

DALTON REIS MOMOSE

**ESTUDO DA BIOCOMPATIBILIDADE DA LIGA TI-6Al-7Nb E
TITÂNIO DE GRAU 2 EM TÍBIA DE COELHOS**



Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área de Concentração em Biopatologia Bucal.

Orientadora Prof^ª. Adjunta Yasmin Rodarte Carvalho

SÃO JOSÉ DOS CAMPOS

2002

TD 15

M 739e

f 1523

Apresentação gráfica e normalização de acordo com :

BELLINI, A.B.; SILVA, E.A. Manual para elaboração de monografias: Estruturas do trabalho científico. São José dos Campos: FOSJC/UNESP, 2000, 81p.

MOMOSE, D.R. Estudo da biocompatibilidade da liga de Ti-6Al-7Nb e titânio grau 2 em tíbias de coelhos. 2002, 96f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de Concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

*“Há homens que lutam por um dia e são bons.....
há outros que lutam um ano e são melhores,
Há aqueles que lutam muitos anos e são muito bons.....
mas, existem àqueles que lutam a vida toda,
estes são os imprecindíveis.....”*

BERTOLT BRECHT

*Dedico este trabalho a minha querida mãe Lila
por mostrar, não com palavras mas com
atitudes, que a vida só reserva boas surpresas
para as pessoas de coração aberto...*

e meu pai Fernando Momose (in memorian)

Agradecimentos especiais

*À minha querida orientadora **Profa. Adjunta Yasmin Rodarte Carvalho**, pelo conhecimento e serenidade irrefutáveis, a quem terei sempre como exemplo.*

Agradecimentos especiais

Ao amigo Prof. Dr. Luiz Eduardo Blumer Rosa, a quem descobri pelo convívio, o quanto a amizade é importante nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, na pessoa da Diretora da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Profa. Tit. Maria Amélia Máximo de Araújo.

Ao Prof. Adjunto Antônio Olavo Cardoso Jorge e a Profa. Dr. Ana Christina Claro Neves, pelo apoio e incentivo na minha formação científica, ainda como acadêmico.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação que tanto enriqueceram o trabalho com sugestões, pela partilha de novos achados, referências e pela contribuição em todos os momentos.

Ao Prof. Ivan Balducci, pela elaboração da análise estatística e gráficos, desta pesquisa.

Aos funcionários do Biotério Lourival Jacob e Antônio Domingos Sávio Barbosa Maia Vasconcelos, colaboração na fase experimental desta pesquisa.

Às técnicas de Laboratório de Apoio à Pesquisa Maria Salete Faria e Ana Lourdes da Silva Machado, pelo preparo do material histológico.

À bibliotecária Angela de Brito Bellini, pela amizade, disponibilidade, paciência e orientação na revisão deste trabalho

Aos amigos da Divisão de Materiais do Instituto de Aeronáutica e Espaço, Dr. Carlos A. A. Cairo, Pesquisadores Mario L. A. Graça e Carlos Eduardo Bellinati.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	09
LISTA DE QUADROS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS.....	13
RESUMO.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Tecido ósseo.....	18
2.2 Biocompatibilidade.....	20
2.3 Modelo de Estudo.....	22
2.4 Titânio e suas ligas.....	25
2.5 Fabricação pela metalurgia do pó.....	27
2.6 Material de Implante.....	29
2.7 Superfície do Titânio.....	30
2.8 Interface do implante com osso.....	34
2.9 Fatores importantes para o sucesso da implantação.....	37
2.9.1 Esterilização.....	37
2.9.2 Procedimento cirúrgico.....	38
2.9.3 Corrosão do implante.....	40
2.9.3 Perimplantite.....	42
2.9.5 Biomecânica.....	44
3 PROPOSIÇÃO.....	48
4 MATERIAL E MÉTODO.....	49
4.1 Obtenção das ligas de titânio e usinagem.....	49
4.2 Limpeza e acondicionamento.....	50
4.3 Cirurgia de implantação e remoção.....	51
4.4 Preparo histológico.....	53
4.4.1 Sem descalcificação.....	53

4.4.1.1 Análise quantitativa da neoformação óssea.....	55
4.4.2 Com descalcificação.....	55
5 RESULTADOS.....	60
5.1 Material preparado com descalcificação.....	60
5.2 Material preparado sem descalcificação.....	62
5.3 Análise quantitativa da neoformação óssea.....	63
6 DISCUSSÃO.....	70
7 CONCLUSÃO.....	80
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
APÊNDICES.....	90
ANEXO.....	94
ABSTRACT.....	96

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Aparelhos utilizados na obtenção dos implantes metálicos.** a) balança analítica digital utilizada para pesagem dos pós metálicos. b) matriz com camisa flutuante desmontada para compactação dos pós. c) matriz montada. d) prensa hidráulica vertical usada na primeira prensagem. e) prensa isostática utilizada para prensagem final. f) forno de sinterização com atmosfera controlada. g) pinos obtidos e parafusos usinados h) ultra-som utilizado na limpeza dos implantes..... 57
- FIGURA 2 - CIRURGIA DOS IMPLANTES -** a) materiais utilizados na perfuração e implantes. b) incisão cirúrgica na região da tíbia. c) divulsão do perióstio e exposição do local da perfuração. d) posicionamento do implante sobre a perfuração. e) fixação do primeiro implante. f) abertura da segunda loja de implantação. g) suturas das bordas cirúrgicas. h) exame macroscópico dos implantes nas tíbias próximo a articulação femur-tibial..... 58
- FIGURA 3 - PREPARO DAS AMOSTRAS POR DESGASTE –** a) fixação na morsa do fragmento de osso com implante anteriormente incluído em molde sextavado de resina de poliéster. b) realização dos cortes com disco diamantado de 4 polegadas. c) obtenção de cortes com espessura de aproximadamente 50 μm . d) reinclusão em resina e poliéster para desgaste. e) desgaste do material na polítriz com sequência de lixas

com granulações decrescentes. f) lâmina final para observação em microscopia de luz..... 59

FIGURA 4 - ANÁLISE DA IMAGEM DIGITALIZADA – a) material histológico obtido por desgaste x25. b) imagem trabalhada após remoção do implante x25. c) detalhe da imagem anterior x100. d) cálculo da área total representado pelos espaços medulares e de ossificação. e) cálculo da área do osso medular (área total – área de ossificação). LEGENDAS: i – implante; f – filetes de roscas; c – cabeça do parafuso; e – área de embricamento..... 65

FIGURA 5 - PERÍODO DE 21 DIAS: - a) e b) região de interface com o tecido ósseo neoformado entre as roscas do implante (l) com limite nítido entre osso pré-existente e o neoformado (seta). Azul de Toluidina (AT) (filtro azul em a; filtro amarelo em b). 25x; c) ápice do filete de rosca do implante (l) e tecido ósseo neoformado, com amplos espaços medulares (*). Azul de Toluidina (filtro azul) 100x; d) região de fundo de rosca do implante (l) e tecido ósseo neoformado, com espaço na interface (seta) e amplos espaços medulares (*). Azul de Toluidina (filtro amarelo) 100x; e) limite entre osso neoformado (à esquerda) e osso cortical pré-existente (à direita). Azul de Toluidina (filtro azul) 200x; f) osso neoformado na região central entre os filetes de rosca, com amplos espaços medulares. Azul de Toluidina (filtro amarelo). 200x..... 66

FIGURA 6 - PERÍODO DE 42 DIAS: - a) e b) tecido ósseo entre as roscas do implante (l) com poucos espaços medulares. Azul de Toluidina (AT) (filtro azul em a; filtro amarelo

- em b). 25x; c) e d) tecido ósseo próximo ao implante, com alguns espaços medulares (*). Azul de Toluidina (filtro azul em c; filtro amarelo em d) 100x; e) e f) ósseo neoformado na porção central entre os filetes de rosca, com sistemas de Havers. Azul de Toluidina (filtro azul em e; filtro amarelo em f) 200x..... 67
- FIGURA 7 - PERÍODO DE 84 DIAS : – a) e b) tecido ósseo compacto entre as roscas do implante (I). Azul de Toluidina (AT) (filtro azul em a; filtro amarelo em b). 25x; c) e d) sistema de Havers no osso compacto junto ao implante. Ausência de espaços entre implante e osso (seta). Azul de Toluidina (filtro azul em c; filtro amarelo em d) 100x; e) e f) detalhe do sistemas de Havers do osso compacto entre os filetes de rosca. Azul de Toluidina (filtro azul em e; filtro amarelo em f) 200x..... 68
- FIGURA 8 - O gráfico mostra a porcentagem (%) de espaços medulares presentes nas análises das ligas de Ti-6Al-7Nb e Ti grau 2, em função do tempo de 21 e 42 dias.... 69

LISTA DE QUADROS

- QUADRO 1 - Períodos (em dias) de implantação das ligas de Ti-6Al-7Nb e titânio grau 2 e número de coelhos utilizados em cada grupo..... 53
- QUADRO 2 - Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo Ti-6Al-7Nb, após 21 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total..... 90
- QUADRO 3 - Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo titânio grau 2, após 21 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total..... 91
- QUADRO 4 - Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo Ti-6Al-7Nb, após 42 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total..... 92
- QUADRO 5 - Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do titânio grau 2, após 42 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total..... 93

LISTA DE ABREVIATURAS

10^{-2} torr	Torr, unidade de vácuo
15 mPa/s	Mega Pascal por segundo, unidade de pressão
60RC	Rockwell, unidade de dureza
>	Símbolo “maior que”
Al	Elemento Alumínio da tabela periódica
Å	Angstrom, unidade de área
MHz	Megahertz, unidade de frequência
MPa	Mega Pascal, unidade de força (torque)
μm	Micrometros unidade de medida
nm	Nanometros, unidade de medida
N.cm	Newton vezes centímetros, unidade de força
$\mu\text{m}/\text{dia}$	Micrometros por dia, unidade de medida
Nb	Elemento de transição Nióbio da tabela periódica
Ti	Elemento de transição Titânio da tabela periódica
Ton	Medida de peso uma Tonelada equivale a 1000Kg

MOMOSE, D. R. Estudo da biocompatibilidade da liga Ti-6Al-7Nb e titânio de grau 2 em tibia de coelhos. 2002.96f. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de Concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo analisar a reação do tecido ósseo a implantes confeccionados com a liga de titânio contendo alumínio e nióbio (Ti-6Al-7Nb) em relação ao titânio comercialmente puro (titânio de grau 2). Foram obtidos 48 pinos por metalurgia do pó, os quais foram usinados em implantes de 2,0mm de diâmetro, 7,5mm de comprimento e com 1,67mm de rosca, o suficiente para fixação inicial. O experimento foi realizado em 24 coelhos da raça Nova Zelândia com 3,5 Kg e com aproximadamente três meses e meio de vida. Quatro implantes foram colocados por animal, sendo na tibia esquerda implantados dois implantes da liga Ti-6Al-7Nb, equidistantes 4cm, e na direita o titânio grau 2. Após os períodos de 21, 42 e 84 dias, os animais foram sacrificados e a interface entre o implante e o tecido ósseo foi analisado em nível histológico, em cortes descalcificados e não descalcificados. As imagens dos cortes não descalcificados foram digitalizadas e submetidas ao programa de análise de imagem, por meio do qual foi calculada a área do osso neoformado entre os passos da rosca. Os resultados mostraram que não houve diferenças da resposta do tecido ósseo ao tipo de material implantado. Em relação ao período de análise, observou-se aos 21 dias maior quantidade de espaços medulares e menor quantidade de osso neoformado que nos outros períodos. Não houve diferença significativa entre os grupos de 42 e 84 dias, que apresentavam tecido ósseo com aspecto mais maduro. Concluiu-se, com o trabalho, que os períodos de 21 e 42 dias são suficientes para analisar a osseointegração de implantes que não sofreram cargas funcionais, e que a liga de titânio Ti-6Al-7Nb apresentou comportamento semelhante ao titânio de grau 2, podendo ser empregada como alternativa de uso na biomedicina.

