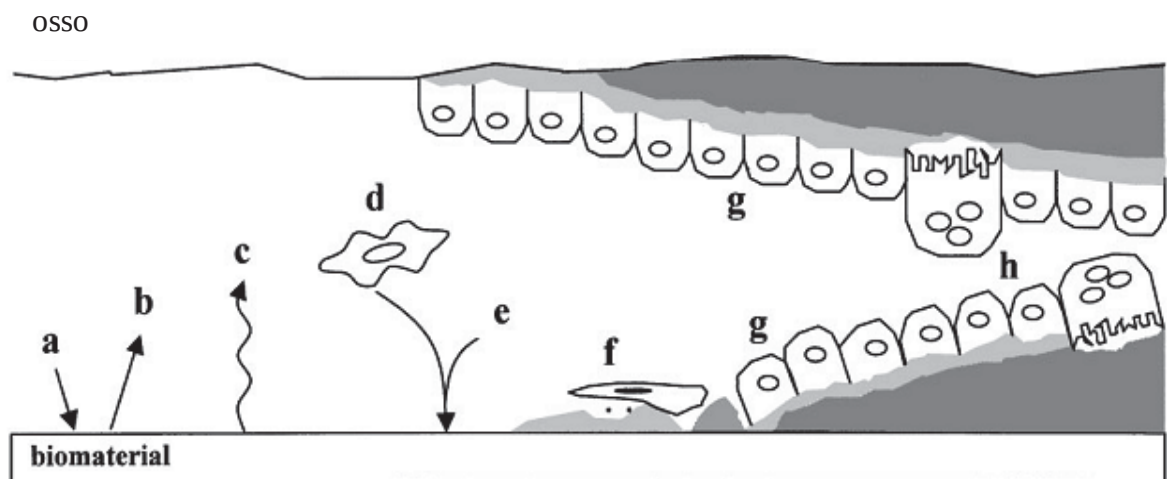


Figura 2 – Representação dos eventos da osseointegração: a) Proteína de absorção presente nos fluídos e sangue; b) Proteínas de reabsorção; c) Alteração óssea e a superfície do implante; d) Inflamação e células do tecido ósseo conectadas ao implante; e) Liberação de proteínas da matriz óssea e acréscimo de proteínas como BSP; f) Formação de lamina limitante e adesão de células osteogênicas, g) Deposição de osso sobre o implante e a superfície óssea, h) Remodelação do osso neoformado (adaptado de Puleo e Nanci, 1999)

.Biomaterial é o termo empregado para esses materiais utilizados em aplicações biomédicas onde sempre é necessária uma intervenção clínica para sua colocação (RAUTRAY; KIM 2010). Pode ser definido como qualquer material biológico ou sintético que substitui ou restaura a função de tecidos do corpo humano e que mantém contato contínuo ou intermitente com os fluidos corpóreos. Dessa forma, é essencial que o material apresente biocompatibilidade, não produza resposta biológica adversa, não induza efeito sistêmico, não seja tóxico, carcinogênico, antigênico ou mutagênico (MORAIS *et al.*, 2009).

De acordo com Geetha (2009) os biomateriais podem ser classificados de acordo com a resposta do tecido em função do desenvolvimento do tipo de interface implante/osso em :

- Bioabsorvíveis: degradam-se gradualmente ao longo de um período de tempo e são substituídos pelo tecido natural do hospedeiro. 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, como é visto no osso liofilizado, membrana de colágeno e outros.
- Biotoleráveis ou Bioinertes: quando implantados são envolvidos por uma cápsula fibrosa que o isolam do meio biológico. Devido a sua estabilidade química quando comparado a outros materiais são bem tolerados pelo organismo e menos suscetíveis a reações biológicas adversas. A espessura da cápsula fibrosa dependerá da interface implante/tecido; como é observado nos parafusos fixadores e placas redutoras ortopédicas (Figura 3a).
- Bioativos: esses materiais permitem a formação de novo osso (osteogênese) e a troca de íons com o tecido ósseo, ocorrendo a ligação química entre implante/osso (osseointegração) sem a formação de uma cápsula fibrosa . Podem ainda ser classificados como osteoindutores, quando promovem uma resposta intracelular e extracelular na interface, e osteocondutores , por promoverem uma superfície biocompatível , favorecendo o desenvolvimento das células ósseas, como é visto nos implantes dentários (Figura 3b).

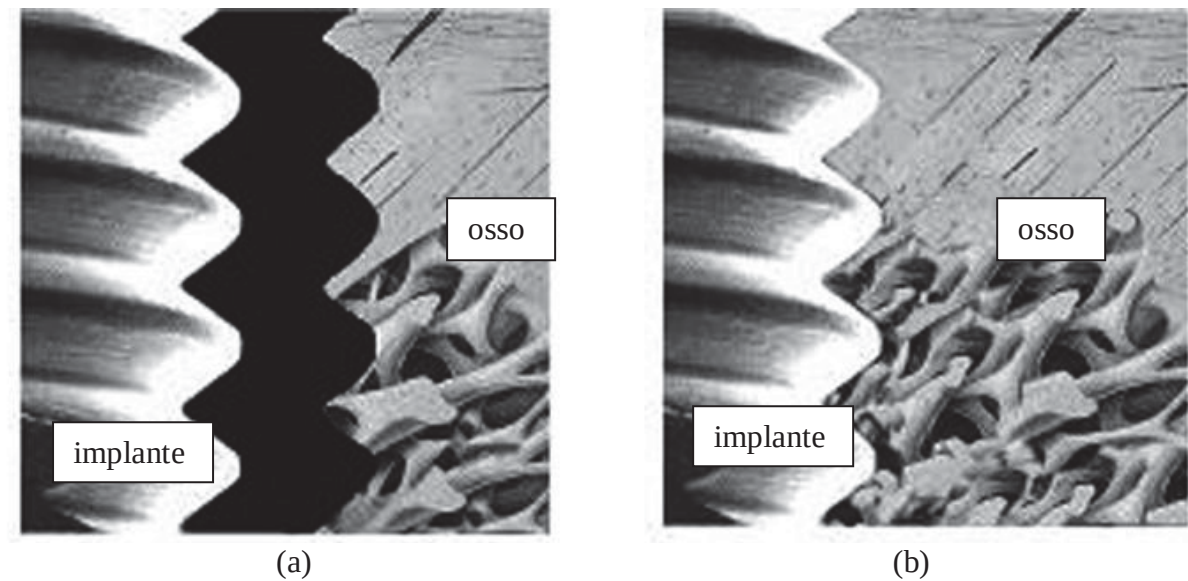


Figura 3 – (a) Desenho da formação capsula fibrosa (Bioinerte), (b) Desenho da formação de osso (Bioativo). (adaptado de GUASTALDI; APARECIDA 2010)

Os biomateriais podem ainda ser classificados como biomédicos, quando são de origem artificial (metais, cerâmicas, polímeros, compósitos) e biológicos, quando são de origem natural (vegetal, animal, ou humano) (Figura 4).

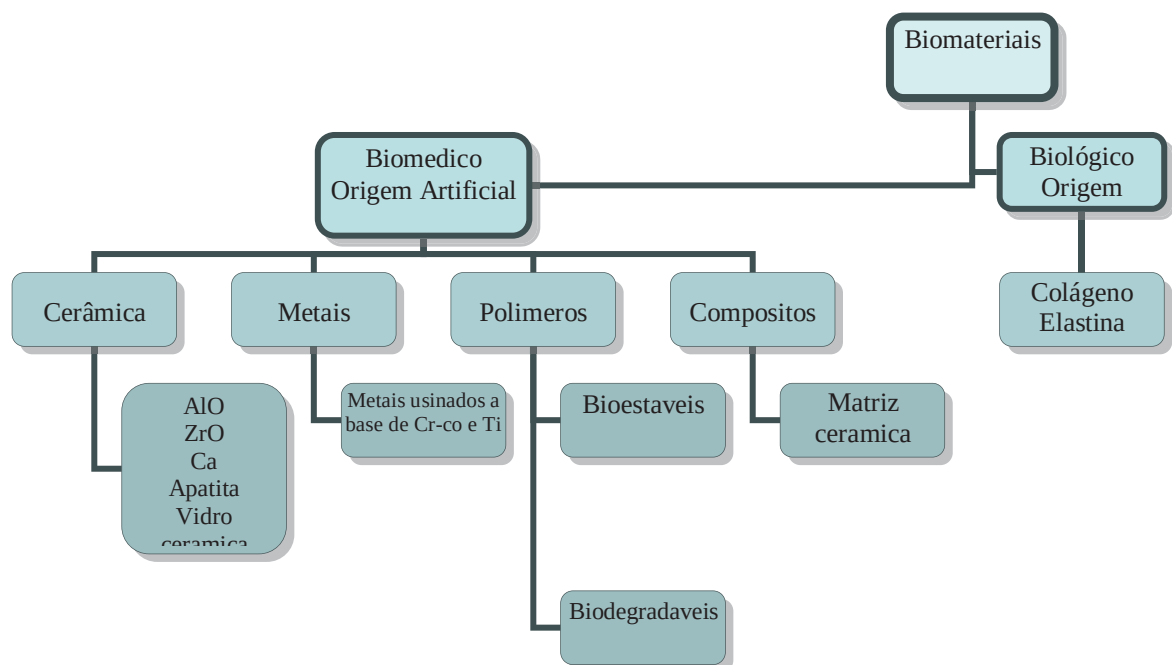


Figura 4 – Classificação dos biomateriais (Adaptado de Vallet-Regi (2001)).

De acordo com Geetha et al., 2009, o titânio e suas ligas são os biomateriais metálicos empregados para aplicações biomédicas. O titânio existe em duas formas alotrópicas. A baixas temperaturas possui uma estrutura hexagonal compacta (HCP) conhecida como fase α , e acima de 883 °C uma estrutura cúbica de corpo centrado (CCC) conhecida como fase β . Essa temperatura de transformação α - β aumenta ou diminui de acordo com os elementos de liga. Os elementos de liga tais como alumínio, oxigênio, nitrogênio que estabilizam a fase α são denominados α -estabilizadores e a sua adição aumenta a temperatura de transformação β , enquanto os elementos que estabilizam β reduzem a temperatura de transformação são denominados estabilizadores β (vanádio, molibdênio, nióbio, ferro, cromo, etc.). Alguns elementos não tem efeito sobre a estabilização de uma fase mas formam solução sólida com o titânio, é o caso do Zr e Sn (elementos neutros).

ção aceita para as ligas de titânio. As ligas formadas pela fase α são conhecidas como ligas – α . No entanto, se pequenas quantidades da fase β estão presentes, a liga é classificada como “near- α ”.

As ligas β são definidas como ligas que retêm uma estrutura beta após resfriado rápido a partir do campo β . Estas ligas contêm estabilizadores β que evitam o resfriamento através da linha de início da transformação martensítica (Mi) consequentemente evitando a formação de martensita (Figura 5) (WEISS;SEMIATIN, 1998).

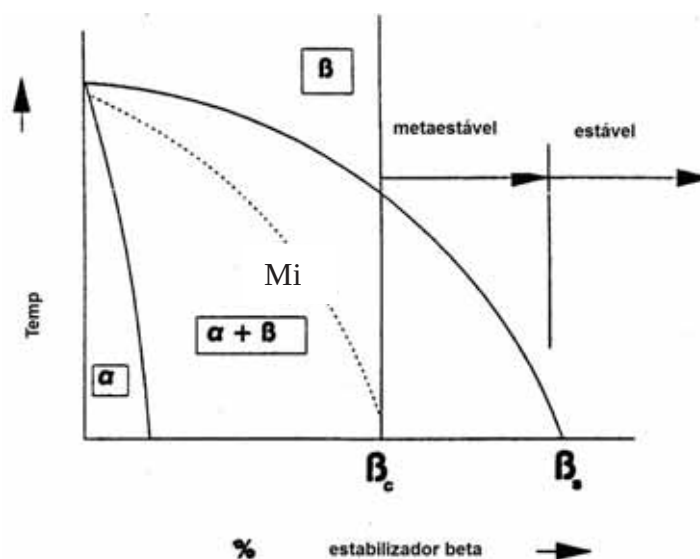


Figura 5 – Diagrama de fases pseudobinário do titânio e estabilizadores da fase β (adaptado de WEISS, SEMIATIN, 1999)

Os principais elementos da liga e seus efeitos nas ligas de titânio são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 – Efeito dos elementos da liga

Elementos de liga	Faixa (% massa)	Efeito na estrutura e propriedade
Alumínio (Al)	2-7	Estabilizador da fase α Reduz a densidade Aumenta a resistência à oxidação
Carbono (C)	0.05-0,1	Estabilizador da fase α Elemento intersticial
Cromo (Cr)	2-12	Estabilizador da fase β
Hifrogênio (H)	0,008-0,02	Estabilizador da fase β Elemento intersticial
Ferro (Fe)		Estabilizador da fase β
Manganês (Mn)		Estabilizador da fase
Molibdênio (Mo)	2-20	Estabilizador da fase β
Níquel (Ni)		Estabilizador da fase β
Nióbio (Nb)		Estabilizador da fase β Aumenta a resistência à oxidação de ligas de Ti
Nitrogênio	0,015-0,07	Estabilizador da fase α Elemento intersticial
Oxigênio	0,1-0,4	Estabilizador da fase α Elemento intersticial
Silício (Si)	0,05	Estabilizador da fase β
Tântalo (Ta)		Estabilizador da fase β
Estanho (Sn)	2-6	Estabilizador neutro Melhora a soldabilidade
Vanádio (V)	2-20	Estabilizador da fase β
Zircônio (Zr)	2-20	Estabilizador neutro Tendência a homogeneização de precipitado de silicato

A liga Ti-6Al-4V é empregada na área biomédica devido as suas propriedades mecânicas e resistência à corrosão. No entanto, estudos tem demonstrado que a liberação de íons de vanádio e alumínio pode levar a problemas de saúde em longo prazo, como neuropatia periférica e mal de Alzheimer, o que tem levado ao desenvolvimento de novas ligas de titânio.

Em 1999, Ho *et al.* avaliaram diversas composições (6-20 % massa) do sistema binário Ti-Mo. Os resultados do estudo mostraram que a estrutura e propriedades das ligas avaliadas eram fortemente influenciadas pela composição escolhida conforme pode ser verificado no Quadro 2. A liga Ti-7,5mo apresentou os melhores resultados com relação ao módulo de elasticidade (55 GPa). Em estudos posteriores os autores verificaram que a liga Ti-7,5Mo exibe excelente resistência à corrosão similar ao Ti C.P. (HO et al., 2008).

Quadro 2 – Propriedades Mecânicas do sistema binário Ti-Mo (HO *et al.*,1999)

Liga (%p Mo)	Propriedades Mecânicas		
	Dureza (HV 200 g)	Mod. Elast. (GPa)	Resistência (MPa)
Ti-6Mo	270	70	1480
Ti-7,5Mo	265	55	1400
Ti-9Mo	320	78	1485
Ti-10Mo	347	97	1780
Ti-12,5Mo	348	84	1420
Ti-15Mo	310	70	1380
Ti-17Mo	310	78	1650
Ti-20Mo	305	86	1620

Lin et al., 2007 avaliaram o nível de bio-integração das ligas Ti-7,5Mo em comparação a liga Ti- 6Al- 4V. Foram confeccionados implantes cilíndricos da liga (2mm diâmetro / 7 mm de comprimento) que foram implantados no fêmur de coelhos. A formação óssea ao redor do implante foi acompanhada por métodos histológicos após 6, 12 e 26 semanas após instalação dos mesmos. A partir da análise dos resultados os autores verificaram que a formação de tecido ósseo ao redor dos implantes de Ti-7,5Mo foi duas vezes superior a que ocorreu para a liga Ti- 6Al- 4V. A ótima biocompatibilidade observada para as ligas Ti-7,5Mo sugere que sua aplicação para a confecção de implantes dentários.

2.2. IMPLANTES DENTÁRIOS

Os biomateriais metálicos são usados para reforçar a estrutura ou restaurar a função de tecidos duros, sendo usados para junções artificiais, ossos artificiais, placas de síntese, aparelhos ortodônticos, parafusos de fixação ortopédica e implantes dentários. Nos últimos vinte anos, o número de cirurgias para instalação de implantes de dentários tem aumentado progressivamente alcançando a média de 1.000.000 de instalações por ano. Estima-se que são utilizados todos os anos nos Estados Unidos 500.000 próteses artificiais (principalmente de quadris e joelhos) e de 100.000 a 300.000 implantes dentários. Estes implantes biomédicos representam bilhões de dólares e sua utilização aumenta a cada ano devido ao aumento da expectativa de vida da população (HO, 2008).