PALAVRAS CHAVES : Biomateriais; liga; osseointegração; titânio de grau 2.

1 INTRODUÇÃO

O Titânio tem excelente resistência à corrosão e grande aplicação em produtos submetidos a ambientes corrosivos. Desta forma pesquisas no desenvolvimento de ligas procuram melhores propriedades mecânicas, sem perder a resistência à corrosão.

Entre as ligas de titânio, a mais utilizada em prótese ortopédica é a tradicional liga Ti-6Al-4V, que apresenta boa conformação e excelentes propriedades mecânicas aliadas à resistência à corrosão (Willians⁶⁷, 1981).

Apesar da grande versatilidade de uso, a liga Ti-6Al-4V apresenta na superfície o óxido de Vanádio, o qual é térmica e dinamicamente instável, sendo considerado tóxico ao corpo humano. O acúmulo deste material dentro do organismo decorre do desgaste da prótese ortopédica durante o uso, sendo acelerado pelas variações químicas do organismo e fluidos corpóreos (Kuroda et al.³⁸, 1998 e Niinomi⁵², 1998).

A presença de compostos de Vanádio no organismo, em implantes ortopédicos, pode acarretar distúrbios no sistema respiratório. Quando os pulmões são submetidos à exposição prolongada, tem-se uma alteração no seu funcionamento, podendo levar a uma oxigenação inadequada. Outras alterações no corpo humano são citadas, como a policitemia, com a destruição dos glóbulos vermelhos, e a anemia, além da perda de apetite, palidez, presença de albumina no sangue e hematúria, eliminação de sangue na urina. Nas próteses ortopédicas a compatibilidade biológica do material é analisada em conjunto com os

esforços mecânicos aos quais o implante será submetido. Com a sua aceitação em condições extremas, pode-se assim utilizá-lo em substituição ao tecido ósseo em diversas situações (Oliveira⁵⁴, 1995).

Atualmente os pesquisadores concordam que o Titânio e suas ligas estão bastante difundidos como material de escolha na confecção de implantes, pois, apresentam grande resistência a corrosão além da boa compatibilidade biológica (Bellinati¹¹, 1999).

O titânio, bem como suas ligas, apresenta características interessantes, como boa resistência à corrosão e elevada biocompatibilidade, tornando-o apropriado para as aplicações em implantes ortopédicos e odontológicos. Em próteses, onde o esforço em função é grande a resistência mecânica passa a ser fator importante, levando ao uso das ligas de titânio, que apresentam um desempenho melhor que o titânio comercialmente puro, pois possuem melhores propriedades mecânicas (Oliveira⁵⁴, 1995).

A indústria metalúrgica objetiva o desenvolvimento de ligas versáteis e de fácil obtenção. As ligas de titânio estão dentro destes objetivos. O estudo de substitutos para Vanádio como Nióbio, Tântalo, Zircônio e Molibdênio aumentam a versatilidade do uso, devido à baixa toxicidade ao corpo humano (Kuroda et al.³⁸, 1998; Niinomi⁵², 1998 e Okasaki et al.⁵³, 1998).

A viabilidade do uso dessas ligas, como biomateriais, está diretamente relacionada aos testes de compatibilidade biológica. Os testes preliminares podem ser realizados através de cultura de células (Okasaki et al.⁵³, 1998; Bagambisa et al.⁰⁹, 1990 e Williams⁶⁷, 1981) ou pela implantação em animais de laboratório (Momose et al.⁵⁰, 2001 e Nagem Filho et al.⁵¹, 1974).

Estudo realizado em ratos com o titânio de grau dois e a liga Ti/6Al/7Nb contendo o nióbio, demonstrou que estes são bem tolerados pelo organismo, não sofrendo processo de corrosão frente aos

fluidos orgânicos ou levando a reações indesejáveis de intolerância ao material (Momose et al.⁵⁰, 2001).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Tecido Ósseo

O osso é um tipo especializado de tecido conjuntivo, formado por células e material intercelular calcificado, os quais compõem a matriz óssea. Nos estágios iniciais de formação do tecido, os osteoblastos secretam moléculas de colágeno e substância fundamental amorfa, proteoglicanos e glicoproteínas. Os monômeros de colágeno agrupam-se formando os polímeros, fibras colágenas que, agrupadas, formam cadeias, dando origem à matriz osteóide, semelhante ao tecido cartilaginoso, na qual com a precipitação de sais de cálcio inicia-se a calcificação. O aumento da quantidade de células no osso e a intensa atividade de síntese e reabsorção no constante processo de remodelação do tecido ósseo mostram a complexidade e o dinamismo de formação e manutenção que envolvem este tecido (Guyton³⁰, 1997).

As células responsáveis pela formação da matriz óssea são os osteoblastos, presentes na superfície do tecido ósseo e com origem em células mesenquimais. Os osteócitos são osteoblastos que permaneceram aprisionados na matriz óssea, no interior de lacunas de onde partem canalículos que permitem comunicação com as células adjacentes e com o meio nutritivo, pelas projeções do citoplasma proporcionando a vitalidade do tecido ósseo. Os osteoclastos, células gigantes multinucleadas, são responsáveis pelo processo de reabsorção do tecido, tendo importante função na remodelação óssea. A superfície do osso é revestida interna e externamente por células osteogênicas e tecido conjuntivo, responsáveis pela composição do endóstio e perióstio.

Este revestimento ósseo representa importante função na manutenção do tecido, pois em locais onde há reabsorção óssea ativa, o mesmo não é observado. As células do periósteo têm morfologia semelhante à dos fibroblastos e têm importante função no crescimento dos ossos e na consolidação de fraturas ósseas (Junqueira & Carneiro³⁵, 1999).

Jaffin & Berman³³ 1991, afirmaram que a qualidade do tecido ósseo parece ser o principal determinante do sucesso ou não do implante e fizeram um acompanhamento clínico, durante cinco anos, de 1054 implantes do sistema Branemark[®] fixados nos maxilares. Segundo os autores, a anatomia do tecido ósseo pode ser dividida em quatro grupos: osso cortical homogêneo (tipo I), cortical espesso com cavidade medular (tipo II), cortical fino com trabeculado denso e firme (tipo III) e o osso com cortical fina e com trabeculado frouxo (tipo IV). Os resultados mostraram que implantes fixados nos ossos tipo I, II e III ofereceram boa estabilidade e tiveram apenas 3% de insucesso, enquanto que os fixados em osso tipo IV tiveram 35% de insucesso. Concluí-se que a avaliação pré-cirúrgica do tipo de osso que irá receber o implante, pode ser aplicada de maneira a prevenir os insucessos clínicos.

Roberts et al.⁵⁸ 1984, estudaram o remodelamento do tecido ósseo em quarenta coelhos que receberam implantes e analisaram os períodos de cicatrização na interface implante/osso. Os autores observaram que: até duas semanas, há presença de uma camada óssea embrionária (estágio 1); de duas a seis semanas, o osso embrionário torna-se maduro e ocorre a compactação lamelar (estágio 2); de duas a seis semanas ocorre o mesmo que o estágio anterior, mas os eventos são distintos: neste estágio, o osso embrionário começa a ser reabsorvido e ocorre o remodelamento da interface do osso e, no estágio 4, temos o osso compacto que irá maturar-se por uma série de remodelagens e com ausência de osso embrionário. O osso é formado nas superfícies corticais durante o reparo da ferida, crescimento e adaptação biomecânica. Inicialmente, uma rede porosa de osso embrionário captura vasos sanguíneos ao longo do periósteo e endósteo. Essa rede é

então preenchida com osso lamelar, capaz de suportar cargas. O remodelamento do osso compacto adjacente aos implantes resulta na formação de osteônios secundários, os quais são estruturas lamelares concêntricas com uma margem periférica de reabsorção ou deposição de substância cimentante. Quando o osso adjacente ao implante se remodela, a substância cimentante pode proporcionar adesão mecânica do osso à superfície do implante. A seqüência de remodelação começa com a fase de ativação, seguida por uma fase de reabsorção, fase de quiescência e fase de formação óssea. A média de duração desse ciclo aumenta proporcionalmente com o tamanho do animal, portanto esse é um bom parâmetro para comparar a fisiologia óssea entre espécies. Segundo os autores, o osso embrionário é um tecido altamente celular e de formação rápida (30 a 50 μ m/dia ou mais). Quando comparado ao osso maturo, ele é relativamente pouco mineralizado, com fibras orientadas ao acaso e pouca resistência. É rapidamente substituído por osso maturo ou lamelar, que é o principal suporte de cargas do esqueleto adulto, e tem formação relativamente lenta (0,6 μ m/dia). A maturação completa do osso lamelar requer seis a doze meses.

2.2 Biocompatibilidade

O trauma cirúrgico, a instabilidade do implante e o processo de corrosão são fatores importantes a serem analisados ao redor do material implantado. Para avaliar o efeito da corrosão metálica isoladamente, Linder & Lundskog⁴⁴ (1975), fizeram um estudo experimental em coelhos. Nesses animais, o trauma cirúrgico foi mínimo, não havendo movimentação dos implantes. Os metais usados foram o aço inox, Titânio, Vitálio e Cobre. Os implantes foram colocados em tíbia de coelhos nos períodos de observação que variavam de três semanas a dez meses. Todos os implantes estavam firmemente aderidos ao osso, com exceção do Cobre. Após a remoção dos

implantes foi observado que não havia tecido mole aderido e a superfície apresentava-se sem alteração, exceto nos implantes de cobre que se apresentavam revestidos por tecido conjuntivo fibroso e tecido necrótico. Concluíram que a técnica cirúrgica atraumática e a imobilidade do implante são importantes para a integração óssea, embora a biocompatibilidade do material também seja relevante para os implantes.

Segundo Kasemo³⁶ (1983), quase todas as interações entre o implante e o tecido originam-se de forças físico-químicas de dimensões atômicas. Uma das condições mais importante que irá determinar o sucesso ou a falência de um implante, está relacionada com as propriedades de superfície desse metal. O autor enfatizou que as interações químicas dos implantes metálicos com os tecidos são determinadas pelas propriedades do óxido superficial e não pelas propriedades químicas do metal.