Os implantes osseointegrados são amplamente utilizados em reabilitações buco-maxilo-facial. O desenvolvimento dos implantes dentários revolucionou as possibilidades de reabilitação para pacientes parcial ou totalmente desdentados. Diversos estudos longitudinais têm mostrado altas taxas de sucesso com a utilização dessa opção terapêutica (JOLY e LIMA, 2003)

Existem dois tipos de resposta biológica após a instalação do implante. O primeiro tipo envolve a formação de um tecido fibroso capsular ao redor do implante. Este tecido fibroso capsular não assegura uma boa fixação biomecânica e leva a falha clínica do implante dentário. O segundo tipo de resposta óssea é o contato direto osso-implante sem a intervenção tecido conjuntivo fibroso, conhecido como osseointegração (GUEHENNEC et al., 2007).

A osseointegração é definida experimentalmente como um contato direto entre osso e a superfície do implante em seções histológicas e, em termos clínicos, como a estabilidade e anquilose de um implante de osso. Observada inicialmente em implantes com superfícies de titânio, a osseointegração foi considerada como um resultado de uma resposta a um corpo estranho: o trauma cirúrgico decorrente de implante induz um grave estresse oxidativo, e os resultados do excesso de radicais livres e oxigenados derivados da superfície de titânio, levam ao espessamento da camada de dióxido de titânio (TiO_2) na superfície. Cálcio e íons de fósforo da matriz óssea são integradas no âmbito da camada porosa de TiO_2 , o que torna a interface osso/implante altamente dinâmica. Inversamente, a contaminação ou a destruição da camada de TiO_2 leva à perda patológica da osseointegração, chamada periimplantite. Hoje em dia, o termo “osseointegração” também é utilizado com não-metals, embora o subjacente mecanismo bioquímico seja diferente,

porque não é relacionado com a oxidação do titânio. Muitos estudos estão sendo feitos para a melhoria da interface osso/implante, com o objetivo de acelerar a cicatrização óssea e melhorar fixação do implante ao osso (XAVIER, 2002).

a partir da modificação da geometria ou da superfície do implante. A busca por uma configuração adequada levou ao desenvolvimento dos implantes cilíndricos rosqueáveis, os quais apresentam grande área de contato, estabilidade e transferência de cargas. O formato das roscas deve maximizar a força e estabilidade interfacial, com o aumento da área superficial de contato com o osso, assim como a transferência de cargas para o osso de forma mais bem distribuída, melhorando, assim, o prognóstico do implante em longo prazo (MORAIS et al. 2009). As geometrias dos diferentes tipos de roscas aumentam a retenção e estabilização do implante, facilitam a instalação cirúrgica, alteram a quantidade de contato osso/implante e a distribuição de tensão periimplantar (PADOVAN et al. 2008).

Os implantes sem roscas quando comparados a implantes com roscas aumentam a área funcional de osseointegração e aliviam gradientes de tensão periimplantares por aumentarem a área de contato osso/implante (MISCH, 2006).

As modificações no desenho do corpo e na superfície do implante têm sido sugeridas para aumentar o sucesso em ossos menos densos por meio do ganho de uma melhor ancoragem e uma maior área de superfície para a distribuição das cargas oclusais. (CARVALHO et al., 2009).

2.3. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS

O implante para reparação óssea deve ter propriedades mecânicas e biológicas, porém é difícil um material reunir todas as propriedades necessárias (DOHAN et al., 2010). O emprego do titânio e suas ligas na área médica e odontológica foi estudado nos últimos anos devido às propriedades desses materiais como boa ductilidade, alta resistência mecânica e à fadiga além de elevada resistência à corrosão devido à formação da camada passiva em sua superfície. No entanto, esses materiais não são bioativos, ou seja, não podem se unir diretamente ao tecido ósseo e promover nova formação óssea sobre sua superfície logo após a sua implantação. Para melhorar a bioatividade e acelerar a osseointegração, é essencial a modificação de superfície empregando técnicas como tratamento alcalino, ataque ácido e anodização, dentre outras (HO, 2009).

Como resultado das diferentes modificações de superfície, as seguintes características podem ser alcançadas:

- Melhor ancoragem mecânica do implante ao tecido ósseo;
- Aumento da condutividade óssea e indutividade;
- Aumento da resistência ao desgaste;
- Aumento da resistência à corrosão;
- Aumento da biocompatibilidade e bioatividade;
- Tempos de cicatrização reduzidos.

O tratamento de superfície com Ca-P, melhora a interface osso/implante. Logo após a instalação do implante, há uma melhora química na interface pela incorporação inorgânica (fosfato de cálcio) sobre a camada de TiO_2 , estimulando a regeneração óssea e aumentando a fixação bioquímica entre as proteínas da matriz óssea e a superfície do implante. A modificação da superfície bioquímica é uma variação da primeira etapa e serve especificamente para a incorporação de moléculas orgânicas, tais como proteínas, enzimas ou peptídeos, para induzir a resposta de tecidos celulares específicos. A segunda etapa é melhorar fisicamente a arquitetura e topografia da superfície do implante, a nível micrométrico, esta técnica forma uma superfície rugosa apresentando uma maior área de superfície lisa em contato com o osso, aumentando a fixação óssea e reforçando o travamento biomecânico do osso com o implante, pelo menos até um certo nível de rugosidade. Ao nível nanométrico a rugosidade aumenta a energia de superfície, e assim melhora a adsorção da matriz de proteínas, migração óssea e proliferação de células e finalmente a osseointegração (DOHAN et al., 2010).

Devido à semelhança química com os ossos humanos, a hidroxiapatita (HA , $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) e outros fosfatos de cálcio são conhecidos por possuir as propriedades bioativas. No Quadro 3 são apresentadas as principais fases dos fosfatos de cálcio. A razão cálcio/fósforo (Ca/P) é um parâmetro importante na determinação da fase de fosfato presente e da sua solubilidade. Uma solubilidade alta implica em uma razão Ca/P inferior a 1,0 enquanto uma razão próxima de 1,67 indica solubilidade baixa. 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 (CHEN et al. 2009).

A deposição de apatita por “plasma spray” é uma técnica clinicamente usada. Nessa técnica o pó de hidroxiapatita utilizado para recobrir o substrato é aquecido a temperaturas em torno de 10.000°C , e assim partículas parcialmente fundidas são depositadas. Dessa forma, é difícil

controlar a composição e a cristalinidade da hidroxiapatita, ocorrendo a formação de uma camada porosa, fracamente aderida ao substrato metálico e instável no corpo humano (KIM et al., 2000).

Nos últimos anos, o processo de revestimento biomimético foi empregado para produzir uma camada de apatita a partir da imersão do substrato em Fluido Corpóreo Simulado (SBF – Simulated Body Fluid) proposto por Kokubo *et al* na década de 1990 com composição, temperatura e pH similares ao fluido corpóreo. No Quadro 4 são mostradas as concentrações iônicas do plasma sanguíneo humano e do SBF proposto por Kokubo (KOKUBO,1998). Esse tratamento possui quatro vantagens principais: 1- ocorre em baixa temperatura (60 °C-80 °C); 2 – ocorre a formação de cristais de apatita com alta bioatividade e boa reabsorção, 3 - deposição de uma camada uniforme e porosa e 4- incorporação de fatores estimulantes do crescimento ósseo (HABIBOVIC et al., 2002).

Quadro 3 - Características das principais fases de fosfatos de cálcio (Adaptado de DOROZHKIN, 2004)

Nome	Fórmula	Razão molar Ca/P
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10} (\text{PO}_4)_6 (\text{OH})_2$	1,67
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
Fosfato de Cálcio Amorfo (Ca-PA)	$\text{Ca}_x (\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2 - 2,2
α -Fosfato Tricálcio (α -TCP)	$\alpha - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β -Fosfato Tricálcio (β -TCP)	$\beta - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato Octacálcio (OCP)	$\text{Ca}_8 \text{H}_2 (\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Hidrogenofosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Hidrogenofosfato de Cálcio Anidro (DCPA)	CaHPO_4	1,0

Quadro 4 – Concentração iônica do plasma sanguíneo humano e soluções SBF (mmol/ L⁻¹)

Soluções	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	(HPO ₄) ⁻²	(HCO ₃) ⁻	(SO ₄) ⁻²	Ca/P
Plasma sanguíneo humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	1,0	27,0	0,5	2,5
SBF original	142,0	5,0	1,5	2,5	148,8	1,0	4,2	0	2,5

Diversas técnicas de tratamento de superfície foram desenvolvidas para melhorar a osseointegração do titânio e suas ligas de acordo com o Quadro 5.

Quadro 5 – Métodos de modificação de superfície empregados para titânio e suas ligas (adaptado de SOBIESZCZYK, 2010)

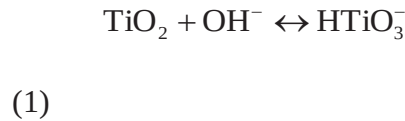
MÉTODOS DE MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE	OBJETIVOS
Métodos mecânicos	Aumento da adesão a partir de topografia de superfície específica
Usinagem	
Lixamento	
Polimento	
Jateamento	
Métodos Químicos	Aumento da biocompatibilidade, bioatividade e condutividade óssea. Aumento da resistência à corrosão. Remoção de contaminação
Tratamento ácido	
Tratamento alcalino	
Tratamento com peróxido de hidrogênio	
Tratamento sol-gel	
Oxidação anódica	
Deposição química de vapor (CVD)	
Métodos bioquímicos	
Métodos físicos	Aumento da resistência ao desgaste, corrosão e biocompatibilidade.
Plasma spray, aspersão térmica	
Deposição física de vapor (PVD)	
Implantação iônica	
Plasma	

No tratamento biomimético quando os implantes são imersos em solução alcalina (OH^-) há a dissolução da camada de óxido TiO_2 podendo promover a corrosão e formação de grandes poros na superfície do material, por meio da reação:

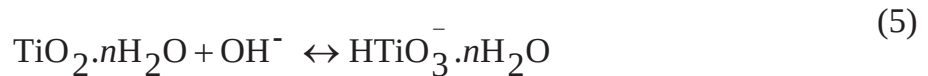
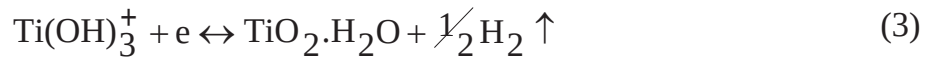


O titânio é submetido a tratamento térmico a 600°C , para a estabilização deste gel ocorrendo a desidratação da camada de titanato de sódio. Esta camada se estabiliza como uma camada de titanato de sódio amorfo contendo pequenas quantidades de titanato de sódio cristalino ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$) e rutilo (TiO_2). Após o tratamento alcalino e térmico, os implantes de titânio são submersos em SBF a 37°C , para a formação de uma camada densa e uniforme de apatita na superfície. Primeiramente os íons Na^+ da camada de titanato formado com o tratamento alcalino e térmico são substituídos por íons H_3O^+ do SBF formando grupos Ti-OH na superfície que induzem a formação de apatita. A superfície do metal tratado é inicialmente carregada negativamente (Ti-OH^-) o que atrai íons Ca^{2+} positivos, do fluido formando assim titanato de cálcio (CaTiO_3) amorfo. Simultaneamente, há o acúmulo de íons Ca^{2+} , tornando a superfície levemente positiva, o que atrai íons fosfato (PO_4^{2-}), negativos, para formar o fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) amorfo. Esta camada é então cristalinizada, muitos núcleos de apatita são formados na superfície e crescem espontaneamente a partir do consumo de íons cálcio e íons de fosfato do SBF. A camada de apatita resultante é fortemente ligada ao substrato já que se integra ao titânio a partir do óxido de titânio (KOKUBO *et al.*, 2006).

A figura 6 e 7 é uma representação esquemática da formação da apatita sobre a superfície do titânio a partir do emprego do tratamento biomimético para o Ti C P. Inicialmente, o titânio é coberto com uma camada passiva de óxido de titânio, quimicamente durável. Quando imerso em uma solução aquosa alcalina há a dissolução da camada de óxido TiO_2 podendo promover a corrosão e formação de grandes poros na superfície do material, por meio da reação (Equação 1):



Então o substrato reage de acordo com as equações 2,3,4,e 5,



As amostras carregadas negativamente incorporam íons Na^+ formando uma camada de titanato de sódio hidrogel (Na_2TiO_3) (Figura 6a). O titânio é submetido a tratamento térmico a 600°C , para a estabilização deste gel ocorrendo a desidratação da camada de titanato de sódio. Esta camada se estabiliza como uma camada de titanato de sódio amorfo contendo pequenas quantidades de titanato de sódio cristalino ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$) e rutilo (TiO_2) (Figura 6b). Quando essa camada é exposta ao SBF, o revestimento de titânio formado por tratamento químico libera íons Na^+ da camada de titanato de sódio em troca de íons H_3O^+ 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 Ca^{2+} do fluido (formando titanato de cálcio amorfo), que por sua vez reagirão com os íons fósforo originando a camada de apatita. Assim, conclui-se que o tratamento alcalino com NaOH resulta em uma filme poroso aderente ao substrato, enquanto a imersão em SBF resulta em uma camada de fosfato de cálcio (apatita - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).

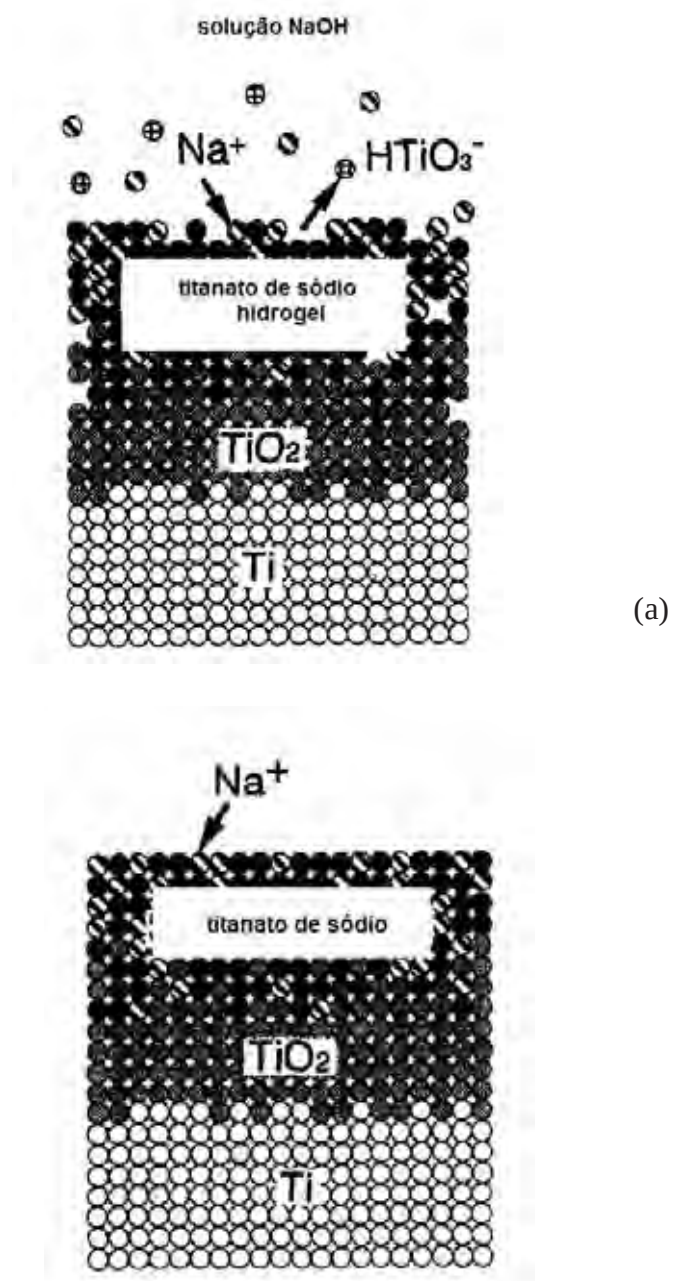


Figura 6 – Mudanças na superfície de Ti C.P. devido a tratamento de superfície. Formação da camada de titanato de sódio hidrogel devido a tratamento alcalino; (b) formação de titanato de sódio cristalino devido a tratamento térmico (adaptado de Kokubo et al. 2006)

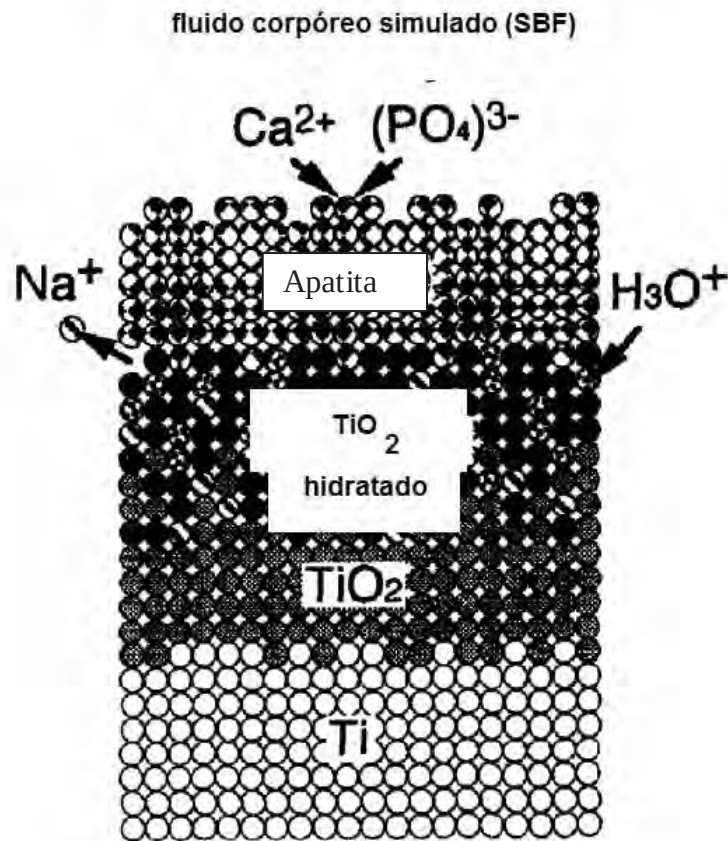


Figura 7 - Formação da camada de apatita após imersão em SBF (adaptado de Kokubo et al. 2006).

Nas figuras 8 e 9 é possível observar as imagens obtidas por Kim et al. (2000) após realização de tratamento alcalino e térmico e deposição de apatita na superfície da liga Ti-15Mo-5Zr-3Al, respectivamente.

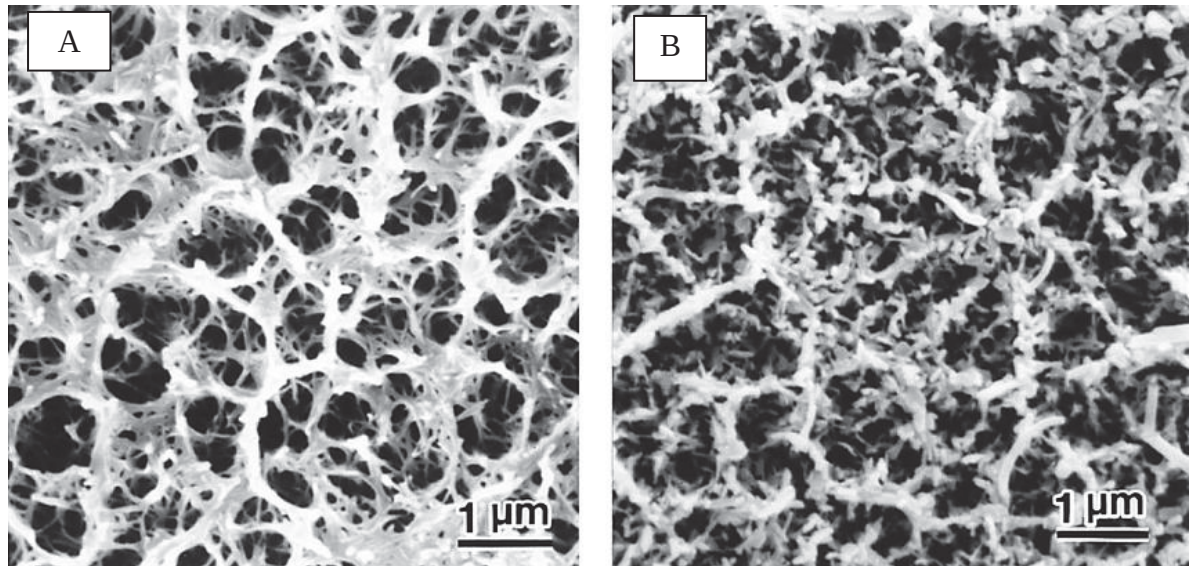


Figura 8 - Superfície da liga Ti-15Mo-5Zr-3Al: (a) após tratamento alcalino; (b) após tratamento alcalino e térmico a 600 °C por 1 h (adaptado de Kim et al., 2000)

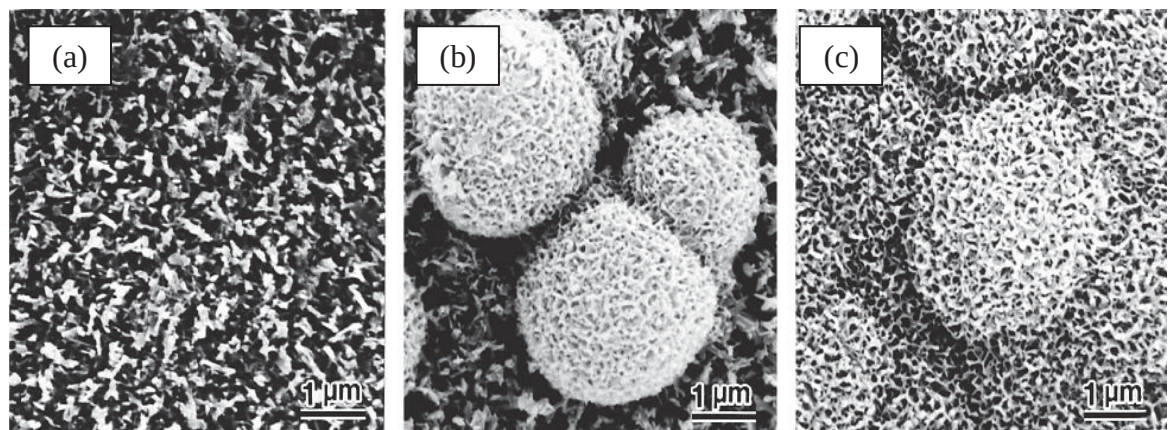


Figura 9 - Micrografias da superfície da liga Ti-15Mo-5Zr-3Al após imersão em SBF por: (a) 3 dias; (b) 5 dias (c) 7 dias (adaptado de Kim et al., 2000).

As soluções SBF são geralmente tamponadas com tris-hidroximetil-amino-metano (TRIS) ou 2-(4-2-hidroxietil-1-piperazinil) ácido etano sulfônico (HEPES), que não estão contidos no sangue humano. Para eliminar os possíveis efeitos adversos desses

componentes, a nucleação mais rápida de Ca-P com tempos mais curtos tem sido estudada a partir do uso de soluções saturadas. Estas soluções podem diminuir o tempo do tratamento de semanas para dias ou horas (CHEN et al., 2009).

Em 2002, Barrere *et al.*, estudaram variações das composições SBF para avaliar a influência dos íons HCO_3^- e NaCl no processo de mineralização dos fosfatos de cálcio (Quadro 4). Os autores observaram que a camada de apatita formada sobre a superfície da liga Ti-6Al-4V variou de acordo com a solução utilizada. A formação da camada para as soluções SBF 5x, SBF 5x ($\text{HCO}_3^- \times 0$), SBF 5x ($\text{HCO}_3^- \times 3$) e SBF 5x ($\text{NaCl}^- \times 3$) ocorreu simultaneamente com a precipitação. Por outro lado, para a solução SBF 5x ($\text{NaCl}^- \times 0$) a formação do revestimento com Ca-P na superfície da liga ocorreu no prazo máximo de precipitação da solução. Este início súbito de precipitação diminuiu acentuadamente a saturação da solução SBF e a camada de fosfato de cálcio apresentou constituída por cristais menores, não ocorrendo a formação de uma camada homogênea.

Habibovic *et al.*, (2002) avaliaram o uso de dois tipos de soluções de SBF (SBF-A e SBF-B) excluindo os íons K^+ e SO_4^{2-} (Quadro 6), a partir da solução original proposto por Kokubo *et al.*, (1998). A solução SBF-A apresentava uma concentração 5x superior ao SBF convencional, enquanto a solução SBF-B apresentava a mesma composição do SBF-A, porém com teores de Mg^{2+} e (HCO_3^-) reduzidos. Os autores concluíram que o crescimento de uma camada uniforme de apatita é possível somente com um pré-tratamento térmico antes da imersão em SBF e que as amostras imersas em solução com concentração 5xSBF apresentaram maior crescimento de fosfato de cálcio.

Quadro 6 – Concentrações iônicas do plasma humano e das principais soluções SBF

	Concentração iônica (mM)							
	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	HCO_3^-	SO_4^{2-}
Plasma humano	142	5	2,5	1,5	103	1	27	0,5
Kokubo (1996)	142	5	2,5	1,5	148,8	1	4,2	0,5
Habibovic (2002) SBF – modificado A	714,8		12,5	7,5	732,8	5	21	
Habibovic (2002) SBF – modificado B	704,2		12,5	1,5	711,8	5	10,5	

Recentemente, Fukuda et al. (2011) empregaram o tratamento de superfície biomimético na superfície das ligas Ti15Zr4TaNb e Ti29Nb13Ta4,6Zr, e compararam os resultados com o titânio CP. Para o tratamento alcalino as placas de cada material foram imersas em solução NaOH 5M a 60°C por 24 horas e posteriormente em solução CaCl₂ por 40°C por 24h. O tratamento térmico foi realizado em duas temperaturas 600°C e 700°C com posterior imersão por três dias em solução SBF preconizada por Kokubo. As peças foram esterilizadas em gás etileno e implantadas em tíbias de coelhos com 2,8 a 3,5kg. O sacrifício dos animais foi realizado após 4, 8, 16, 26 semanas. Os autores concluíram que o tratamento com SBF formou mais apatita na superfície das ligas aumentando a força de adesão celular óssea e a superfície da liga.

Em estudos prévios realizados pelo nosso grupo (ESCADA *et al.*, 2011) o tratamento biomimético na liga Ti-7,5Mo foi avaliado. As amostras foram imersas em solução NaOH a 80 °C por 72 horas, e tratadas termicamente a 600 °C. Foram avaliados dois grupos, com e sem tratamento térmico, sendo cada um dividido em dois subgrupos de acordo com o tempo de imersão em SBFX5, 7 e 14 dias (Figura 10). Após a análise dos resultados, foi possível concluir que a melhor condição encontrada foi tratamento alcalino a 80 °C por 72 horas seguida de tratamento térmico a 600 °C e imersão em SBFX5 por 14 dias.

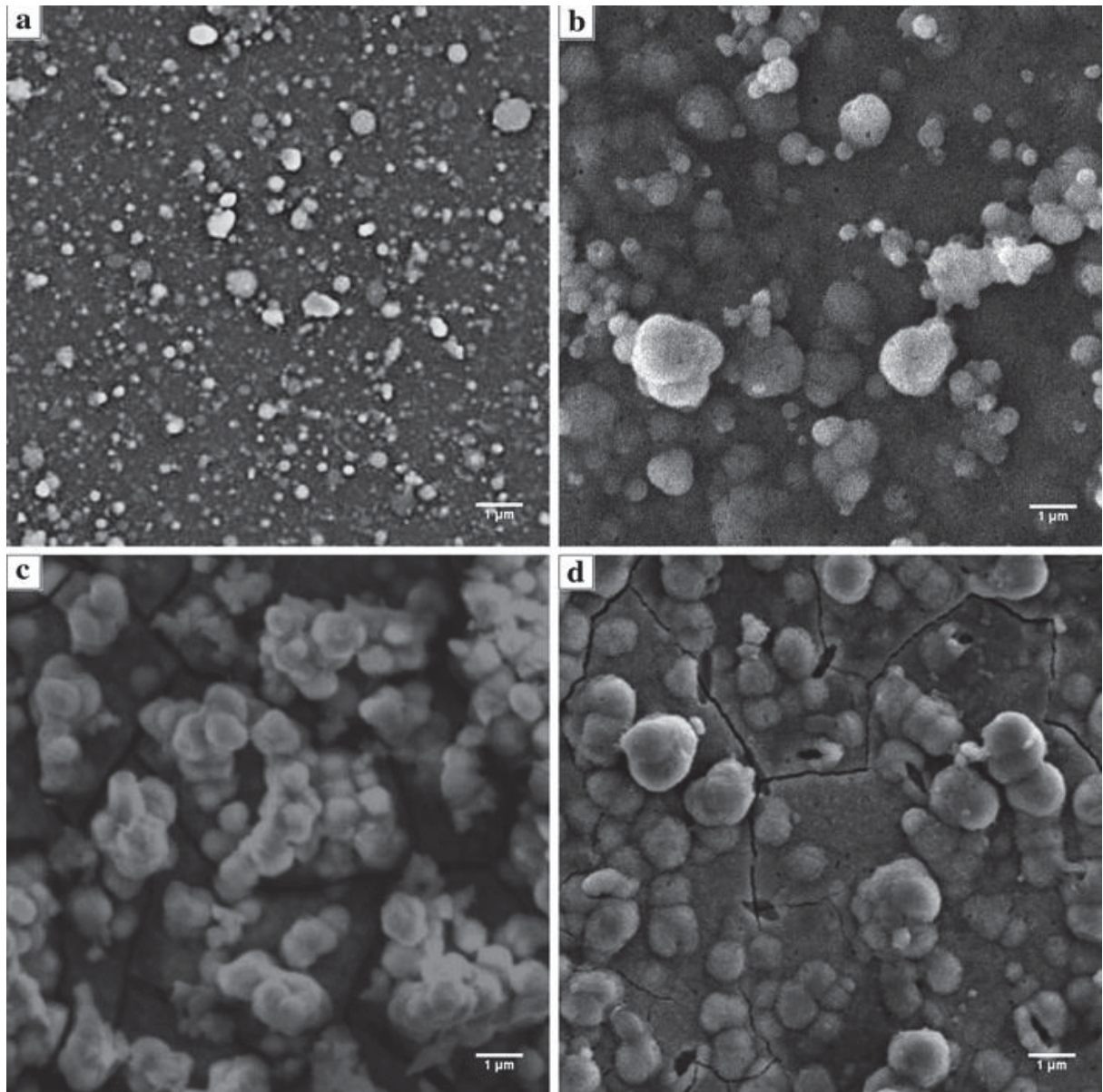


Figura 10 - Micrografia da superfície da liga Ti-7,5Mo: (a) após tratamento alcalino e imersão em SBFX5 por 7 dias; (b) após tratamento alcalino e imersão em SBFX5 por 14 dias; (c) após tratamento alcalino, tratamento térmico e imersão em SBFX5 por 7 dias; (d) após tratamento alcalino, tratamento térmico e imersão em SBFX5 por 14 dias (adaptado de Escada et al. 2010).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia empregada para o desenvolvimento dessa pesquisa foi dividida em três etapas: confecção dos implantes, tratamento de superfície dos implantes e estudo *in vivo* da osseointegração, conforme pode ser observado na figura 11.

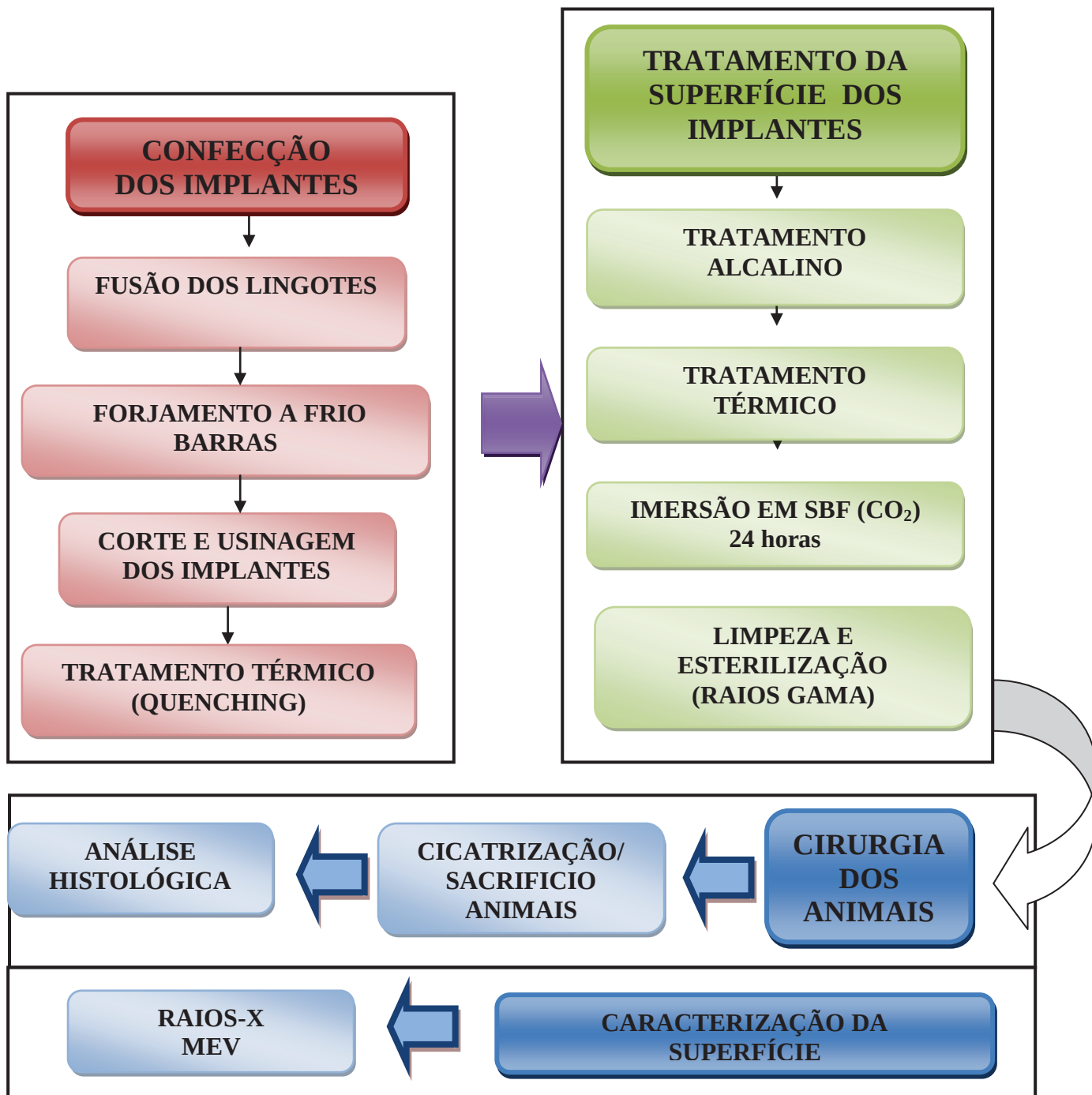


Figura 11 – Fluxograma da metodologia empregada na realização desse trabalho

3.1 CONFECÇÃO DA LIGA

3.1.1. Preparo da liga e obtenção dos implantes

A liga Ti-7,5Mo foi obtida em forno a arco voltaico (figura 12) a partir da fusão de titânio comercialmente puro (99,999%) e molibdênio (Sigma, Aldrich), adquiridos na forma de chapas, seguindo a metodologia desenvolvida para a fusão de ligas de titânio por Alves 1998.