Lemons & Natiella⁴⁰ (1986), relataram que, ao longo da história humana, tentou-se substituir os tecidos doentes ou perdidos por substâncias naturais ou sintéticas. Alguns registros mostraram a confecção de dentes a partir de produtos como madeira, pedras ígneas, marfim, osso seco, ouro, arame de ouro, ligas de prata e outros materiais aplicados na área médica e dentária. Alguns implantes dentários foram encontrados no Egito antigo, mostrando uma aplicação funcional para substituição de dentes. Na maioria dos casos, a biocompatibilidade era determinada pelos resultados clínicos da tolerância do hospedeiro que são a regra para sucesso ou fracasso. No período de tempo que precede as técnicas anti-sépticas, nenhuma decisão clara poderia ser tomada com respeito aos melhores materiais para reconstrução cirúrgica embora, em geral, a substância mais próspera disponível fosse o ouro, quimicamente inerte e menos tóxico. Os mesmos autores afirmaram ainda que devido aos fenômenos eletroquímicos, as ligas metálicas não devem ser interconectadas eletricamente através de uma ponte de metal, especialmente se diferentes ligas são usadas no mesmo arco dentário de um paciente, as quais podem gerar uma corrente elétrica. O potencial da corrente galvânica do aço inox é completamente diferente das

ligas de titânio ou cobalto. Já as ligas de cobalto-cromo-molibdênio, titânio-alumínio-vanádio e Titânio puro não possuem grandes diferenças eletroquímicas, isto é, diferença de potencial galvânico. Estes fenômenos podem influenciar no tempo de permanência do metal junto ao organismo.

Williams⁶⁸ (1992), diz que na concepção de uma prótese é necessário analisar os aspectos relativos ao implante em função, que permitirão que tal prótese desempenhe, de maneira adequada, as exigências funcionais pré-definidas. Dentre tais aspectos deve-se considerar, no planejamento da prótese, as características físicas, químicas e mecânicas bem como a biocompatibilidade do material a ser empregado junto ao tecido vivo.

O tema biocompatibilidade foi discutido detalhadamente em 1986 pela Sociedade Européia de Biomateriais, originando as seguintes definições:

- a. biomaterial: um material que deve conectar-se ao sistema biológico para tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo;
- b. material bioativo: um biomaterial que é projetado para intensificar ou modular atividade biológica;
- c. osseointegração: performance clínica da interação de um material com o tecido ósseo, não sendo aplicável à definição de biomaterial.

2.3 Modelo de estudo

Eriksson et al.²⁵ (1982), adaptaram uma câmara de microscopia vital em tibia de coelhos para observar as alterações vasculares que ocorrem pelo aquecimento do tecido ósseo. O calor de 53°C foi aplicado durante um minuto. No início, o fluxo sanguíneo aumentou; em seguida, o fluxo cessou em alguns vasos e, em outros, ele tornou-se vagaroso. Após dois dias,

os vasos que ainda apresentavam fluxo também cessaram. Gradualmente, começou a reparação do tecido com desenvolvimento de uma circulação colateral e a remodelação óssea iniciou-se após três a cinco semanas.

O exame histológico proporciona a melhor visualização da interface implante tecido ósseo, respondendo às questões mais importantes da arquitetura dessa região e também mostra se existe contato ósseo direto. A microscopia eletrônica dos tecidos da interface fornece informações importantes, porém, os cortes ultraestruturais são desnecessários para identificar o tipo de tecido ao redor do implante. O nível de resolução da microscopia de luz é suficiente para observar, por exemplo, se há presença de células produtoras de fibras na interface e o aumento da imagem mostra a resposta tecidual. Outro aspecto interessante e bastante relevante no processamento das amostras de tecido contendo implante é que, quando esse implante é removido do tecido ósseo antes de serem feitos cortes, haverá apenas uma evidência indireta de osseointegração. Quando os tecidos da interface são acidentalmente removidos, tecidos moles que podem estar presentes nessa interface desaparecem, estabelecendo então uma falsa constatação de osseointegração (Albrektsson et al.⁶², 1986).

Linder et al.⁴⁵ (1989), analisaram a interface implante/osso por meio de microscopia eletrônica, após um período de onze meses de implantação. O propósito dos autores era observar as reações do tecido ósseo que poderiam ser detectadas em microscopia de transmissão. Os resultados mostraram que, nos casos em que se acreditava ter ocorrido a osseointegração, encontrou-se um espaço que variava de 500 a 1000nm entre a superfície do implante e o tecido ósseo. Os autores concluíram que a análise da reação tecidual do osso, em relação ao implante e a quantificação deste tecido, é pouco confiável em nível de microscopia eletrônica de transmissão.

A resistência ao desrosqueamento depende da quantidade de osso compacto ao redor do implante. Essa afirmação vem do estudo histomorfométrico e biomecânico elaborado por Sennerby et al.⁶² em 1992, que compararam implantes de titânio em forma de parafuso, colocados em

osso cortical e osso medular de coelhos. As áreas escolhidas para a implantação foram a tibia e a parte femural do joelho dos animais. Após um período de seis semanas, foi necessário menor torque para remover os implantes intra-articulares que tiveram média de 20Ncm, enquanto que os implantes colocados na tibia necessitaram em média 35Ncm. Nesse período, a análise histológica mostrou haver maior formação de osso nas roscas dos implantes intra-articulares. Aos três meses, os valores foram de 30Ncm para os implantes intra-articulares e 36Ncm para os implantes da tibia e, aos seis meses, esses valores foram de aproximadamente, 36Ncm para ambas as regiões avaliadas. O osso ao redor dos implantes intra-articulares era mais esponjoso enquanto que, na tibia, o osso era mais compacto. O torque de remoção dos implantes intra-articulares aumentou com o tempo de observação, enquanto que os implantes da tibia não sofreram aumento de torque com o passar do tempo. A análise histomorfométrica mostrou maior quantidade de osso compacto nas roscas dos implantes da tibia, os quais necessitaram dos torques mais elevados para a remoção. Esses dados permitiram aos autores concluir que existe correlação positiva entre a quantidade de osso compacto ao redor do implante e a resistência ao desrosqueamento.

Malavez et al.⁴⁷ (1996), fizeram um estudo retrospectivo do sistema Branemark[®] de implantes orais de setenta e cinco pacientes do período de 1988 a 1993. O controle do sucesso do implante foi realizado com exame radiográfico pela técnica do paralelismo com cone longo e filme intraoral periapical. Todas as radiografias puderam ser analisadas quanto à altura da crista óssea em torno do implante, os valores de densidade óssea e arquitetura.

Meredith⁴⁹ (1998), apresentou um método alternativo que poderá avaliar o sucesso clínico de implantes utilizando-se da análise da frequência de ressonância, a qual poderá ser usada como um instrumento de diagnóstico clínico. O autor também acreditava ser necessário avaliar as medidas de umidade local, tipo de implante, localização, quantidade e

qualidade de tecido ósseo, além de outras variáveis que o paciente pudesse apresentar.

Guglielmotti et al.²⁹ (1999), desenvolveram um modelo experimental de avaliação de osseointegração utilizando-se de microscopia de luz na análise de implantes laminares colocados na região medular da tíbia de ratos. Através de microscopia de luz, observaram a deposição de tecido mineralizado sobre o implante, revelando a osseointegração. Após esta confirmação, foi utilizada a energia dispersiva de raios-X (EDS-X) para verificar a presença de cálcio e fósforo e o quanto da superfície deste implante apresentava a deposição de tecido ósseo. Assim, o método pôde avaliar quantitativamente e qualitativamente o tecido ósseo encontrado sobre a superfície dos implantes metálicos.

2.4 Titânio e suas ligas

Estudos feitos na década de sessenta mostraram a preocupação dos pesquisadores com as reações teciduais geradas por implantes metálicos. Laing et al.³⁹ (1967), avaliaram as reações teciduais adjacentes aos implantes metálicos colocados na musculatura para espinhal de coelhos. Os metais empregados nesse estudo foram diferentes tipos de aço, ligas de níquel, ligas de cobalto, ligas de titânio, Titânio puro, ligas de zircônio, Zircônio puro e Alumínio, em formato de cilindros ou esferas. Após seis meses os animais foram sacrificados e as amostras analisadas histologicamente. Os resultados mostraram reações teciduais que variaram de uma violenta reação inflamatória, como no caso do Níquel e Cobalto, até uma discreta reação a outros metais. Os metais que já eram utilizados como implantes cirúrgicos, entre eles o titânio comercialmente puro, apresentaram uma boa resposta tecidual e formaram pseudomembrana ao redor do implante.

Segundo os autores, o Titânio e algumas ligas apresentaram evidências de serem materiais confiáveis para produção de implantes cirúrgicos.

Linder⁴³ em 1989, fez um estudo experimental em trinta e oito coelhos os quais receberam um implante de Titânio comercialmente puro em uma tíbia e um implante de outro metal a ser analisado. Os outros metais em análise eram uma liga de titânio-alumínio-vanádio, liga de cromo cobalto e aço inox, confeccionados em duas superfícies, uma lisa e outra rugosa. Foram analisados os setenta e seis implantes em microscopia de luz, setenta e três deles mostraram contato direto entre osso e o metal, mas três tiveram insucesso. Acredita-se que o fracasso tenha ocorrido por causa da instabilidade na fixação do implante. O autor concluiu com seu estudo que a osseointegração não é uma reação exclusiva ao titânio, mas um potencial de reparação básica e inespecífica do tecido ósseo.

Segundo Smith⁶⁴ (1993), o Titânio comercialmente puro, a liga de titânio/alumínio/vanádio (Ti-6Al-4V) e a hidroxiapatita são os materiais de implantes mais usados no Estados Unidos. O aço inoxidável e as ligas de cobalto continuam a ser empregados na ortopedia e as ligas de cromo-cobalto em implantes subperiosteais. Segundo o autor estudos associando o processo de osseointegração com o titânio comercialmente puro reduziram o uso dos outros metais na confecção de implantes dentários. O autor relatou que o grande uso do titânio e suas ligas na confecção de implantes ocorreram, principalmente, pelas características de resistência à corrosão e biocompatibilidade.

Niinomi⁵² (1998), relatou que o Titânio puro e as ligas de titânio são materiais que apresentam grande interesse para a aplicação biomédica. A liga Ti-6Al-4V foi, durante muito tempo, a liga de titânio mais usada pela biomedicina, embora a questão do problema na toxicidade dos elementos que compõem esta liga seja controverso. Ligas sem elementos como Vanádio e Alumínio estão sendo desenvolvidas atualmente, nas quais estão utilizando elementos considerados não tóxicos ao organismo como Nióbio, Tântalo e Zircônio. Tais ligas apresentam baixo módulo de elasticidade,

um importante requisito para o uso na biomedicina, por apresentar maior similaridade com o osso.

2.5 Fabricação pela metalurgia do pó

Para Froes et al.²⁶ (1980), a metalurgia do pó é um processo metalúrgico de fabricação de peças metálicas, o qual distingue-se dos processos convencionais pelas seguintes características: uso de pós metálicos como matéria prima; ausência ou presença parcial da fase líquida do material; características físicas e estruturais únicas, decorrentes do processo e a obtenção de produtos finais em formas definitivas e dentro de tolerâncias dimensionais muito estreitas. Em termos gerais, a metalurgia do pó para o titânio envolve três etapas: produção do pó; compactação dentro da matriz para obtenção do formato e sinterização para obter a peça solidificada. Entretanto, apesar de aparentemente simples, o processo necessita de alguns cuidados importantes antes de se obter o produto final. Um deles seria a qualidade do pó que deve ter as especificações de pureza e granulação, as quais estão diretamente relacionadas com as propriedades mecânicas do produto final, devendo ser analisados, também sua morfologia e composição química. Outro cuidado importante é a contaminação do pó no próprio processo de fabricação da peça, o que pode ser controlado com fornos de atmosfera controlada evitando, assim, a reação dos constituintes do pó com elementos indesejáveis como oxigênio, nitrogênio e carbono.