Previamente à fusão foi realizado o corte e decapagem química dos elementos em solução formada por 50 ml de H_2SO_4 , 20ml de HF, 20ml de HNO_3 e 10ml de água destilada. Em seguida, foi realizada a pesagem dos elementos de acordo com a composição escolhida e a colocação no cadinho de cobre refrigerado localizado no interior do forno. Posteriormente, foi realizada a fusão dos elementos e obtenção das ligas. As amostras foram refundidas pelo menos cinco vezes para garantir a homogeneização da liga Ti-7,5Mo.



Figura 12– Forno para fusão da liga

Os lingotes obtidos foram encapsulados a vácuo, em tubo de sílica vítrea e submetidos a tratamento térmico de solubilização a 1100°C em forno tubular por um período de 1 hora e depois resfriados em água fria. Para a obtenção das barras com diâmetro próximo aos dos implantes foi empregado o forjamento rotativo (*swaging*) em forja rotativa a frio FENN

modelos 6F (2" até 3/8") e 3F (1/2" até 1/8"), com potência de aproximadamente 30 CV (HP) e velocidade de 1700 rotações por minuto (rpm) (Figura 13). A cada passe ocorreu a troca de matrizes (martelos), causando uma redução da ordem de 68 % no diâmetro das amostras, possibilitando um diâmetro final de 4 mm.



Figura 13 – Prensa rotativa empregada para obtenção das barras

3.2 CARACTERIZAÇÃO DA LIGA E DA SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES

Os lingotes da liga Ti-7,5Mo foram caracterizados microestruturalmente e em relação as suas propriedades mecânicas no estudo bruto de fusão e após tratamento térmico de solubilização. As superfícies dos implantes foram avaliadas após a usinagem e após

tratamento de superfície empregando microscopia eletrônica de varredura e difração de Raios-X.

3.2.1. Caracterização da Liga

Caracterização Microestrutural

Para a caracterização microestrutural os lingotes foram seccionadas transversalmente em uma máquina automática com disco diamantado (Isomet, Buheler) e embutidas em baquelite. O lixamento úmido foi realizado com água e parafina, empregando lixas de carbeto de silício (SiC) com grana variando de 180 a 2400. O polimento foi realizado com um pano especial (OP-Chem, Struers) e ácido oxálico (5%). Em seguida, foi realizado o ataque químico, com reagente Kroll, para análise da microestrutura em microscópio óptico (Epiphot 4, Nikkon).

Caracterização Mecânica

A) Ensaio de Microdureza

O ensaio de microdureza foi realizado nas amostras que foram submetidas a caracterização microestrutural empregando-se um microdurômetro HMV 2T, Shimadzu adquirido com a verba do projeto FAPESP (2006/03570-9) pertencente ao Laboratório de Polímeros, FEG, UNESP. Foram realizadas 3 medidas por quadrante, totalizando 12 medidas por corpo-de-prova, utilizando penetrador com diamante Vickers, piramidal de base quadrada com ângulo de 136° entre planos. Os resultados foram fornecidos pelo próprio aparelho, após medição das diagonais das mossas produzidas para cada corpo-de-prova. Foi feita a média aritmética dos valores obtidos nas leituras.

B) Ensaio de Tração

Após o forjamento, foram usinados de acordo com a norma ASTM E 8M (Figura 14), e submetidos a carregamento uniaxial de tração ao longo de seus eixos.



Figura 14 - Corpo de prova empregado no ensaio de tração

Os ensaios foram realizados utilizando velocidade de 0,5mm/minuto em uma máquina de ensaios mecânicos, Shimadzu, modelo A-G kNXD, adquirida com verba do projeto FAPESP 05/54358-7, no Laboratório de Ensaios Mecânicos, Departamento de Materiais e Tecnologia, Faculdade de Engenharia, Campus de Guaratinguetá, UNESP.

3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para avaliação da superfície das amostras foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV – Leo – 1450 VP), do Departamento de Engenharia de Materiais, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, UNESP . A composição química foi avaliada em um analisador do EDS (espectrômetro por energia dispersiva) Oxford, Inca Energy , acoplado ao MEV.

3.3 CONFECÇÃO DOS IMPLANTES

Após o forjamento foi levada a um torno mecânico convencional, confeccionados assim os implantes em formato helicoidal (2,0mm de diâmetro e 2,5mm de comprimento), com roscas para maximizar a força e estabilidade interfacial assim como a transferência de cargas para o osso de forma melhor distribuída, melhorando, assim, o prognóstico do implante em longo prazo com hexágono interno superior para instalação do mesmo (MORAIS et al., 2009) (Figura 15). Após o término da usinagem dos implantes foi feito tratamento térmico nos mesmos para aumentar a ductilidade e resistência mecânica.

Os implantes foram especialmente confeccionados nas medidas de 2,0mm de diâmetro e 2,5 mm de comprimento, para serem instalados nas tíbias de ratos com quarenta e cinco

dias de vida. A anatomia da tíbia do rato com essa idade têm um formato de um triângulo equilátero (vista longitudinal), os lados com a medida aproximada de 4,0mm.

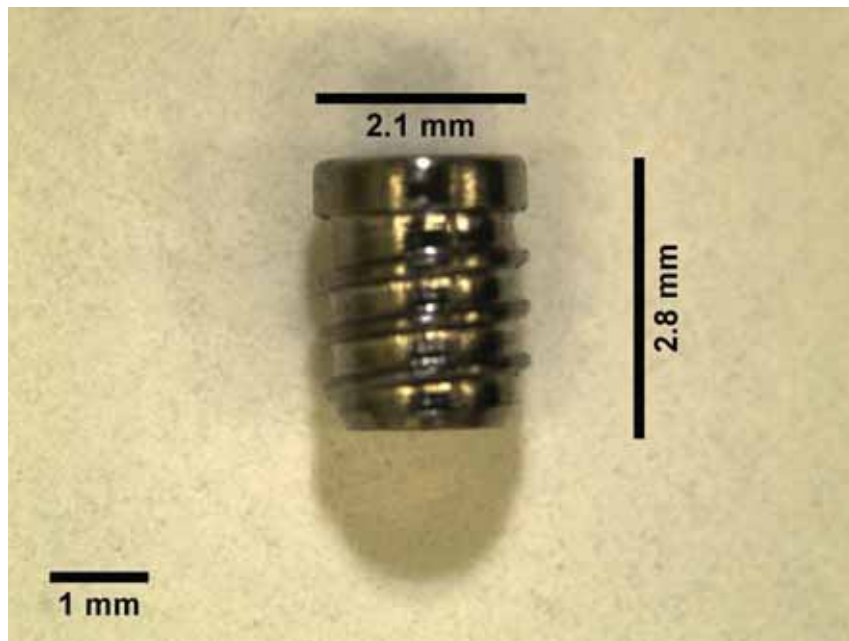


Figura 15 - Implante confeccionado de Ti-7,5Mo

3.3.1 Confeção do montador

Devido a dificuldade no manuseio dos implantes durante a fase cirúrgica, foi necessário a confecção um montador específico para auxílio na técnica.

O montador foi confeccionado em teflon[®] com diâmetro de 5,0mm e 10,0mm de comprimento em torno convencional. Tomou-se o cuidado de usinar uma ponta ativa com o diâmetro de 0,9mm que é a espessura de hexágono interno do implante

3.4 TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES

As amostras foram divididas em dois grupos com 10 amostras cada, o primeiro grupo sem tratamento (grupo controle) e o segundo grupo com tratamento biomimético. O tratamento biomimético foi dividido em três etapas: tratamento alcalino, tratamento térmico e imersão em SBF.

3.4.1. Tratamento de Superfície Biomimético

Inicialmente, as amostras foram lavadas com água destilada e com acetona em ultra-som por 15 minutos. Para o tratamento alcalino, as amostras permaneceram em solução de NaOH a 5 M, em banho-maria (Tecnal) a 80°C por 72h. Depois foram lavadas em água destilada e secas em estufa por 24h a 40°C conforme metodologia proposta por Arvidson *et al.* (2007).

O tratamento térmico dos implantes foi realizado após o tratamento alcalino. As amostras foram mantidas a 600°C, por 1 hora em forno tipo mufla, marca Quimis, e em seguida resfriadas até temperatura ambiente, conforme proposto por Wei *et al* (2002).

A composição escolhida para a elaboração do SBF foi a proposta por Barrère *et al.*, (2002), cuja concentração dos componentes é cinco vezes maior do que a solução original proposta por Kokubo (1998). No Quadro 7 é possível verificar a composição empregada.

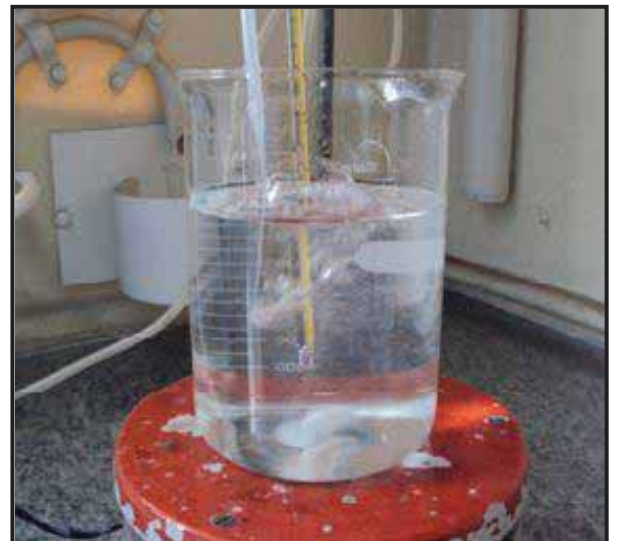
Quadro 7 - Composição SBF 5x (Barrère *et al.*, 2002)

Componente	Quantidade (g/l)
NaCl	40,0
MgCl ₂ . 6H ₂ O	1,52
CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,84
Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O	0,89
NaHCO ₃	1,76

Os reagentes foram dissolvidos em água destilada (900 ml), mantida a 36,5°C com auxílio de uma mesa aquecedora, com agitação magnética. Um fluxo constante de CO₂ foi empregado durante a adição dos reagentes, sendo mantido por mais 20 minutos, até que a solução final ficasse translúcida, com pH em torno de 6,0 (Figura 16).



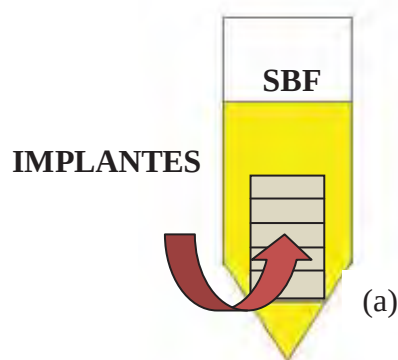
(a)



(b)

Figura 16 - Preparo do SBF com inserção de CO₂ (a) início e (b) final do preparo

As amostras foram imersas em 30 ml de SBF, em tubo Falcon, com a rosca voltada para cima, conforme representado na figura 17. Os tubos foram colocados em uma mesa agitadora (Tecnal TC- 420) a 36,5 °C com rotação de 175 rpm durante 24 horas (Figura 17). Após esse período as amostras foram retiradas, lavadas em ultrassom com água destilada por 10 minutos e secas em estufa a 50°C por 24 horas. Após o tratamento de superfície cada montador foi acoplado a um implante e o conjunto montador / implante armazenado em envelopes para posterior esterilização com radiação gama (CNEM – IPEN) (Figura 18).



(a)



(b)

Figura 17 – Imersão em SBF: (a) Representação esquemática da amostra no tubo Falcon; (b) Montagem dos tubos em uma mesa agitadora.

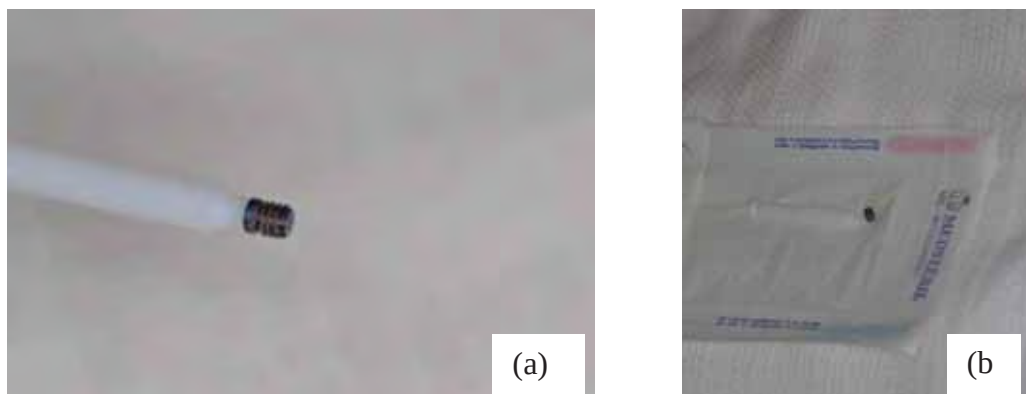


Figura 18 – (a) Implante em montador; (b) Embalados e esterilizados.

3.5 ESTUDO IN VIVO – CIRURGIA E INSTALAÇÃO DOS IMPLANTES

Este estudo foi iniciado somente após o respectivo projeto ter sido aprovado pelo Comitê de Bioética Animal, Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba - UNESP. (Anexo A)

Foram utilizados dez ratos (*Rattus norvegicus*, Wistar), machos, com quarenta e cinco dias de vida e peso aproximado entre 250-300 gramas. Os animais foram mantidos nas dependências do Biotério do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CNEN-IPEN-SP), separados por grupo experimental, em gaiolas de polietileno de 60x50x20 cm e tampas de aço inoxidável, com cama de serragem esterilizada e devidamente identificada; para alimentação foi utilizada ração para ratos (Produtor S/A) e água à vontade (Figura 19a, 19b).



(a)



(b)

Figura 19 – (a) e (b) Gaiolas utilizadas para a manutenção dos ratos

3.5.1 Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em grupos de acordo com o tratamento de superfície e em dois subgrupos de acordo com o período de sacrifício (14 e 28 dias), conforme esquematizado na figura 20.