Segundo Peters⁵⁵ (1998), o Titânio é o quarto elemento metálico mais abundante na crosta terrestre, precedido pelo alumínio, ferro e magnésio. O titânio foi descoberto primeiramente no rutilo, por volta de 1790 e, posteriormente, nos minerais ilmenita e titanomagnetita. Foram necessários mais de cento e sessenta anos para que o primeiro produto comercial fosse introduzido no mercado. Durante este período de desenvolvimento, o interesse

pelo metal foi crescendo devido a sua excelente relação resistência/peso e a resistência à corrosão. Nas últimas décadas, o titânio e suas ligas encontraram uma grande variedade de aplicação na indústria aeroespacial, em componentes de perfurações em alto mar, usados pela indústria de exploração e na indústria química. O emprego do titânio tem sido limitado devido aos custos relativamente altos associados a obtenção do metal, mas que estão sendo contornados pelo desenvolvimento de novas técnicas de manufatura que possibilitam a produção de componentes com grande precisão e em formato próximo ao final, o que ajudaria a aumentar a possibilidade de uso e, conseqüentemente, o mercado do metal.

Ambrósio Filho⁴ (1998), explicou que o processo de metalurgia do pó consiste na compactação por pressão de uma massa de pó metálico dentro de uma matriz, sendo então levada para uma etapa de sinterização dentro de um forno com atmosfera controlada, podendo essas duas etapas ocorrer ao mesmo tempo com o uso de prensa à quente. A sinterização é um processo limpo, pois gera uma quantidade de subprodutos muito baixa, reduzindo a emissão de poluentes, interessante do ponto de vista ambiental. O processo apresenta a vantagem de permitir a obtenção de peças em formas e dimensões acabadas ou praticamente terminadas para uso, contudo apresenta a desvantagem de não permitir a obtenção de peças em formato complexo. O autor relata ainda que essa técnica apresenta uma relação custo/benefício bastante favorável quando comparada com a obtenção pela técnica convencional por fundição que necessita, na maioria das vezes, que a peça seja submetida a processos de conformação e usinagem, até conseguir o produto final. Neste contexto, o processo de obtenção de peças por metalurgia do pó apresenta-se como uma opção viável de produção de peças finais, eliminando todas as etapas de processamento da matéria prima, reduzindo as perdas por usinagem, com aumento da produção e custo baixo.

2.6 Material de implante

Williams⁶⁷ (1981) descreveu que a seleção do material usado em implantes cirúrgicos era feita com base nas propriedades mecânicas, usinabilidade, propriedades químicas e biocompatibilidade. Dentre estes aspectos, um ponto importante analisado, em relação ao corpo humano, (hospedeiro), foi de como reagiria bioquimicamente à presença deste material estranho. Assim, foi muito importante para esta interação que a superfície dos implantes expostos aos fluidos orgânicos, inertes ou não, fosse passiva para formação de uma película estável de hidróxido ou de um óxido que previesse sua dissolução. As ligas de aços inoxidáveis como aquelas à base de cobalto também foram amplamente utilizadas e reconhecidas como materiais biologicamente passíveis de aplicação em implantes. Contudo, o titânio e suas ligas foram usados com grande aplicação na área médica e odontológica, com grande e crescente aplicação na área ortopédica. Este aumento no interesse do metal é indicativo da superioridade dele em relação aos outros materiais. A principal vantagem do titânio é sua excelente resistência à corrosão, o que lhe confere compatibilidade junto ao tecido vivo. Além desta característica, o titânio apresenta propriedades físicas e mecânicas excelentes, sendo o material metálico que apresenta o maior conjunto de qualidades para ser usado como biomaterial.

Bréme¹⁵ (1989) relatou que, no passado, quando pretendia usar materiais metálicos com resistência à corrosão, os metais nobres como ouro, platina e prata e suas ligas eram os materiais de escolha. Devido ao alto custo desses materiais e as propriedades mecânicas que limitam sua aplicação, não são utilizados como materiais estruturais, embora eles sejam utilizados em algumas situações na odontologia. Atualmente, os metais passivados são uma alternativa de uso em ambientes corrosivos e são cada vez mais utilizados em aplicações biomédicas. O Alumínio, o Cromo e o Titânio são os metais que melhor apresentam esta característica de passividade da

superfície. Dentre eles, o Alumínio não é empregado na indústria biomédica pela sua toxicidade ao corpo humano. Pelo mesmo motivo, o Cromo não é utilizado puro mas, em alguns casos, é utilizado em teores de, no máximo, 18%, como exemplo os aços inoxidáveis ou ligas à base de Cobalto. Assim, o uso mais freqüente é o do Titânio puro ou em ligas que o têm como material majoritário.

2.7 Superfície dos implantes de Titânio

Com a finalidade de quantificar o tecido ósseo em contato com três tipos de implantes de diferentes marcas comerciais, dois dos quais com superfície de Titânio e um com superfície coberta com hidroxiapatita, Weinlaender et al.⁶⁶ (1992), realizaram um estudo histomorfométrico utilizando mandíbulas edêntulas de cães na colocação dos implantes. Após doze semanas, foram obtidos cortes não descalcificados e analisados em microscopia de luz. Os resultados mostraram uma porcentagem significativamente maior e mais densa de tecido ósseo ao redor dos implantes cobertos com hidroxiapatita, em comparação com os implantes de superfície de Titânio.

Bowers et al.¹⁴ (1992), realizaram um estudo *in vitro* da resposta dos osteoblastos sobre superfícies de Titânio que apresentavam diferentes aspectos morfológicos. A superfície dos corpos de Titânio foi analisada através de um rugosímetro, verificando-se a lisura dessas superfícies, além da morfologia regular ou irregular que poderiam ser produzidas durante o processo de fabricação convencional. Elevados valores, na adesão das células, foram encontrados em superfícies que foram usadas jato de areia, apresentando superfícies ásperas e com morfologia irregular. Os resultados corroboraram com os achados *in vivo* e sugeriram que os implantes

poderiam ser preparados de maneira a apresentar uma superfície rugosa junto à área de contato com osso.

Bess et al.¹² (1999), propuseram-se a avaliar se as alterações nas propriedades da superfície de implantes de Titânio alteravam a adsorção proteica, a atividade celular óssea e a expressão fenotípica das células precursoras dos osteoblastos. Os autores tinham como objetivo específico estudar o efeito do tratamento por aquecimento das superfícies do titânio sobre a adsorção proteica e a resposta osteoblástica *in vitro*. Através da análise por difração de raios-X, analisaram as estruturas metalográficas do Titânio. Segundo eles, a técnica de esterilização por calor fez com que houvesse deposição de um óxido que levou à anodização, aumentando a energia superficial, interferindo na adesão celular. Os ângulos de contato da água nas superfícies de Titânio aquecidas foram estatisticamente mais baixos quando comparados com o grupo sem aquecimento, sugerindo que esse aquecimento, na superfície do biomaterial, levou a uma transformação estrutural. Frente aos resultados obtidos, os autores afirmaram que o Titânio é o material de escolha para implantes dentários por sua excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade, com capacidade de estabelecer íntimo contato com tecido ósseo. Finalizando, os autores concluíram que o sucesso clínico dos implantes dentais está, em parte, relacionado com as propriedades superficiais dos implantes, bem como suas interações com os tecidos vizinhos.

Vidigal Júnior et al.⁶⁵ (1999), analisaram a cicatrização do osso ao redor de quatro tipos de implantes dentais. Foram utilizados vinte implantes, com e sem revestimento de hidroxiapatita, variando de 3,5mm a 4,0mm de diâmetro e 8,0mm a 10mm de comprimento que foram, a seguir, inseridos na região proximal da tíbia de coelhos adultos. Todo material foi analisado através de histomorfometria computadorizada doze semanas após a implantação. A hidroxiapatita, recobrando a superfície do implante, mostra uma quantidade maior de formação óssea, principalmente nas áreas de contato direto, e maior quantidade de osso lamelar quando comparado com os implantes metálicos sem recobrimento. Os autores concluíram que existia uma

correlação significativa entre o aumento do percentual de tecido mineralizado nos implantes metálicos e densidade celular ao redor do implante, indicando menor quantidade de osso lamelar em contato com implantes metálicos.

Pimenta & Castro⁵⁶ (1999), usando discos de titânio puro com 2 mm de diâmetro, realizaram um tratamento químico das superfícies destes discos com utilização de soluções de ácido clorídrico e ácido fluorídrico em concentrações e períodos de exposições variados. Foi observado que é possível obter, com estes tratamentos químicos, grandes depressões na superfície como também pequenas rugosidades, dependendo do tempo de exposição e da concentração utilizada. As modificações superficiais dos discos seriam interessantes na implantologia, pois a porosidade aumenta a superfície de contato do implante com o osso, além da maior quantidade de rugosidade ter importante influência na fase inicial de fixação do implante ao osso, por facilitar a adesão de macromoléculas e células a essa superfície modificada.

Albrektsson¹ (2000), em revisão meta-analítica sobre a durabilidade do implante recoberto com hidroxiapatita, concordou com as pesquisas clínicas que mostraram que o revestimento do implante com hidroxiapatita não comprometia a permanência a longo prazo dos implantes dentais. Entretanto, discordou da afirmação de que a taxa de permanência do implante revestido com hidroxiapatita seria semelhante àquela observada em implantes de Titânio não revestidos. O autor ainda destacou como pontos importantes, falta de critérios e dados insuficientes apresentados em artigos recentes, comprometendo a validade dos mesmos.

Li et al.⁴¹ (2001) estudaram *in vitro* a influência da superfície dos implantes dentários de Titânio modificada com jato de areia, na região de integração com o tecido ósseo. Foi utilizado um modelo experimental tridimensional de cultura de osteoblastos em discos de Titânio. A interface entre os osteoblastos e os discos de Titânio foi observada em microscopia de luz, de contraste de fase e microscopia eletrônica, após um mês de cultivo celular. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre o grupo com superfície modificada por jato de areia e o grupo com superfície

lisa, em relação à capacidade de migração e adesão dos osteoblastos nos discos de Titânio. Somente foram observadas diferenças no padrão de adesão dos osteoblastos ao redor da superfície polida, que apresentou uma orientação paralela a essa superfície enquanto, ao redor da superfície modificada por jato de areia, os osteoblastos migraram e aderiram à superfície perpendicularmente. Outra grande diferença estava relacionada ao formato das células que revestiam a interface: formato fusiforme em superfície lisa, arredondadas e ovóides com um corpo celular grande e citoplasma abundante na superfície modificada por jato de areia. Além do mais, a observação em microscopia eletrônica por transmissão revelou uma secreção ativa de fibrilas de colágeno, um processo de mineralização mediada por vesículas de matriz de osso, e a formação de osteócitos no grupo da superfície modificada por jato de areia. Assim sendo, neste nível, *in vitro*, foi concluído que o tratamento da superfície modificada de implantes dentários por jato de areia pode facilitar a cicatrização do osso em sua interface óssea e permitir que a integração óssea por meio de adesão perpendicular das fibras ao osso se forme, ao invés da adaptação óssea tipo cápsula.

Sanz et al.⁵⁹ (2001), relatam a possibilidade de um novo tratamento de superfície de implantes de Titânio com partículas brutas de fosfato de cálcio. O tratamento oferece o benefício de tornar a superfície áspera pela abrasividade das partículas de composição familiar ao hospedeiro. O estudo foi realizado em tíbias de coelhos que foram removidas após 16 semanas e analisadas em microscopia eletrônica, a qual mostrou resultados de sucesso de osseointegração semelhantes aos descritos na literatura. Em microscópio de luz, pôde-se observar a perfeita justaposição óssea sobre a superfície áspera, comparável à observada em outras superfícies rugosas. Os autores relataram a vantagem do abrasivo de fosfato de cálcio ser inerte para o hospedeiro, além da possibilidade de poder ser reabsorvido pelo organismo.



2.8 Interface do implante com o osso

A maioria das pesquisas sobre implantes em humanos tem sido sobre observações clínicas e avaliação de biocompatibilidade de diferentes materiais. As propriedades físico-químicas e biológicas da zona de interface entre o implante e o tecido constituem uma larga e inexplorada área de pesquisa. Uma análise minuciosa dessa zona necessita de investigação com resolução em nível molecular. Quase todas as interações na interface, exceto as mecânicas, originam-se de forças físico-químicas de dimensões atômicas. O conhecimento da interface em nível molecular é um pré-requisito para o entendimento detalhado da estrutura e dinâmica das interações existentes entre um material inorgânico e um sistema biológico (Kasemo³⁶, 1983).

Linder et al⁴⁶ (1983) analisaram, em tíbias de coelhos, a interface entre o osso e implantes de Titânio, em microscopia eletrônica e verificaram que, após doze semanas, o titânio estava separado do colágeno vizinho por um espaço de 20-50nm (200-500 Å), podendo sua largura variar ao longo da interface. Técnicas histoquímicas indicaram presença de proteoglicanas nessa zona. Externamente a essa camada de substância fundamental havia uma camada de filamentos de colágeno aleatoriamente distribuída e com espessura de 100 a 500nm. Em torno dessa camada o colágeno está distribuído em feixes ordenados e alinhados. Depósitos de calcificação estavam presentes em cada uma das três camadas, porém em menor quantidade à medida que se aproximava da interface. Na camada de colágeno ordenado, a densidade era aproximadamente a mesma do osso tibial próximo a essa interface; na camada de filamentos de colágeno, aleatoriamente distribuída, havia uma queda gradual de densidade e, na camada de substância fundamental, havia apenas depósitos calcificados espalhados, sendo que alguns desses pareciam estar em contato direto com a superfície do Titânio. Algumas vezes, osteoblastos rodeavam a superfície do

Titânio, mas a camada de proteoglicanas estava sempre presente. Na porção medular havia, ocasionalmente, macrófagos na interface, mas essas células tinham a aparência de macrófagos de tecido mole normal, sem sinais de atividade de reabsorção. As células sanguíneas na vizinhança do titânio tinham aparência normal. Os autores concluíram que uma superfície de Titânio macroscopicamente lisa pode levar à reparação óssea sem interposição de tecido mole.

Um estudo elaborado por Hansson et al.³¹ (1983), analisou os aspectos estruturais da interface entre o osso e o Titânio em implantes que estavam em função por um período de seis meses a sete anos, com sucesso clínico, mas foram removidos por razões psiquiátricas ou por fraturas do metal. Para a análise utilizaram espécimes descalcificados e não descalcificados. A matriz óssea desmineralizada foi analisada por microscopia de luz e eletrônica. Na análise por microscopia de luz dos cortes não descalcificados, observaram um íntimo contato entre o Titânio e o tecido adjacente. Sistemas de Harvers foram regularmente achados nos dois terços superficiais dos processos ósseos que cresceram para o interior das roscas dos parafusos. Várias lamelas ósseas concêntricas e com linhas de formação paralelas foram observadas. Vasos sanguíneos, ocasionalmente, foram observados em íntimo contato com a superfície do metal. Não houve evidência de formação de cápsula de tecido conjuntivo e nem mesmo de fibroblastos, macrófagos ou células inflamatórias interpostas entre osso e metal. Os autores interpretaram esses achados como característica de vitalidade do osso ao redor do implante que se mostrou ativamente remodelado, de acordo com as forças de estresse aplicadas. Na análise por microscopia eletrônica de varredura do tecido não descalcificado, puderam observar sistemas de Harvers formados por camadas lamelares de fibras colágenas. Osteócitos estavam, às vezes, próximos à superfície do metal. Em maior aumento, a interface mostrou organização regular com feixes de colágeno perpendiculares à interface. Esses filamentos não alcançavam a superfície de óxidos, mas apenas se aproximavam dela, pois havia uma camada de 20nm de espessura de substância fundamental interposta. A forte

adesão do tecido ósseo ao Titânio foi confirmada pela observação de que as fraturas na região da interface, usualmente, aconteciam no tecido ósseo e raramente na interface. Já nas partes mais profundas, onde o implante estava em contato com o osso medular, havia a mesma interconexão entre metal e tecido ósseo, embora grandes áreas do metal estivessem cobertas por fibroblastos, macrófagos e células da medula óssea. Células inflamatórias, com raras exceções, não foram encontradas no tecido ósseo compacto e medular.

Os padrões microscópicos dos fenômenos biológicos envolvidos na interface entre o implante e os tecidos foram descritos por Albrektsson et al.⁶³ (1983). Segundo esses autores, em tecido gengival existem estruturas semelhantes aos hemidesmossomos que ancoram as células epiteliais à superfície do implante. Subgengivalmente, o tecido conjuntivo apresenta fibroblastos que emitem seus processos citoplasmáticos para a superfície de óxidos de titânio mas, na realidade, esses prolongamentos são separados da superfície por uma fina camada de proteoglicanas. A interface analisada, em osso cortical, contém osteócitos com numerosos prolongamentos alcançando a superfície de óxidos, sendo que essas células ósseas estão envolvidas por uma malha de colágeno. Existia íntimo contato entre a substância fundamental do tecido e a camada de óxidos de titânio. A interface em osso medular continha fibroblastos e osteoblastos emitindo seus prolongamentos até a superfície de óxidos. Trabéculas ósseas podiam ser observadas em íntimo contato com a superfície do implante, além disso, existiam vasos sanguíneos nas proximidades da interface.

Satomi et al.⁶¹ (1988), analisaram implantes colocados em orifício ligeiramente mais largo e com pouca estabilidade inicial de fixação. Após três meses, observaram que, na interface entre o implante e o osso, formaram-se áreas de tecido conjuntivo fibroso. Nos casos onde os implantes foram colocados em orifícios semelhantes aos diâmetros dos implantes, havia a formação de osso em contato direto com a superfície do metal. Os resultados mostraram evidências de osseointegração em todas amostras, mesmo com o

espaço deixado. Pequenas áreas de tecido conjuntivo foram observadas, mas o contato direto do osso foi observado na maior parte da superfície do implante. Os autores concluíram que os achados foram decorrentes da estabilidade oferecida pela cabeça do implante, além das características do material, desenho e tipo de superfície do implante.

2.9 Fatores importantes para o sucesso da implantação

2.9.1 Esterilização

Carlsson et al.¹⁹ (1989), relataram um estudo com 84 implantes de titânio comercialmente puro, os quais foram divididos em dois grupos. Um tratado com uma descarga de plasma de alta energia sobre o implante e o outro, esterilizado de forma convencional. Ambos foram implantados em tíbia e fêmur de coelhos. Os implantes foram removidos após 6 semanas, sendo a força necessária para a remoção analisada por meio de torquímetro e os locais de implantação analisados histologicamente. O estudo não encontrou diferenças qualitativas e quantitativas nos diferentes métodos de esterilização. Assim, autores mostraram que o tratamento convencional da superfície do implante leva a uma cicatrização e valores de torque semelhantes àqueles observados nos implantes esterilizados com descarga de plasma de alta energia, viabilizando mais uma metodologia a ser utilizada.

Baier & Meyer⁰⁸ (1988), estudaram o processo de eliminação dos contaminantes da superfície dos implantes. Relataram que, provavelmente, a fonte mais comum de depósito de contaminantes superficiais, orgânicos e inorgânicos, seja proveniente dos processos de esterilização empregados. Os autores relataram ainda que, dependendo da superfície do implante, a densidade e a natureza da nova camada de contaminante podem variar e que uma superfície perfeitamente limpa

apresenta alta energia superficial por demonstrar ligações químicas não-saturadas na superfície.

Cain et al.¹⁸ (2000), realizaram um estudo sobre a esterilização dos instrumentos e componentes dos implantes passíveis de reutilização, passo essencial para prevenir contaminação cruzada entre os pacientes, além de reduzir o custo final do tratamento. Os componentes de implantes dentais reutilizáveis foram colocados em vinte tubos de ensaio, junto com uma tira de teste biológico contendo duas cepas de esporos bacterianos (*Bacillus stearothermophilus* e *B subtilis*). A seguir, foram vedados com rolha de algodão e colocados dentro da autoclave, em locais e com orientações diferentes. O estudo mostrou que as tiras de testes biológicos mostraram cem por cento na eficácia do processo de esterilização, demonstrando a viabilidade dessa metodologia. Os autores concluíram que esse método pode ser aplicado na esterilização de materiais dentários reutilizáveis. Observaram também que a orientação e a localização, no interior da autoclave, não é fator preponderante no processo de esterilização.

2.9.2 Procedimento cirúrgico

Eriksson & Adell²³ (1986), mediram a temperatura gerada durante a perfuração do osso para colocação de implantes em cinco mandíbulas de pacientes edêntulo. A temperatura média mais alta encontrada durante as perfurações foi de 30,3°C e a temperatura mais elevada observada foi de 33,8°C. Assim, esse estudo observou que todas as temperaturas medidas estavam abaixo daquela temperatura limite de 47°C, capaz de levar ao dano ao osso, observada por Eriksson & Albrektsson²⁴ em 1983. Os autores concluíram que as perfurações realizadas para fixação de implantes não prejudicaram a reparação óssea, mas a ação da perfuração por tempo prolongado, a pressão empregada e a profundidade penetrada podem gerar um calor excessivo no osso cortical, que é pouco vascularizado. Os mesmos autores realizaram ainda outro experimento com câmara de microscopia vital

em tibia de coelhos, avaliaram a resposta do tecido ósseo frente a traumas térmicos. Os animais foram divididos em três grupos: o primeiro foi submetido a uma temperatura de 50°C por um minuto; o segundo, 47°C por 5 minutos e o terceiro, 47°C pelo tempo de um minuto. Observaram que houve reabsorção óssea e substituição do tecido por células adiposas, dentro do primeiro e segundo grupos. Os resultados mostraram que a temperatura de 47°C, talvez pudesse ser o limite para o início de danos ao tecido ósseo da tibia de coelhos. Assim, os autores afirmaram que, em uma situação clínica onde os implantes foram submetidos à temperaturas elevadas, levariam à formação de tecido conjuntivo ao redor do implante, não ocorrendo, desta maneira, a osseointegração.