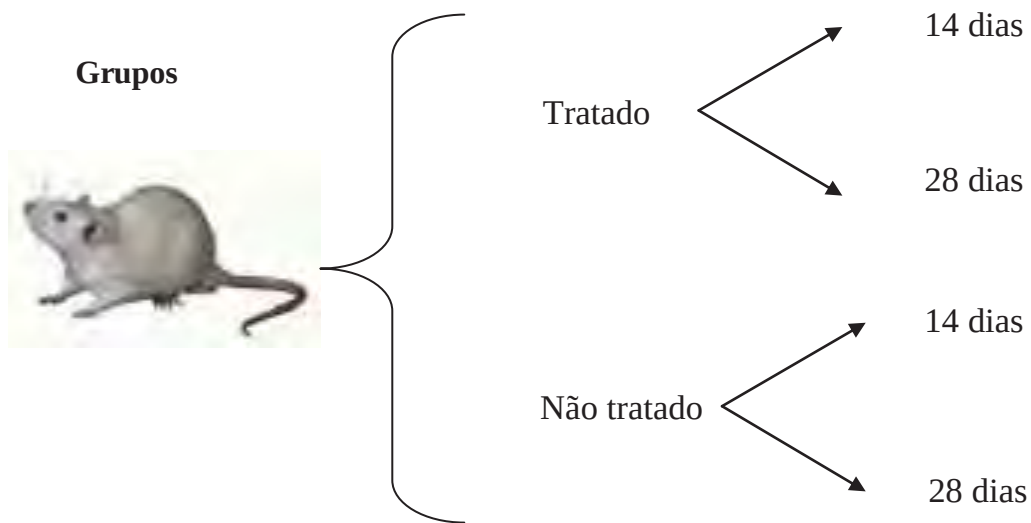


Figura 20 - Representação dos grupos utilizados na pesquisa

No quadro 8 é possível visualizar-se o período do sacrifício e a distribuição dos animais de acordo com a análise histológica.

Em cada animal foi colocado dois implantes: um sem tratamento na tíbia esquerda e outro com tratamento (NaOH + SBF) na tíbia direita.

Quadro 8 – Número de animais/implantes utilizados

Período do sacrifício após cirurgia	Número de animais	Número de implantes
14	05	10
28	05	10
Nº total	10	20

3.5.2 Técnica Cirúrgica

Foram utilizados durante os procedimentos cirúrgicos: conjuntos individualizados e estéreis compostos por cabo de bisturi Bard-Parker nº3, lâmina para bisturi de aço inoxidável descartável nº 11, fio de seda montado nº4 descartável, porta-agulha Mayo Eger de 12 cm, pinça anatômica de Halsted, pinça de Adson Braum, tesoura para corte de fio de sutura, tesoura de Metzembaum curva de ponta romba, pinça hemostática, régua em aço inoxidável milimetrada, contra ângulo 16/1 NSK e compressas de gaze. Todo o material da marca duflex, foi esterilizado em autoclave sob pressão de 1 atm a uma temperatura de 121°C, durante vinte minutos (CARDOSO et al., 1993).

Doze horas antes da intervenção cirúrgica os animais foram submetidos à dieta zero. Todos os animais foram anestesiados por meio de injeção intraperitoneal de Xilazina/Cetamina nas concentrações de 75-100 mg/kg. Foram utilizados 10 mg do anestésico /kg de peso corporal l, ou seja, para 300g de peso do animal utilizou-se: 0,30 ml de anestésico sendo 0,21 ml de Cetamina adicionado a 0,09 ml de Xilazina (Figura 21).

Após tricotomia e assepsia do local da cirurgia com PVPI (Polvidine), foi feito o acesso cirúrgico, com bisturi de Lâmina 11, divulsão dos tecidos com afastador de Volkmann e preparo do leito para receber os implantes (Figura 22).

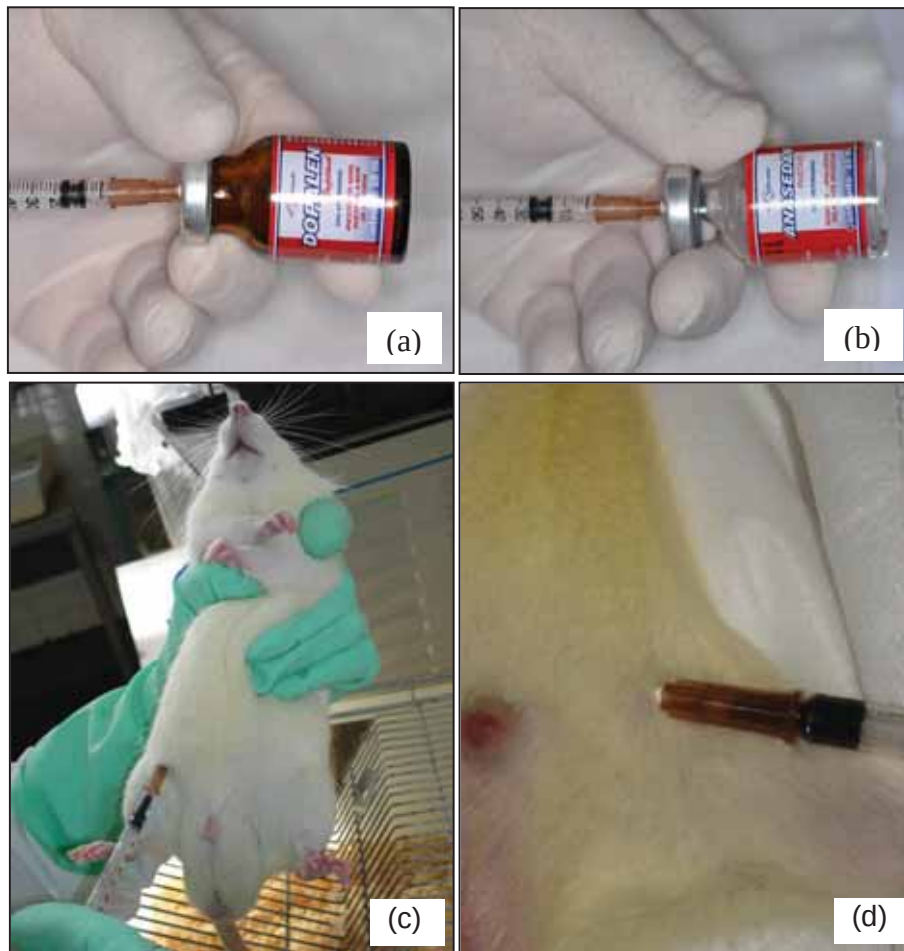


Figura 21 – Anestesia: (a) e (b) Anestésico; (c) e (d) Aplicação do anestésico

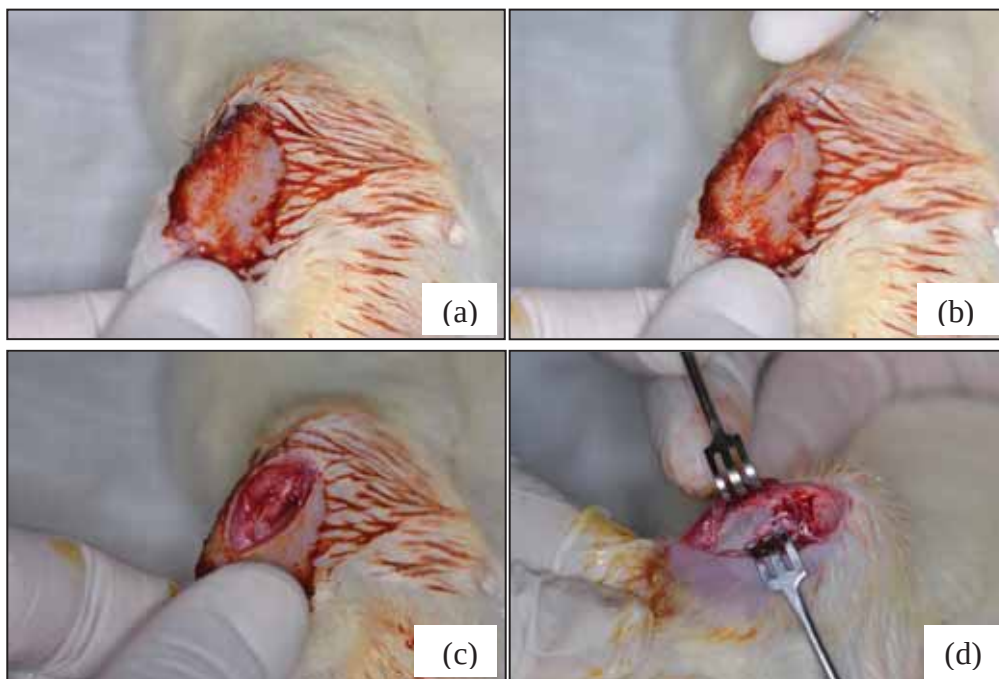


Figura 22 – Preparo para inserção do implante: (a) Assepsia; (b) e (c) incisão; (d) afastamento do tecido

Os implantes foram inseridos com motor cirúrgico (Adiel- Ribeirão Preto-SP) e um contra ângulo com redução de 16/1 (NSK), sob irrigação (Figura 23). Primeiramente, foi realizada uma perfuração com uma broca helicoidal de 2,0 mm de diâmetro, Neodent (Figura 24), sempre sob irrigação indireta realizada com soro fisiológico para evitar aquecimento do leito ósseo. A colocação do implante foi então realizada seguindo o protocolo de Branemark (1998) com montador especificamente confeccionado para a pesquisa (Figura 24). Após a instalação dos implantes, foi realizada a sutura com porta agulha e fio de sutura de seda 4.0 (Figura 25).

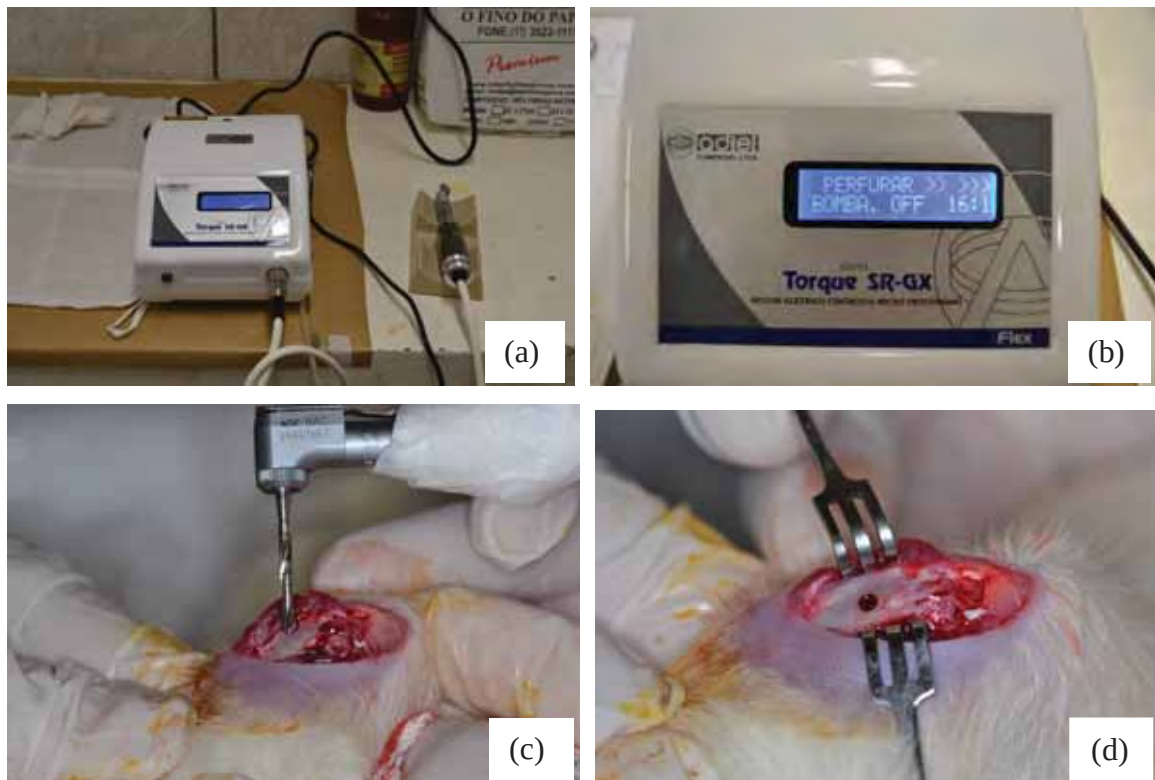


Figura 23 - (a) e (b) motor cirúrgico; (c) e (d) broca helicoidal para perfuração

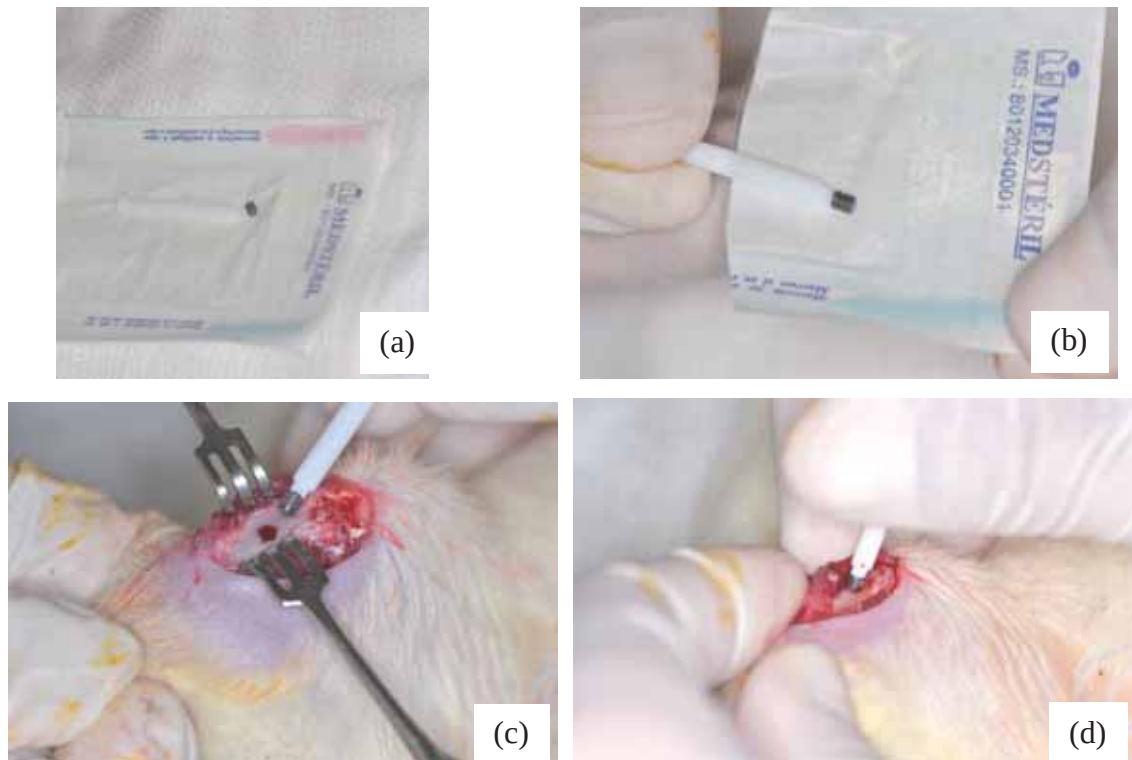


Figura 24 – Instalação dos implantes: (a) e (b) implantes em montador ; (c) e (d) colocação dos implantes nos animais

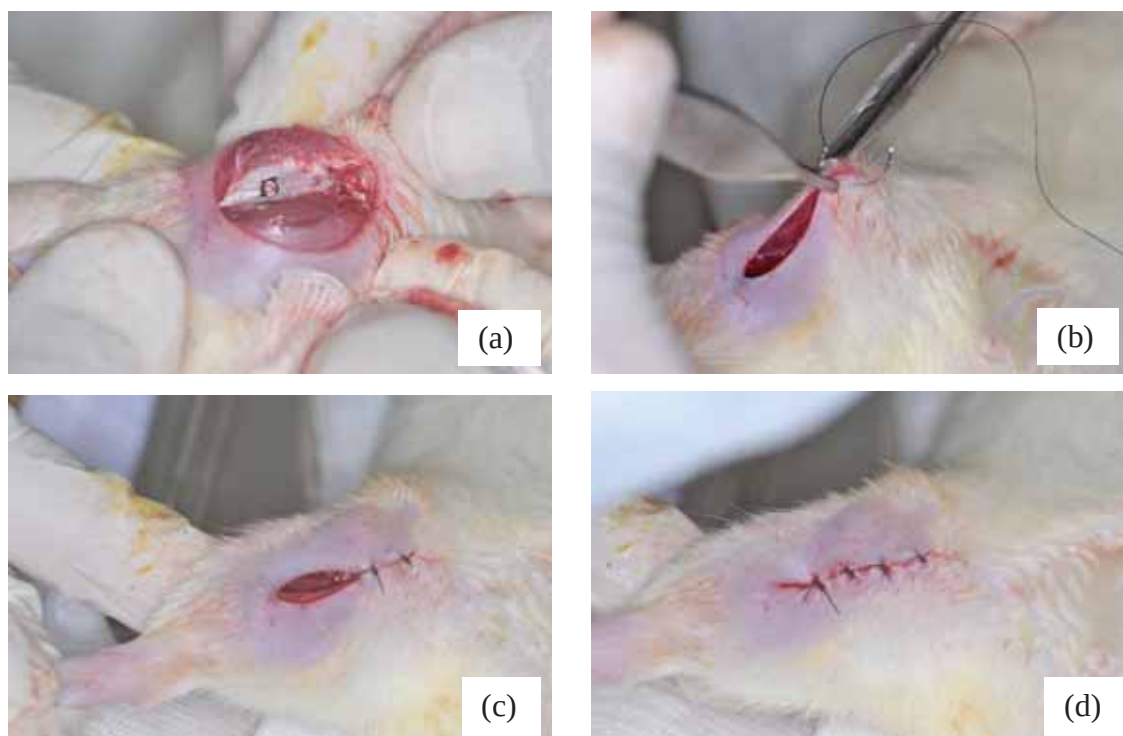


Figura 25 - (a) , (b) , (c) , (d) Sutura com fio de seda

Seguindo o cronograma previamente estabelecido (Quadro 5) foi realizada a eutanásia em câmara de CO₂ (Figura 26).