Sisk et al.⁶³ (1992), afirmaram que a osseointegração inicial parece não depender tanto do desenho e sim do fato do implante estar submerso, mas depende mais da biocompatibilidade desse material e da técnica cirúrgica atraumática. Para isso avaliaram em cães, seis marcas comerciais de implantes que foram colocados em mandíbulas. Num total de vinte e quatro implantes, doze foram examinados por microscopia ótica e a outra metade por microscopia eletrônica, após cinco meses de implantação. Com exceção de um implante, todos os outros apresentaram aposição do osso neoformado. Esses implantes estavam clínica, radiográfica e histologicamente osseointegrados. As análises em microscopia ótica e eletrônica indicaram que o processo de osseointegração inicial é semelhante em todos os tipos estudados. Alguns dos modelos estudados nessa pesquisa apresentavam extensão transmucosa, porém sem contato com os dentes da maxila, embora houvesse estresse funcional devido às forças da língua, pressão do lábio e contato do bolo alimentar durante a mastigação do animal.

Carvalho et al.²⁰ (1994), avaliaram a ação das brocas para implantes com e sem irrigação externa. Os autores observaram as alterações histológicas ocorridas, logo após a ação das brocas nas perfurações. Os resultados mostraram que na remodelação das cavidades cirúrgicas, sem irrigação externa, ocorre um quadro sugestivo de osteonecrose superficial com

presença de esquirolas ósseas. No outro preparo, observou-se que, com a irrigação externa, as esquirolas ósseas eram removidas propiciando um corte mais regular e homogêneo, mostrando ser o método mais adequado.

Boioli et al.¹³ (2001), fizeram um acompanhamento quantitativo da osseointegração e da evolução de implantes orais de Titânio submerso cujo procedimento cirúrgico é realizado em duas fases; e o não submerso, onde o procedimento cirúrgico é realizado em uma fase única. Concluíram que a característica do desenho e o tipo de superfície parecem ser mais importantes que o método de colocação quando se avalia o implante em função. Os autores concordaram que a principal causa de falha na osseointegração, em ambas categorias, é a falta de estabilidade do implante na sua fase inicial, sendo portanto fator essencial para o sucesso do tratamento.

2.9.3 Corrosão do implante

Willians⁶⁷ (1981) relatou que alguns aspectos devem ser considerados quando um implante é colocado junto ao corpo humano, como a atuação do material frente ao meio a que foi exposto, quando em função e uma possível ação tóxica dos elementos que compõem o material, frente a uma degradação, em relação aos tecidos periimplantares e o hospedeiro como um todo. A ação química dos fluidos corpóreos envolve não apenas reações químicas de trocas iônicas de oxidação e redução mas também as das interações com um grande número de substâncias presentes no organismo. Essas substâncias atuam em um nível determinado de complexidade química, produzindo a extração seletiva de íons e o desequilíbrio físico-químico do material, levando a sua instabilidade e, conseqüentemente, a um processo de degradação. As interações ocorrem quando o material entra em contato com os fluidos orgânicos e o tecido, que são química e biologicamente ativos e o material fica exposto a esta condição por um longo período.

Geis-Gerstorfer & Weber²⁷(1988) relataram que para os materiais de implante preencherem adequadamente os requisitos de suas funções no organismo humano por um longo período de tempo, devem ser bem tolerados biologicamente pelo organismo evitando, assim, a destruição do tecido em torno do implante. O comportamento dos materiais para implante eram caracterizados pelo tipo e extensão dos processos de corrosão que neles ocorrem. Para analisar a corrosão *in vitro*, foram necessários testes capazes de produzir aspectos clínicos. Assim, as soluções eletrolíticas que são naturalmente encontradas nos fluidos corpóreos (sangue, plasma e saliva) requerem uma atenção especial.

Covington²¹ (1993) em estudos da resistência à corrosão do titânio, relatou que é um dos materiais mais utilizados na engenharia de componentes, podendo ser empregado em presença de uma larga faixa de soluções e em diferentes temperaturas, sem levar a sua dissolução. Explicou ainda que a resistência de corrosão do titânio está relacionado, com a fina camada de óxido (TiO_2) que se forma na superfície, apresentando alta integridade física e boa tenacidade. Essa camada é metalurgicamente estável e sua formação ocorre igualmente por toda superfície do metal, independente da composição e das diferenças microestruturais. Embora em algumas situações em uso o Titânio possa perder esta propriedade frente a ação agressiva de ambientes oxidantes e/ou condições redutoras, na presença de fluoretos, com a adição de inibidores, o filme rapidamente recupera sua integridade, tornando-se estável novamente.

Eliades²² (1997) discutiu o papel da reação dos derivados de oxigênio (peróxido de hidrogênio, radicais de hidrogênio e oxigênio livre) sobre a precipitação de complexos orgânicos e inorgânicos sobre a superfície de implantes de ligas de titânio. Evidências de estudos relevantes sugerem que os subprodutos locais do microambiente e fatores associados com a resposta inflamatória resultante da agressão tecidual induzida pelo implante, aumentam a formação de óxidos na superfície do material. Os modelos propostos para interpretar esses fenômenos são freqüentemente contraditórios, demonstrando

que o aumento interno e externo da espessura de filme passivo formado por óxidos, apresentam níveis crescentes ou autolimitantes em função do tempo. Contudo, as observações de experimentos *in vivo* eram consistentes com aumento da espessura dos complexos precipitados na superfície do implante, induzido pela vida útil do material.

2.9.4 Periimplantite

Becker et al.¹⁰ (1990), estudaram aspectos clínicos e microbiológicos que contribuiriam para a falha do implante dental. Foram feitas análises clínicas e, por meio de sonda, foram avaliados os insucessos de 36 implantes observados em treze pacientes. Os autores utilizaram como critério de insucesso do implante: (a) desconforto durante a mastigação; (b) mobilidade do implante; (c) evidência clínica de perda óssea adjacente ao implante e gengivite intensa na região. Através de exame clínico encontraram evidência de mobilidade aumentada, além de uma alta incidência de radioluscência nas áreas que circundam os implantes. Em 58% dos locais mensurados, a profundidade de sondagem ultrapassou 6mm. Os autores concluíram que a mobilidade do implante associada a áreas de radioluscência era um indicador primário da falha do implante. Além disso, os autores consideraram que a presença de bolsa profunda em conjunto com bactérias patogênicas era um importante fator secundário que contribuí para a perda do implante.

Sanz et al.⁶⁰ (1990) estudaram a microbiota associada com implantes orais endosteais com revestimento cerâmico, usando método de cultura. Os autores analisaram sítios saudáveis e doentes, tanto no grupo com implantes dentários como no grupo controle, de dentes normalmente implantados. Sítios doentes abrigavam uma microbiota com grande quantidade e proporção aumentada de microorganismos bastonetes gram negativos anaeróbicos. Em amostras de pacientes com sítios saudáveis havia pequena quantidade de bactérias facultativas que eram predominantemente gram

positivas, com formato de cocos ou bastonetes. Os sítios do grupo controle e do implante são muito similares, sugerindo que os tecidos periimplantados comportam-se de maneira muito semelhante ao tecido periodontal e que as lesões periimplantes podem ser consideradas sítios específicos de infecções, alojando um grande número de patógenos periodontais, principalmente bastonetes anaeróbios gram negativos.

Jansen et al.³⁴ (1997), afirmaram que o sistema de implante em dois estágios poderia resultar em espaços entre o implante e o seu intermediário, onde era fixada a peça protética, que agiria como um retentor para as bactérias e, possivelmente, causaria reações inflamatórias em tecido mole, ou seja, periimplantite. O objetivo do estudo foi determinar a ocorrência de infiltração microbiana na interface intermediário-implante. Para tanto, foram realizadas treze diferentes combinações implante-intermediário em um experimento *in vitro*, no qual a penetração da bactéria *Escherichia coli* foi observada em dez deles. Todos os implantes analisados apresentaram infiltração microbiana. Os autores concluíram, então, que o sistema atual de implante não previne seguramente a infiltração microbiana e a colonização bacteriana e que eram necessárias modificações para selar a área de contato implante-intermediário. Um início promissor é a aplicação de silicone no intermediário, o qual reduz claramente a infiltração quando comparado com o intermediário controle, funcionando como um material de vedação.

Augthun & Conrads⁰⁷ (1997) examinaram o tecido inflamatório localizado em bolsas ósseas profundas (>5 mm) nas periimplantites causadas pela colonização de bactérias anaeróbicas. Nesse estudo foram utilizados doze pacientes edêntulos que apresentaram insucesso na fixação dos implantes dentários. Após a abertura cirúrgica desses defeitos, o tecido em contato com o implante foi raspado com lâmina de vidro, colocado em solução nutriente e, a seguir, aliquotas dessa suspensão foram semeadas e incubadas em meio de cultura apropriada. Os mesmos autores destacaram ainda que técnicas cirúrgicas incorretas, excesso de estresse funcional e inflamação pela presença de placa nos tecidos são considerados os principais fatores

etiológicos nas periimplantites progressivas levando à perda óssea. O tecido inflamado nas bolsas demonstrou uma predominância de espécies gram negativas. A importância etiológica das bactérias anaeróbias facultativas e das bactérias anaeróbicas obrigatórias deve ser considerada quando se procura uma terapia antibacteriana, principalmente quando não é possível determinar completamente as espécies nas lesões de periimplantites através de métodos microbiológicos.

Grobner-Schreiber et al.²⁸ (2001) observaram que a adesão bacteriana na superfície dos implantes de Titânio tinha uma forte influência na cicatrização e nos resultados, a longo prazo, dos implantes dentais. Parâmetros como rugosidade e composição química da superfície do implante têm um impacto significativo na formação da placa. Neste estudo, os autores avaliaram a influência das superfícies fisicamente duras na adesão bacteriana, utilizando cepas da microbiota bucal, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguis*. A partir de discos de Titânio comercialmente puro, quatro tratamentos foram realizados na superfície: deposição física de vapor, com nitreto de titânio ou de Zircônio; oxidação térmica; modificação com radiação LASER e a superfície polida, como controle. As medições dos ângulos de contato, do líquido com a superfície, não mostraram diferenças significativas entre os discos tratados. As rugosidades das superfícies examinadas variaram de 0,4 a 1,00 μ m. Os autores concluíram que as modificações físicas nas superfícies dos implantes com o nitreto de Titânio e o nitreto de Zircônio reduziram a aderência bacteriana e, assim, poderiam melhorar os resultados clínicos.

2.9.5 Biomecânica

Albrektsson et al.³ (1983), afirmaram em seu trabalho que a osseointegração era mais facilmente obtida através de implantes cilíndricos com roscas externas, devido a este formato apresentar maior área de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante, além de proporcionar estabilidade após a colocação do implante.