Figura 26–Câmara de CO₂ utilizada para sacrifício dos animais

3.5.3 Análise Histológica

As áreas de interesse foram incisionadas e dissecadas, e as peças operatórias colocadas em meio de cultura (PBS) para evitar possíveis alterações.

Para análise histológica, implantes de tecido circundante foram removidos e imersos em formaldeído. As amostras foram embutidas em polimetacrilato de metila e, após polimerização, cortadas em Isomet 4000 – Buehler, na espessura de 180 µm polidas e montadas em lâminas de vidro. As amostras foram coradas com azul de Stevenel e vermelho de Alizarina e visualizadas em microscópio óptico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CONFECÇÃO DOS IMPLANTES

4.1.1. Caracterização microestrutural e mecânica da liga

A rota do processamento desenvolvida para esse trabalho e que foi empregada na confecção dos implantes é mostrada na Figura 27. A caracterização microestrutural da liga no início e término do processamento, ou seja, após fusão em forno a arco (bruta de fusão) e após tratamento térmico de solubilização (1100 °C) é apresentas nas Figuras 28 e 29, respectivamente. Para a estrutura bruta de fusão observou-se uma variação na microestrutura de acordo com a distância do lingote a base do cadinho (Figura 28). Observa-se que com o tratamento térmico realizado após o forjamento foi possível a obtenção de uma microestrutura homogênea com a formação da fase α'' (ortorrômbica) com morfologia a acicular do tipo colônia similar a verificada por Ho et al. (1999) e Lin et al (2005).

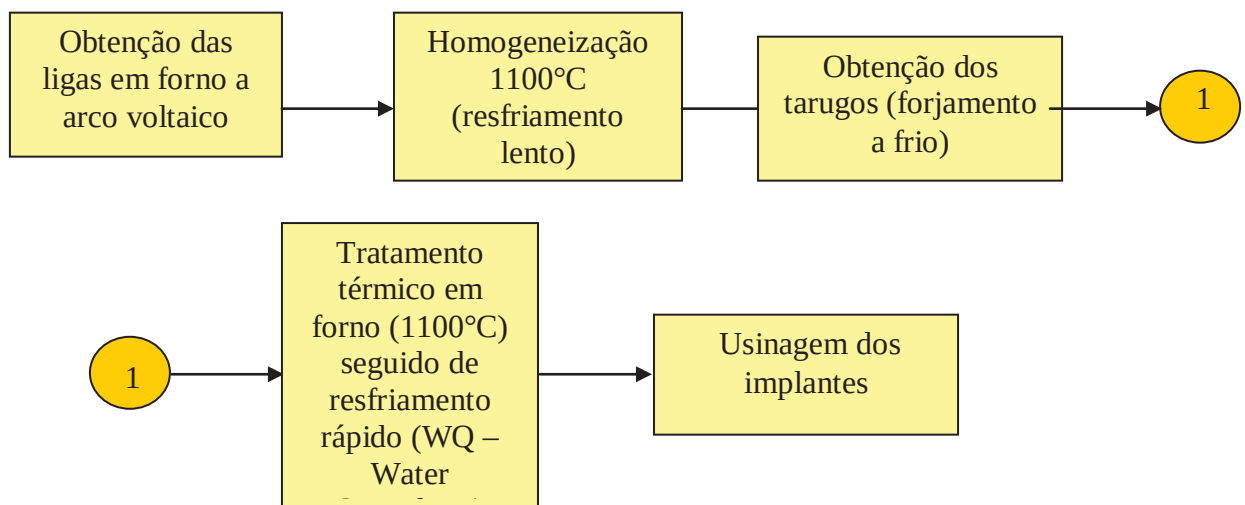


Figura 27 - Rota de processamento empregada na confecção dos implantes

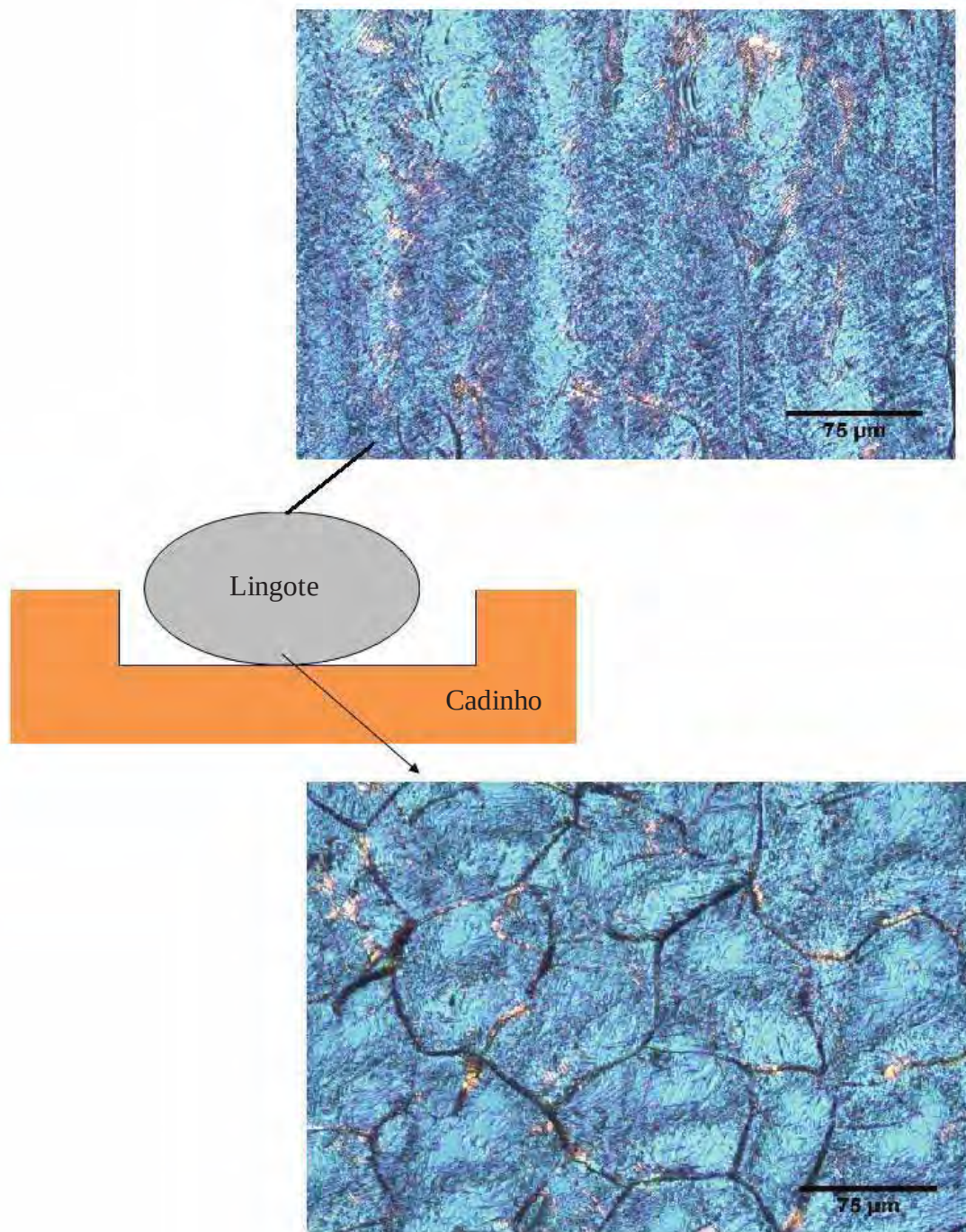


Figura 28 – Microestrutura da liga Ti- 7,5Mo na condição bruta de fusão. Representação esquemática cadinho e lingote com as regiões avaliadas

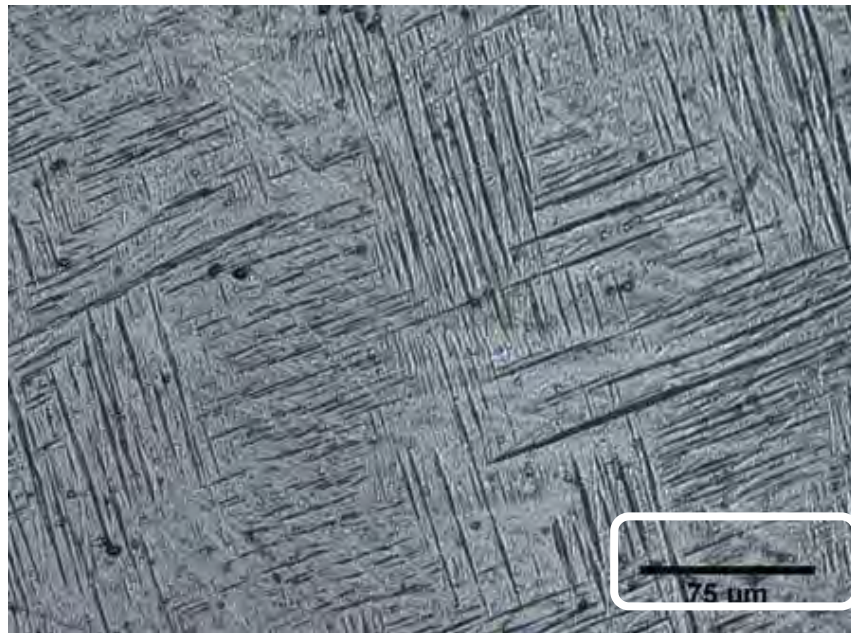


Figura 29 - Microestrutura da liga Ti- 7,5Mo na condição solubilizada

O resultado da análise por difração de Raios – X para as duas condições, bruta de fusão e solubilizado, é mostrado na Figura 30. Observa-se que os picos apresentados pelas amostras após tratamento térmico de solubilização são característicos da fase α'' .

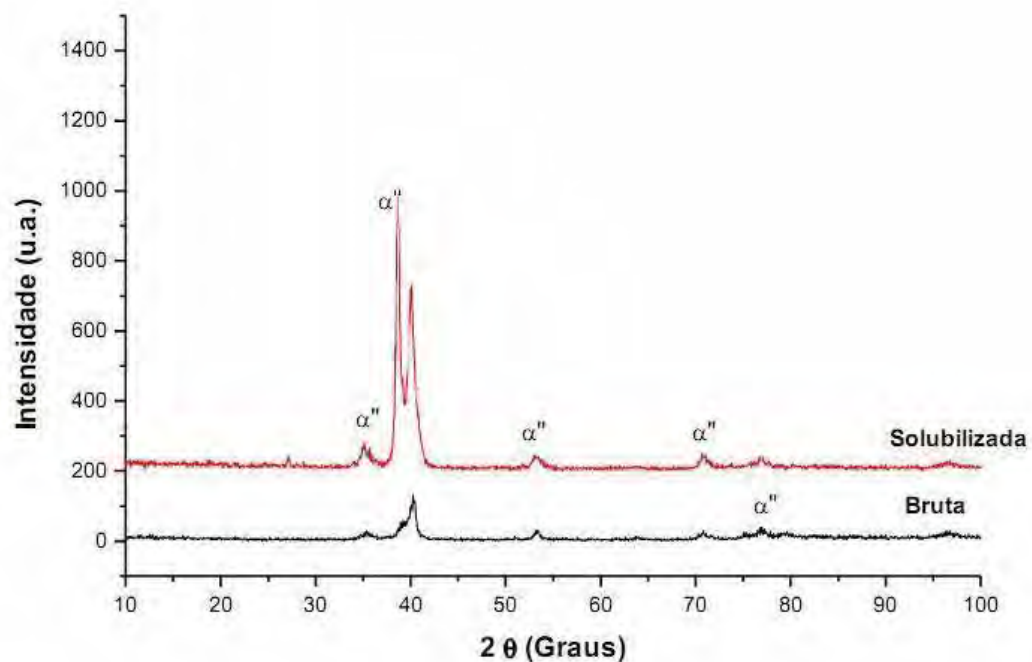


Figura 30 – Padrões de raios-X da liga Ti-7,5Mo nas condições bruta de fusão e solubilizada

A caracterização mecânica da liga também foi realizada antes da confecção dos implantes. Os resultados de microdureza Vickers nas condições bruta de fusão e solubilizada foram $361 \pm 23,30$ HV e 251 ± 6 HV, respectivamente. O maior valor de microdureza e desvio

padrão para a condição bruta de fusão é compatível com a característica de não-homogeneidade microestrutural apresentada na Figura 28. A condição solubilizada apresentou valores inferiores aos da estrutura bruta de fusão devido à presença da fase α'' e de acordo com a literatura, inferior ao exibido pela liga Ti6Al4V (294 HV) e superior ao titânio CP. (160 HV), empregados na área biomédica.

A partir das curvas e dos dados obtidos durante os ensaios de tração uniaxial da liga Ti-7,5Mo foram obtidos os valores das propriedades mecânicas, que estão apresentados na Quadro 9. Esses valores foram comparados aos obtidos na literatura para a liga Ti-6Al-4V e titânio CP. (NIINOMI, 1998).

Quadro 9 - Propriedades mecânicas obtidas para a liga Ti-7,5Mo na condição solubilizada a partir da realização do ensaio de tração comparados com valores obtidos na literatura para o Ti CP e Ti-6Al-4V (NIINOMI, 1998)

Propriedades Mecânicas	Ti-7,5Mo	Ti C.P.	Ti-6Al-4V
Tensão limite de Escoamento (MPa)	539,05	527	895-930
Limite de Resistência a Tração (MPa)	802,35	641	825-869
Módulo de Elasticidade (GPa)	66,33	107	110-114
Alongamento (%)	16,43	19,7	6-10
Razão resistência/peso	12,16	2,33-5,34	7,23

Observa-se uma redução no valor do módulo de elasticidade e um valor elevado para a relação resistência/peso, o que viabiliza o emprego desse material para a confecção de implantes.

4.1.2 Caracterização dos Implantes

Na Figura 31 é possível observar a micrografia obtida em microscópio eletrônico de varredura para a superfície dos parafusos usinados. Observa-se a uma superfície contendo presença de estrias de usinagem características do processo.

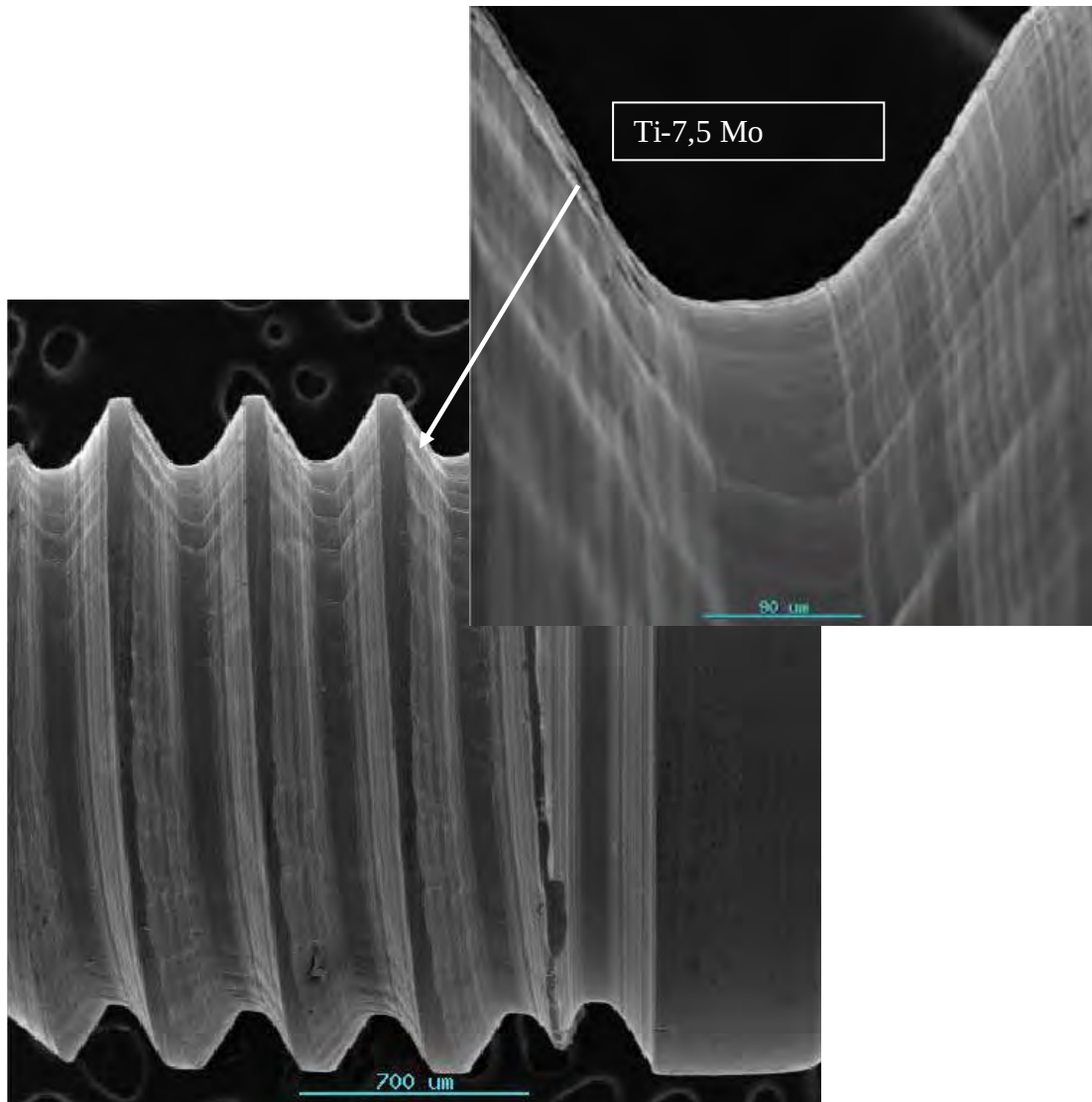


Figura 31 - Superfície do implante após usinagem. Detalhe das estrias de usinagem

Após usinagem os implantes foram limpos e submetidos ao tratamento de superfície biomimético. Inicialmente, realizou-se o tratamento alcalino a 80 °C, por 72h em NaOH 5M. Na Figura 32 observa-se a micrografia da superfície do implante após tratamento alcalino seguido de tratamento térmico a 600°C. Observou-se a formação de um filme poroso em toda a superfície, conforme verificado em estudos anteriores do grupo (ESCADA et al., 2010).

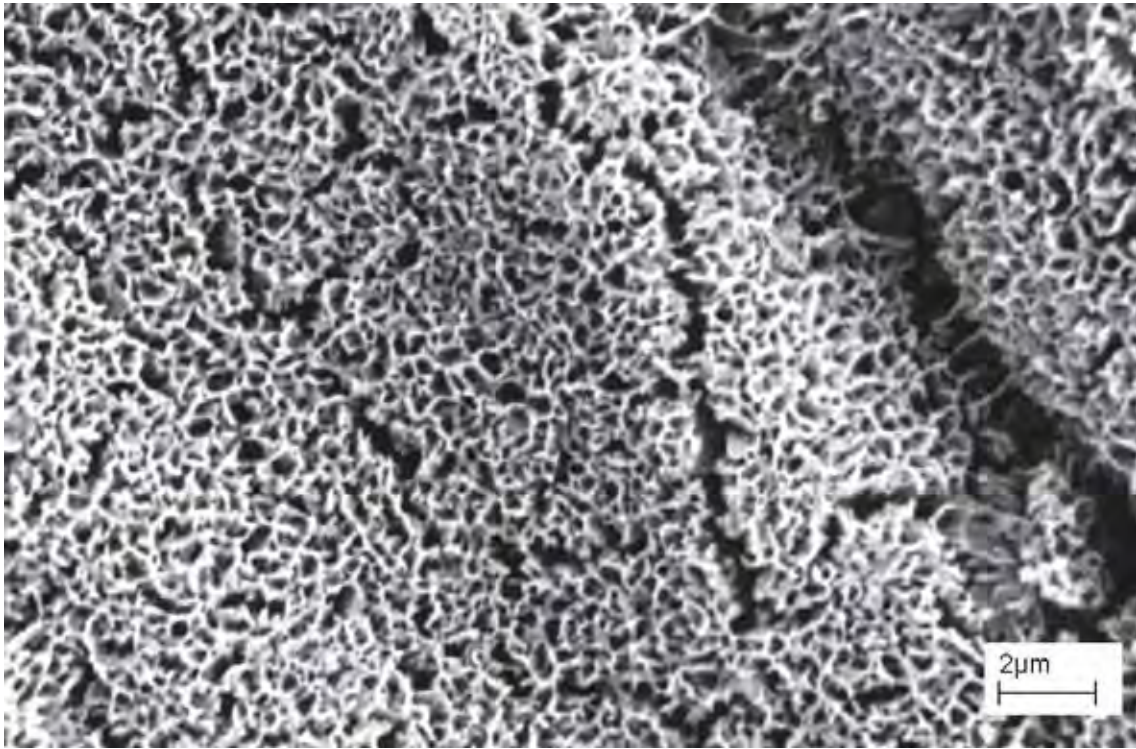


Figura 32 –Superfície do implante após tratamento alcalino (NaOH 5M, 80°C) e térmico (600 °C)

A formação dessa camada ocorreu porque quando os implantes foram imersos em solução alcalina, houve a dissolução da camada de óxido, ocorrendo corrosão e formação de poros na superfície do material. Também ocorreu a incorporação de íons sódio aos íons HTiO_3^- formando um gel quimicamente instável, titanato de sódio (Na_2TiO_3). A realização do tratamento térmico a 600°C levou à estabilização deste gel ocorrendo a desidratação da camada de titanato de sódio. Esta camada foi estabilizada como uma camada de titanato de sódio amorfo contendo pequenas quantidades de titanato de sódio cristalino ($\text{Na}_2\text{Ti}_5\text{O}_{11}$) e rutilo (TiO_2) (KOKUBO et al., 1998; ESCADA et al. 2011).

Após a imersão das amostras em SBF5x por 24 horas observou-se o crescimento de apatita sobre o filme formado pelo tratamento alcalino anterior com NaOH (Figura 33).

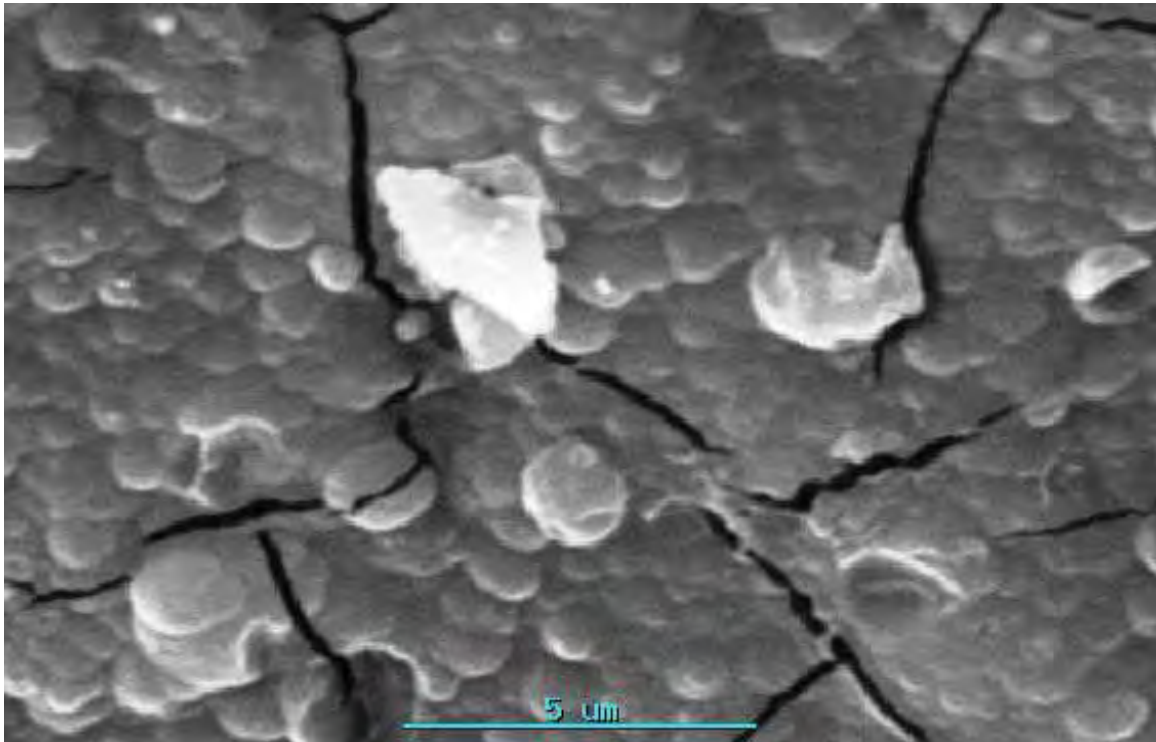


Figura 33 - Crescimento de apatita sobre a superfície da amostra após imersão em SBF durante 24 horas

Nessa etapa, a superfície do metal tratado, carregada negativamente (Ti-OH^-), atraiu os íons Ca^{2+} positivos da solução, formando titanato de cálcio (CaTiO_3) amorfo. Simultaneamente, houve acúmulo de íons Ca^{2+} , tornando a superfície levemente positiva, o que atraiu íons fosfato (PO_4^{2-}), negativos, para formar o fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) amorfo. Núcleos de apatita foram formados na superfície e cresceram espontaneamente a partir do consumo de íons cálcio e íons de fosfato do SBF. A camada de apatita resultante foi fortemente ligada ao substrato já que se integrou ao óxido (KOKUBO *et al.*, 2006).

A formação dessa camada ocorreu em 24 horas, tempo inferior à técnica desenvolvida em estudos anteriores, devido ao uso de CO_2 em SBF 5x altamente concentrado. De acordo com a literatura (HABBIBOVIC *et al.*, 2002), a cinética da deposição da camada é influenciada pela intensidade iônica da solução e a precipitação lenta de fosfato de cálcio na solução SBFx5 o que favorece a nucleação do fosfato de cálcio no metal. Esse resultado está de acordo com o estudo realizado por Barrère *et al.*, (2002) para a liga Ti-6Al-4V.

Observa-se também na imagem a formação de trincas que segundo Jalota et al. (2006) originam-se da natureza hidratada do Ca-P. Além disso, a diferença de expansão térmica entre o substrato e a camada de apatita pode contribuir para esse defeito.

4.2. AVALIAÇÃO IN VIVO – Análise Histológica

O implante ideal deve apresentar uma superfície condutora ou que induza a osseointegração, independente do sítio de implantação, qualidade e quantidade óssea (Vasconcellos et al., 2008; Vasconcellos et al. 2010). Diversas pesquisas têm sido realizadas visando obter o conhecimento dos eventos biológicos que ocorrem na interface osso-implante (Vasconcellos et al., 2008; Vasconcellos et al. 2010).

Nesse trabalho, a utilização do montador para a colocação dos implantes na cirurgia foi um fato bastante positivo para o desenvolvimento da pesquisa. Alguns fatores ocorridos durante o período de cicatrização dos implantes e preparo das amostras cabem ser destacados. Durante o período de cicatrização dos implantes ocorreu a morte de alguns animais. Observou-se também que não houve infecção no local da cirurgia, movimentação do implante ou reações adversas nos outros animais. As lâminas foram avaliadas apenas após 28 dias, pois com 14 dias, durante o corte das peças houve o desprendimento dos implantes.

Na Figura 34 observa-se a interface osso/implante obtida para os implantes não-tratados após 28 dias. Os resultados desse estudo com Ti-7,5Mo foram comparados aos nossos estudos anteriores com o titânio CP após 28 dias de osseointegração nas mesmas circunstâncias apresentadas neste trabalho(OLIVEIRA et al., 2011 (Figura 36).

Para a liga Ti-7,5Mo sem tratamento observou-se a formação de tecido ósseo imaturo ao lado de tecido ósseo maduro praticamente em todo perímetro do implante. Não foram encontradas regiões de interposição de tecido conjuntivo fibroso. O tecido ósseo neoformado apresentou características de normalidade com espaços medulares preenchidos por vasos sanguíneos. Foram observados também osteócitos e sistemas de Havers, com espaços medulares amplos e trabéculas ósseas delgadas caracterizando osso em fase de maturação. Uma margem de tecido ósseo neoformado e imaturo foi verificada na interface osso/implante para o Ti CP.

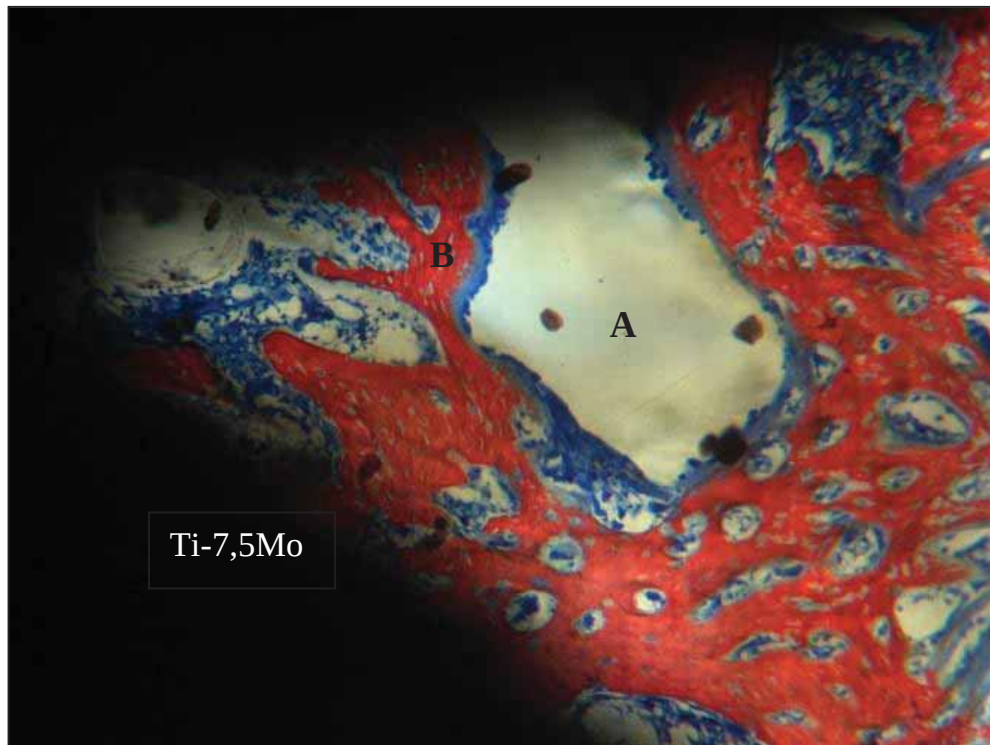


Figura 34 - Micrografia da seção transversal do implante mostrando a interface osso/implante não-tratado. A - Espaço medular; B - Trabéculas ósseas (160x)

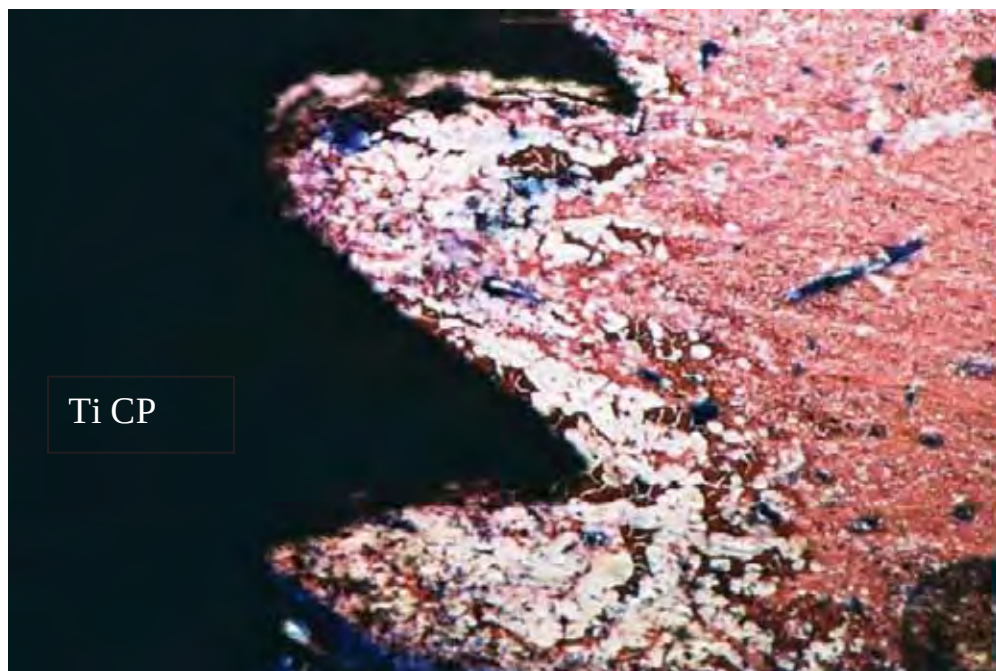


Figura 35 - Micrografia da seção transversal do implante Ti CP mostrando a interface osso/implante (160x)

Na figura 36 observa-se a interface osso/implante para os implantes tratados.