Brunski¹⁶ em 1988, relatou que o biomaterial e a biomecânica deveriam ser analisados conjuntamente de maneira a facilitar a elaboração do formato durante a confecção do implante dental. Eles representam dois dos problemas em torno da elaboração do projeto do implante. Qualquer modelo de implante pode ser construído a partir de um biomaterial, mas a atuação destes implantes junto ao tecido vivo, deveria ser melhor compreendida. Assim, o autor disse que a biomecânica e biomaterial de escolha eram uma parte do problema na seleção do formato do implante. Com relação à biomecânica deve-se considerar a aplicação de forças estáticas e dinâmicas sobre o material e análise de estresse, quanto ao biomaterial, a relação do material implantado com o seu receptor e vice-versa. Nenhum implante dental deveria ser negligenciado em relação ao material de escolha e o seu formato, por ser exposto a forças e momentos, quando em função na boca. O implante pode ser fixado nos maxilares por métodos variados, quando este respeitar os princípios relacionados ao biomaterial e à biomecânica levando, conseqüentemente, à elaboração do formato adequado desse implante. O autor concluiu que o implante transmite uma carga para os tecidos em torno dele e quando ela é bem tolerada não se observou resposta tecidual adversa; o problema está, portanto, na seleção do material, no projeto do implante e nas suas exigências funcionais.

Brunski¹⁷ em 1988, afirmou que os princípios biomecânicos eram importantes para o desenho do implante, por serem elaborados para restabelecer a função mastigatória e apresentar durabilidade e, assim, obter o sucesso clínico. A falta de maiores esclarecimentos sobre a distribuição de cargas em implantes *in vivo*, estresse na interface implante/osso e a resposta do tecido ao estresse podem ser os responsáveis pelos inúmeros formatos de implantes. Concluíram que estudos devem ser realizados para medir as forças mastigatórias de próteses implanto-suportadas em humanos e animais, além de analisá-las em nível histológico para entender melhor os mecanismos biomecânicos.

O processo de osseointegração foi estudado por Roberts⁵⁷ (1988), que observou através de microradiografia de alta resolução que implantes com sucesso clínico apresentavam menos da metade da interface intraóssea em contato direto com o osso. Nesse trabalho, o autor também sugere, através da extrapolação de dados de pesquisa experimental, que implantes endósseos podem receber cargas provisoriamente após dezoito semanas, mas a completa maturação da interface ocorrerá após um ano.

Em um estudo experimental com cães, foi comparada a resposta clínica e histológica de implantes de Titânio comercialmente puro e implantes de Titânio cobertos com hidroxiapatita. Para tanto, Kohri et al.³⁷ (1990) analisaram implantes com e sem carga funcional. Clinicamente, observaram que não houve diferenças entre eles quanto ao grau de inflamação gengival e profundidade de sulco, embora fosse notada movimentação. Histologicamente, os dois tipos de implantes mostraram crescimento ósseo para o interior de suas superfícies, independente de suportar carga funcional ou não. A análise em microscopia eletrônica mostrou que a interface do implante coberto com hidroxiapatita e o osso não apresentavam espaços, enquanto que lacunas foram observadas em todas as interfaces entre implantes de Titânio e osso. Clinicamente, os dois tipos de superfície tiveram comportamento semelhante e a análise histomorfométrica mostrou que não houve diferença significativa na formação do tecido ósseo na interface implante-osso.

Meffert et al.⁴⁸ (1992) afirmaram que as pesquisas não comprovaram que um determinado formato de implante fosse melhor ou não para determinadas regiões dos ossos maxilares, mas que existia uma recomendação do FDA (Food and Drug Administration, USA) sobre o uso de implantes em forma de parafuso na região anterior da mandíbula, com elevado índice de sucesso.

Askary et al.⁰⁶ (1999) mostraram em seus estudos que as principais falhas dos implantes estavam relacionadas com a perda e/ou fratura do parafuso de conexão, sangramento gengival e edema tecidual, exsudato

purulento com presença de bolsas profundas, reabsorção óssea angular observada radiograficamente, fratura do componente protético, infecção e necrose tecidual durante o período de cicatrização.

Askary et al.⁰⁵ (1999), num estudo retrospectivo com seguimento de dez anos, observaram que os sucessos clínicos apresentaram ligeiro aumento, passando de 81% para 85% na maxila e de 98% para 99% na mandíbula. Os autores acreditavam que este fato estava relacionado a um melhor conhecimento dos mecanismos envolvidos na resposta óssea bem como a uma melhor distribuição das cargas aplicadas sobre as estruturas ósseas. Segundo eles, os primeiros fatores que levavam à falha na permanência dos implantes eram: pouca densidade óssea; distribuição inadequada de forças; oclusão traumática e higiene oral deficiente.

3 PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi avaliar, por meio de análise histológica de material descalcificado e não descalcificado, a reação do tecido ósseo à colocação de implantes confeccionados com a liga Ti-6Al-7Nb ou com a liga de Titânio de grau 2, em tibia de coelho.

4 MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi realizado conforme os princípios de experimentos em animais, certificado pelo Comitê de Ética desta Faculdade, sob o protocolo número 027/2000-PA/CEP (Anexo A). Neste trabalho foram utilizados 24 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, com idade variando de seis a oito meses e peso corpóreo médio de 3.500g, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e alimentados com ração comercial (Coelhil R – Socil) e água *ad libitum*.

4.1 Obtenção das ligas de titânio e usinagem

As ligas de Titânio foram obtidas por metalurgia do pó e os cilindros de 6mm de comprimento e diâmetro de 4mm foram usinados conforme o projeto do desenho que foi elaborado para esta pesquisa, as dimensões projetadas visam facilitar a implantação e análise do material em tibia de coelhos. As etapas de desenvolvimento desta pesquisa serão descritas a seguir.

O presente trabalho utilizou dois tipos de liga de Titânio: titânio comercialmente puro e a liga Ti-6Al-7Nb. Para cada corpo-de-prova os componentes da liga foram pesados em balança analítica digital (Figura 1a) e misturados individualmente, ou seja, cada corpo-de-prova foi obtido separadamente.

Os pós homogeneizados foram compactados por prensagem uniaxial (Figura 1d), prensa manual (Mohr & Fererhaff A.G.-Alemanha), sob pressão de 30MPa em matriz metálica cilíndrica de 4mm

de diâmetro, com camisa flutuante (Figuras 1b e 1c). A matriz foi confeccionada em aço D6, endurecido por têmpera, para que tivesse dureza de serviço de 60RC. Para cada prensagem a matriz foi limpa e lubrificada com estearina, visando reduzir o atrito e facilitar a retirada dos cilindros.

Após a prensagem uniaxial os cilindros de 6mm de comprimento e 4mm de diâmetro foram encapsulados sob vácuo, em grupos de cinco cilindros, em camisas de látex. O conjunto foi colocado dentro da prensa isostática (Paul Weber-Alemanha), com capacidade de 100 toneladas e velocidade de aplicação de 15MPa/s, sendo utilizada no experimento 150 MPa por 30 segundos (Figura 1e).

As amostras foram então sinterizadas em forno vertical (Thermal Technology-EUA), com elemento resistivo de grafite, câmara de 1,5 litros e acoplada a uma bomba difusora de vácuo (Figura 1f). As amostras foram conduzidas para o interior do forno em cadinhos de titânio, e mantidas sob vácuo de 10^{-5} torr, com taxa de aquecimento de 20°C/min até a temperatura de 1500°C, permanência de 1 hora.

Após o término do processo de sinterização os cilindros de titânio de grau 2 (comercialmente puro) e da liga Ti-6Al-7Nb foram encaminhados para a empresa Fautec-metrologia/usinagem (Figura 1g), juntamente com o projeto do desenho elaborado do implante (Anexo B).

Após a usinagem os implantes passaram por um controle de qualidade manual e visual e os inviáveis para a pesquisa foram descartados. Assim, foram usados 48 implantes de titânio grau 2 e 48 implantes da liga Ti-6Al-7Nb.

4.2 Limpeza e acondicionamento

Os implantes foram então limpos, primeiramente com escova e detergente neutro, e enxaguados em água destilada. Para uma limpeza mais criteriosa foi utilizado um Becker contendo 20mL de água destilada com 10% de detergente neutro, e aplicação de ultra-som por 10 minutos (Figura 1h). Logo após os implantes foram colocados em um novo Becker contendo 50ml de água destilada e ficaram sob a ação do ultra-som por 10 minutos, para remover os resíduos de detergente. Em seguida, os mesmos foram limpos em um banho com etanol a 99% em ultra-som por 10 minutos. Os implantes foram então colocados em placas de Petri, embalados e submetidos à esterilização em estufa a 170°C por 1 hora.

4.3 Cirurgia de implantação e remoção

Para realização das cirurgias todo material cirúrgico envolvido foi esterilizado, a sala operatória foi desinfetada borrifando-se álcool à 70% sobre as superfícies e passando um papel descartável, em um único sentido, e borrifando novamente as superfícies e deixando agir por 10 minutos, e paramentação estéril. Os procedimentos de fixação dos implantes foram semelhantes para todas as implantações.

Minutos antes da implantação os animais foram pesados e anestesiados, por via intramuscular, com o sedativo, analgésico e relaxante muscular Rompum (Bayer) e o anestésico geral Francotar (Virbac), na proporção de 0,25mL e 0,35mL, respectivamente, por quilo corpóreo do animal, e quando necessário, foi utilizado o anestésico local Citaneste a 3%^R (Merrel Lepetit). Ambas as tíbias direita e esquerda do animal foram submetidas à tricotomia da região a ser operada e sofreram a ação antiséptica de uma solução de álcool iodado. O animal foi então

coberto com um campo cirúrgico fenestrado, expondo somente a região a ser operada.

Com uma lâmina de bisturi número 15 (Figura 2b) fez-se uma incisão de aproximadamente 4cm na região correspondente à face medial da tíbia em seu terço proximal, expondo o tecido subcutâneo do animal. O tecido muscular subjacente foi então divulsionado com um tesoura de ponta romba, expondo o periósteo, que foi incisado com lâmina de bisturi número 15 (Figura 2c).

Utilizando-se de um motor portátil Minimite (Figura 2a), modelo 750 (DREMEL) fez-se a primeira perfuração com uma broca em formato de lança, com 1,8mm de diâmetro, que tem a função de guia, e a perfuração subsequente com uma broca cilíndrica de 2,0mm de diâmetro. Foram preparados dois leitões em cada tíbia, equidistantes aproximadamente 4 cm um do outro, evitando-se assim a interferência de cicatrização, entre as implantações, da mesma tíbia (Figura 2f). Para evitar o aquecimento decorrente do atrito da broca com o osso, manteve-se uma irrigação abundante com Cloreto de Sódio a 0,9%, durante todo o preparo das lojas ósseas.

Após o preparo, as lojas ósseas foram irrigadas com a mesma solução, com o objetivo de remover as esquirolas ósseas que pudessem interferir na adaptação do implante.

Em seguida o implante foi retirado do seu invólucro com uma pinça estéril e posicionado junto ao orifício (Figura 2d), sendo rosqueado com uma chave estéril, até que a rosca desse o aperto final, fixando o implante junto à cortical óssea (Figura 2e). Como padronização, escolheu-se a tíbia direita como local de implantação do titânio de grau 2, grupo controle, e na tíbia esquerda a liga Ti-6Al-7Nb.