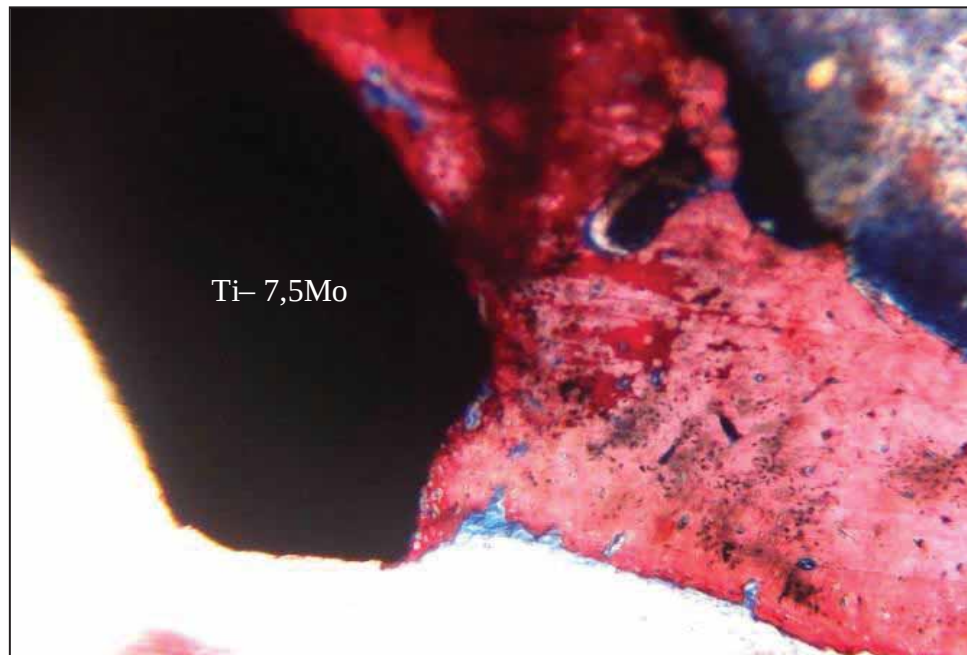


Figura 36 - Grupo Tratado da liga Ti-7,5Mo(28 dias) - Osso maduro no perímetro do implante (260x)

Para o grupo tratado, observa-se que não há regiões de interposição de tecido conjuntivo fibroso. Quando comparado ao grupo sem tratamento térmico, a análise do tecido ósseo aos 28 dias mostra tecido ósseo mais maduro na maior parte do perímetro junto ao implante. Assim, observam-se espaços medulares definidos e diminutos, bem como maior número de osteócitos (Figura 37). Dessa forma verificou-se maior neoformação óssea ao redor de implantes tratados biomimeticamente.

Existem poucos estudos na literatura sobre estudos *in vivo* empregando tratamento de superfície biomimético. Fukuda et al. (2011) avaliaram a osseointegração em placas das ligas Ti15Zr4Nb4Ta e Ti29Nb13Ta4,6Zr e verificaram menor tempo de osseointegração para as ligas tratadas assim como verificado nesse estudo.

5 CONCLUSÃO

A partir da realização dessa pesquisa, com os resultados obtidos a caracterização da liga e da superfície dos implantes, foi possível concluir que a liga Ti-7,5Mo pode ser usada na confecção de implantes dentários tanto devido as suas propriedades mecânicas internas como também de superfície.

Dessa forma, a partir da realização do presente trabalho foi possível concluir que o tratamento biomimético é efetivo para o tratamento de implantes dentários confeccionados a partir da liga Ti-7,5Mo com tempo osseointegração superior ao Ti CP, sem a formação da cápsula fibrosa, observado na análise histológica.

REFERÊNCIAS

ANUSAVICE, J.K. *Materiais Dentários*, 10 edição, Rio de Janeiro, 2005.

ALMEIDA FILHO, E. ASSIS, C. M., VERCIK, L. O., GUASTALDI, A. C., *Biomateriais: Deposição de hidroxiapatita sobre a superfície de Ti-CP modificada por aspersão térmica. Quim. Nova*, v. 30, n. 5, p. 1229-1232, 2007

ALVES REZENDE, M. C. R., ALVES, A. P. R. CODARO, E. N., DUTRA, C. A. M. Effect of commercial mouthwashes on the corrosion resistance of Ti-10Mo experimental alloy. **J Mater Sci: Mater Med**, v.18, p.149–154, 2007.

ALVES, A.P.R., SANTANA, F.A., ROSA, L.A.A., CURSINO, S.A., CODARO, E.N. A study on corrosion resistance of the Ti–10Mo experimental alloy after different processing methods. **Materials Science and Engineering** .v. 24, p. 693–696, 2004.

ALVES, A. P. R., CARAM, R., GAMA, S., Preparação de materiais compósitos in situ a partir de ligas eutéticas nos sistemas Nb-Al- Ti e Nb- Al- Cr. **Tese de doutorado**, v.1, p. 1-124, 1998.

BARRERE, F., VAN BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K., LAYROLLE, P. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFx5 solution. **Biomaterials**, Bruxelas, v. 23, n. 9, p. 1921-1930, maio. 2002.

BIELER, T. R., TREERNO, R. M., ZENG, L. Alloys titanium. **Encyclopedia of condensed matter Physics**, p.65-76, Academic Press, agosto 2005.

CARVALHO, B. M., PELLIZZER, E. P., MORAES, S. L. D., FALCÓN-ANTENUCCI, R. M., FERREIRA JÚNIOR, J. S. Tratamentos de superfície nos implantes dentários. **Rev. cir. traumatol. buco-maxilo-fac.** v.9, n.1, p.123-130, jan.-mar., 2009.

CARVALHO, A. C. BERGMANN. Histomorfometria do tecido ósseo em ratas castradas tratadas com tibolona. **J. Bras. Patol. Med. Lab. [online]**. v.46, n.3, pp. 235-243, 2010.

CHEN, Y., MAK, A. F. T., LI, J., WANG, M., SHUM, W. T., Formation of apatite on poly (α -hydroxy acid) in an accelerated biomimetic process. **J. Biomed Mater Res.** v. 73b, p. 68-76, 2005.

CHEN, D., JORDAN E, H., GELL, M., WEI, M. Apatite formation on alkaline-treated dense TiO₂ coatings deposited using the solution precursor plasma spray process. **Acta Biomaterialia**, v.4, n.3, p. 553-559, maio.2009

COSTA, C.A., SENA, L.A, PINTO, M., MULLER, C.A., CAVALCANTI, J.H. In vivo characterization of titanium implants coated with synthetic hydroxyapatite by electrophoresis. **Braz Dent J**. v.16, p.75-81, 2005.

DOHAN, D. M., COELHO, P. G., KANG, B. S., SUL, Y.T., ALBREKTSSON, T., Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. **Trends in Biotechnology** v.28 ,n.4, p.198-206, 2010.

DOROZHKIN, S.V. Composition and Properties of Crystals Growing in the Ca²⁺–Mg²⁺–HP–HC System in the Presence of Na⁺, K⁺, Cl[–], and S Ions **Inorganic Materials**, v. 40, n. 1, p. 66–72, 2004.

EHRENFEST, D. M. D., COELHO, P.G., KANG, B. S., SUL, Y. ,ALBREKTSSON, T., Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography, **Trends in Biotechnology**, v. 28, p. 198-2006, 2010.

ELIAS, C. N., LIMA, J. H. C., SANTOS, M. V. Modificações na superfície dos implantes dentários: da pesquisa básica à aplicação clínica. **ImplantNews**, v.5, n.5, p.467-476, setembro/outubro 2008.

EISENBARTH, E., MEYLE, J., NACHTIGALL, W., BREME, J. Influence of the surface structure of titanium materials on the adhesion of fibroblasts. **Biomaterials**, v. 17, n. 14, p. 1299-1403, 1996.

ESCADA, A. L. A., RODRIGUES, Jr. MACHADO, J.P.B., ALVES CLARO, A. P. R. Surface characterization of Ti-7.5Mo alloy modified by biomimetic method. **Surface & Coatings Technology**. v. 205, p. 383-387, 2010.

FUKUDA A, M. TAKEMOTO A, T. SAITO A, S. FUJIBAYASHI A, M. NEO A, S. YAMAGUCHI B, T. KIZUKI B, T. MATSUSHITA B, M. NIINOMI C, T. KOKUBO B, T. NAKAMURA A. /Bone bonding bioactivity of Ti metal and Ti–Zr–Nb–Ta alloys with Ca ions incorporated on their surfaces by simple chemical and heat treatments. **Acta Biomaterialia**. v. 7, p. 1379–1386, 2011.

GEETHA, M., SINGH, A.K., ASOKAMANI, R., GOGIA, A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. **Progress in Materials Science**, v. 54, n. 3, p. 397 - 425, maio. 2009.

GUASTALDI, A. C., APARECIDA, A. H., Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimento. **Quim. Nova**, v.. 33, n.. 6, p. 1352-1358, 2010.

GUEHENNEC, L. L., SOUEIDAN, A., LAYROLLE, P., AMOURIQ, Y., Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration, **Academy of Dental Materials**, v.23, p. 844-854, 2007.

HABIBOVIC, P., BARRERE, F, BLITTERSWIJK, C.A.V., GROOT, K., LAYROLLE, P., Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Metal Implants. **Journal American Ceramic Societion**.,v. 85, n. 3, p 517–22, 2002.

HO, W.F.,JU, C.P, CHERN, J.H., Structure and properties of cast binary Ti-Mo alloys. **Biomaterials**, Bruxelas, v.20, n. 22, p.2115-2122, nov. 1999.

HO, W.F., JU, C.P., CHERN LIN, J.H. Surface modification of a low-modulus Ti–7.5Mo alloy treated with aqueous NaOH . **Surface & Coatings Technology**, n. 203, p.3142-3150, 2009.

HO,W.F., A comparison of tensile properties and corrosion behavior of cast Ti–7.5Mo with c.p. Ti, Ti–15Mo and Ti–6Al–4V alloys. **Journal of Alloys and Compounds**. v.464, p. 580–583, 2008.

JOLY, J. C., LIMA, A. F. M.. Características da Superfície e da fenda Implante-los Intermediário Sistemas de Dois Estágios e hum . **J. Appl. Oral Sci. [online]**, v.11, n.2, p. 107-113, 2003.

KIM, H.M., TAKADAMA, H., KOKUBO, T., NISHIGUCHI, S., NAKAMURA, T., Formation of a bioactive graded surface structure on Ti-15Mo 5Zr-3Al alloy by chemical treatment. **Biomaterials**.v.21, p. 353-358, 2000.

KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. *Acta Biomaterialia*, Oxford, v.46, n.7, p.2519-2527, abr. 1998.

KOKUBO, T., TAKADAMA, H., How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials** v.27, p. 2907–2915, 2006.

LIN, D. J. et al., Bone formation at the surface of low modulus Ti–7.5Mo implants in rabbit femur. **Biomaterials**, v. 28, p. 2582–2589, 2007.

LONG, M., RACK, H.J. Titanium alloys in total joint replacement a materials science perspective. **Biomaterials**, Bruxelas, v. 19, n. 18, p. 1621- 1639, set. 1998.

MISCH, C. Terminologia genérica para implantes em forma de raiz. **Protese sobre implantes**. São Paulo, p.32-34, 2006.

MORAIS, S. L. D., CARVALHO, B. M., PELLIZZER, E. P., FALCÓN-ANTENUCCI, R. M. FERREIRA JÚNIOR, J. S. Geometria das roscas dos implantes: revisão de literatura. **Rev. cir. traumatol. buco-maxilo-fac**;v.9, n. 2, p.115-124, abr.-jun. 2009.

MORAIS, L. S., GUIMARAES, G. S., ELIAS, C. N. Liberação de íons por biomateriais metálicos. **Rev. Dent. Press Ortodon. Ortop. Facial [online]**.v.12, n.6, p. 48-53. 2007.

OLIVEIRA, J.A.G., ESCADA, A.L.A., REZENDE, M.C.A., MATHOR, M.B., ALVES CLARO, A.P. Analysis of the effects of irradiation in osseointegrated dental implants. **Clin. Oral Impl. Res.** xx, p.1-4 2011.

OSHIDA, Y., TUNA , E., B., AKTÖREN, O.,GENÇAY, K., Dental Implant **Systems, International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, p. 15780-1678, 2010.

PALMQUIST, A., OMAR, O. M., ESPOSITO, M., LAUSMAA, J., THOMSEN, P., Titanium oral implants: surface characteristics, interface biology and clinical outcome. **J.R. Soc. Interface**.v.7, p. 515-527, 2010.

PADOVAN, L. E. M., SARTORI, I. A. M., THOMÉ, G., MELO, A. C. M. Carga imediata e implantes osteointegrados – Possibilidades e técnicas. p.17, São Paulo, 2008.

PURCEK, G. SARAY, O., KUL, O., KARAMAN, I., YAPICI, G.G., HAOUAOUI, M., MAIER, H. J ., Mechanical and wear properties of ultrafine-grained pure Ti produced by multi- pass equal- channel angular extrusion. **Materials Science and Engineering**, v. 517, n 1-2, p. 97 – 104, ago. 2009.

PULEO, D.A., NANJI, A., Understanding and controlling the bone/implant interface. **Biomaterials**, v. 20, p. 2311-2321, 1999.

QU, H., WEI, M., The effect temperatura and inital ph on biomimetic apatite cating. **J Biomed Mater Res.** v. 87b, p. 204-212, 2008.

RAUTRAY, T. R., KIM, K. H., Nanoelectrochemical coatings on titanium for bioimplant applications. **Materials Technology.** v. 25, n. 3/4, p. 143-148, 2010.

ROHANIZADEH, R., AL-SADEQ M., LEGEROS, R. Z. Preparation of different forms of titanium oxide on titanium surface: Effects on apatite deposition. Journal of Biomedical Materials Research Part B: **Applied Biomaterials**, v. 71, n. 2, p. 343 – 352, set. 2004.

SOBIESZCZYK, S. Surface modifications of Ti and its alloys. **Advances in Materials Science**, , v.10, n. 1, p. 29- 42, 2010.

THOMPSON, G. J., PULEO, D.A. Ti-6Al-4V in solution inhibition of osteogenic cell phenotype as function of differentiation time course in vitro. **Biomaterials**, v.17, n. 20, p. 1949- 1954, 1996.

TOMSIA, A. P., LAUNEY, M. E., LEE, J.S., MANKANI, M. H., WEGST, U.G. K., SAIZ, E., Nanotechnology approaches for better dental implants. **Int J Oral Maxilofac Implants.** v. 26, p. 25-49, 2011.

VALLET-REGÍ, M. Ceramics for medical applications. **J. Chem. Soc.**, Dalton Trans., p. 97–108, 2001.

VASCONCELLOS, L.M.R., OLIVEIRA, M.V., GRAÇA, M.L.A., VASCONCELLOS L.G.O., CAIRO, C.A.A., CARVALHO, Y.R.C. Design of dental implants, influence on the osteogenesis and fixation. **J Mater Sci: Mater Med** v.19, p. 2851-7, 2008

VASCONCELLOS, L.M.R. Porous titanium for biomedical applications: An experimental study on rabbits. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** v.15, n.2, p. 407-12, 2010.

WEISS, I., SEMIATIN, S.L., Thermomechanical processing of alpha titanium alloys – an overview. **Mat Science and engineering.** v.263, p. 243-256, 1999.

XAVIER, S.P. Caracterização e avaliação da Biocompatibilidade do titânio submetido a diferentes tratamentos de superfície. Araçatuba, p.105, 2002.

XUE, W., LIU, X., ZHENG, X., DING, C. In vivo evaluation of plasma-sprayed titanium coating after alkali modification, **Biomaterials**, Bruxelas, v. 26, n.16, p.3029-3037, jun. 2005.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



Comissão de Ética na Experimentação Animal
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "EFEITO DO TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS DA LIGA Ti-7.5Mo" sob responsabilidade de Prof^a. Adjunto Ana Paula Rosifini Alves-Claro e Prof^a. Adjunto Maria Cristina Rosifini Alves-Rezende está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 10/09/2010 de acordo com o protocolo 2009-005674.

Presidente da Comissão de Ética na Experimentação Animal