A ferida foi novamente irrigada e inspecionada, o periósteo foi aproximado e o tecido muscular foi suturado com fio de sutura reabsorvível. A pele foi suturada com fio de sutura mononylon 4-0, e as áreas foram submetidas novamente à limpeza e anti-sepsia com

solução tópica de álcool iodado (Figura 2g). Os animais foram colocados em gaiolas individuais com ração e água, e foram monitorados até o dia do sacrifício.

Os animais foram sacrificados 21, 42 e 84 dias após a implantação (Quadro 1). A tíbia foi removida, os implantes foram testados quanto à sua integração através de uma pinça clínica, tendo se mostrado fixos e estáveis (Figura 2h). Os espécimes foram então colocados em solução de formol a 10% pelo período mínimo de 24 horas. Após este período a tíbia foi aparada, removendo-se as estruturas musculares sobre a região do implante, e o osso foi seccionado com uma serra de mão, preservando-se apenas o segmento com o implante, o qual foi colocado novamente no formol a 10%.

Quadro 1 – Períodos, em dias, de implantação das ligas de Ti-6Al-7Nb e titânio de grau 2 e número de coelhos usados.

	21 dias		42 dias		84 dias	
Ti grau 2	8 coelhos	16 cps	8 coelhos	16 cps	8 coelhos	16 cps
Ti-6Al-7Nb		16 cps		16 cps		16 cps

Cps: corpos-de-prova

Ti grau 2: liga de titânio de grau dois

Ti-6Al-7Nb: liga contendo Titânio, Alumínio e Nióbio

4.4 Preparo histológico

4.4.1 Sem descalcificação

Para o preparo histológico, foi desenvolvida uma metodologia simples e de custo baixo, para facilitar a obtenção de lâminas histológicas por desgaste. Assim, a metodologia descrita a seguir foi desenvolvida pela necessidade da análise do tecido ósseo e sua interface com o material implantado.

Após a fixação o tecido ósseo contendo o corpo-de-prova, foi aparado, deixando um plano paralelo ao longo eixo do implante. A peça foi então submetida a concentrações crescentes de álcool(60%, 70%, 80%, 90% e 100%), para desidratação.

O tecido ósseo contendo o material implantado foi então embebido em uma solução de 20% de monômero de metil-metacrilato com 80% de resina poliéster orto cristal T 208 e deixado em agitador magnético por 10 minutos, logo após foram realizadas as inclusões propriamente ditas, com a mesma resina poliéster e 1% de catalisador (Figura 3a). A peça preparada foi colocada em um molde de silicone com perfil sextavado de meia polegada, a fim de facilitar a fixação para o corte. O material obtido na inclusão foi preso em morsa do aparelho de corte Labcut 1010 (EXTEC), sendo utilizado para o corte disco diamantado de 3 polegadas (Figura 3b). Para cada inclusão obteve-se no mínimo quatro cortes, que variavam em espessuras de 40 a 60 micrometros (Figura 3c).

Os cortes obtidos, conforme o corpo-de-prova, foram então incluídos novamente em moldes com 75x25mm e 4,0mm de profundidade e, após a polimerização, cada corte foi separado dos demais (Figura 3d). Assim, os cortes apresentavam espessura de resina suficiente para apreensão durante a etapa de desgaste. O desgaste foi realizado na polítriz Labpol 8-12 (EXTEC), usando seqüência crescente de lixas d'água (400, 600 e 1200), e manteve-se sempre um plano uniforme (Figura 3e). Todos os cortes foram observados, no decorrer do desgaste, em microscópio de luz para verificação da espessura, este método visual buscou a mínima espessura; com o máximo de detalhes na interface entre o implante e o tecido calcificado formado. O material foi então corado com azul de toluidina e observado em microscópio de luz (Figura 3f).

4.4.1.1. Análise quantitativa de neoformação óssea

Para análise quantitativa do tecido ósseo neoformado entre as roscas do implante, as imagens de cada campo foram selecionadas em um microscópio de luz Zeiss Axiophot 2 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) com ocular de 10x e objetivas planapo de 10x, 20x e 40x, sob um foco fixo e clareza de campo.

As imagens foram digitalizadas por câmera de vídeo CCD-JVC modelo TK8-70U, acoplada ao microscópio e avaliadas em um monitor de TV SONY TRINITRON RGB. As imagens foram adquiridas através de placa de vídeo e transferidas para um microcomputador Pentium III 200MHz. As imagens gravadas em arquivos JPEG foram enviadas para um computador i-Mac (Apple Co., Cupertino, CA, USA) de 450 MHz para análise morfométrica das estruturas selecionadas. O programa de imagem utilizado foi o *NIH image-J* (versão Macintosh), de domínio público, desenvolvido por Wayne Rasband, do Instituto de Saúde Mental, NIH – Bethesda, USA.

Inicialmente, foram subtraídas as imagens dos implantes, deixando-se apenas o tecido ósseo de interesse. As áreas de neoformação óssea entre os filetes de rosca foram recortadas e agrupadas, e o cálculo dessas regiões expressos em *pixels*. A seguir, foram excluídos os espaços sem formação de matriz óssea, e dessa maneira obteve-se a área de tecido ósseo neoformado em *pixels* e em porcentagem relativa a área total.

Os dados finais foram tabulados e submetidos à análise estatística, através do programa *Minitab 12.3* (Minitab Inc, USA), pelos testes ANOVA e Tukey. O nível de significância foi estabelecido em .05%

4.4.2 Com descalcificação

Após a fixação, os fragmentos foram lavados em água corrente e colocados em solução contendo 40% de formol a 10% e 60%

de ácido fórmico, durante um período que variou de vinte a trinta dias, conforme o conteúdo a ser descalcificado em cada peça. Após a descalcificação, cada fragmento foi lavado abundantemente em água corrente removendo assim toda solução ácida. O tecido foi então submetido a concentrações crescentes de alcoois (60%, 70%, 80%, 90% e 100%), para desidratação das peças, em seguida foi diafanizado em xilol.

Após o processo de diafanização, os corpos-de-prova rosqueados foram removidos, com uma chave de fenda, e as peças foram incluídas em parafina para serem cortadas em micrótomo. Os cortes foram realizados mantendo o longo eixo do corpo-de-prova paralelo à superfície do bloco. Foram realizados cortes semi-seriados em espessura aproximada de 6 micrometros (μm) e corados por hematoxilina e eosina. A observação foi feita em microscópico de luz.



FIGURA 1 – Aparelhos utilizados na obtenção dos implantes metálicos. a) balança analítica digital utilizada para pesagem dos pós metálicos. b) matriz com camisa flutuante desmontada para compactação dos pós. c) matriz montada. d) prensa hidráulica vertical usada na primeira prensagem. e) prensa isostática utilizada para prensagem final. f) forno de sinterização com atmosfera controlada. g) pinos obtidos e parafusos usinados. h) ultra-som utilizado na limpeza dos implantes.

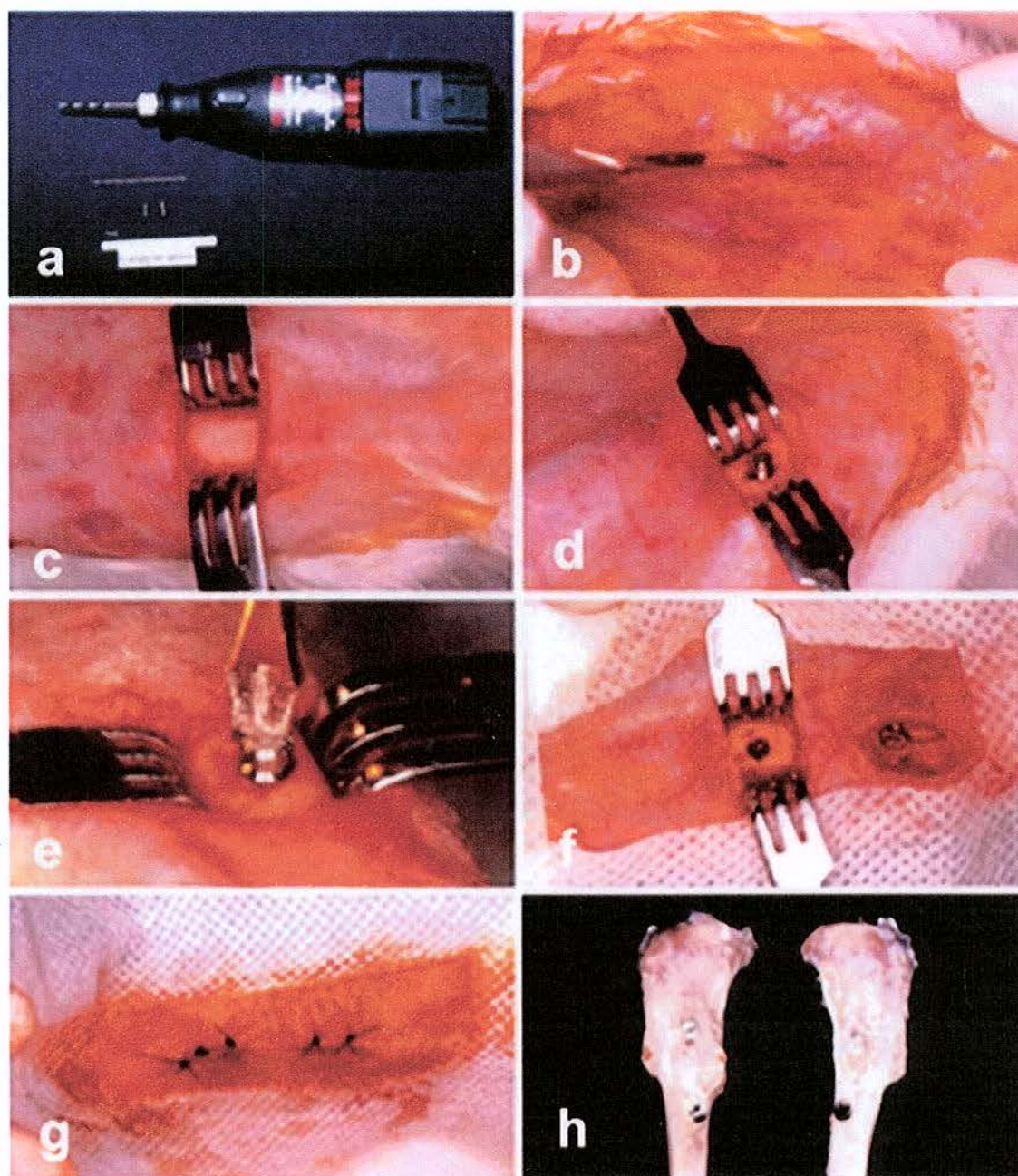


FIGURA 2 – CIRURGIAS DOS IMPLANTES – a) materiais utilizados na perfuração e implantes. b) incisão cirúrgica na região da tíbia. c) divulsão do periósteeo e exposição do local da perfuração. d) posicionamento do implante sobre a perfuração. e) fixação do primeiro implante. f) abertura da segunda loja de implantação. g) suturas das bordas cirúrgicas. h) exame macroscópico dos implantes nas tíbias próximo a articulação femur-tibial.

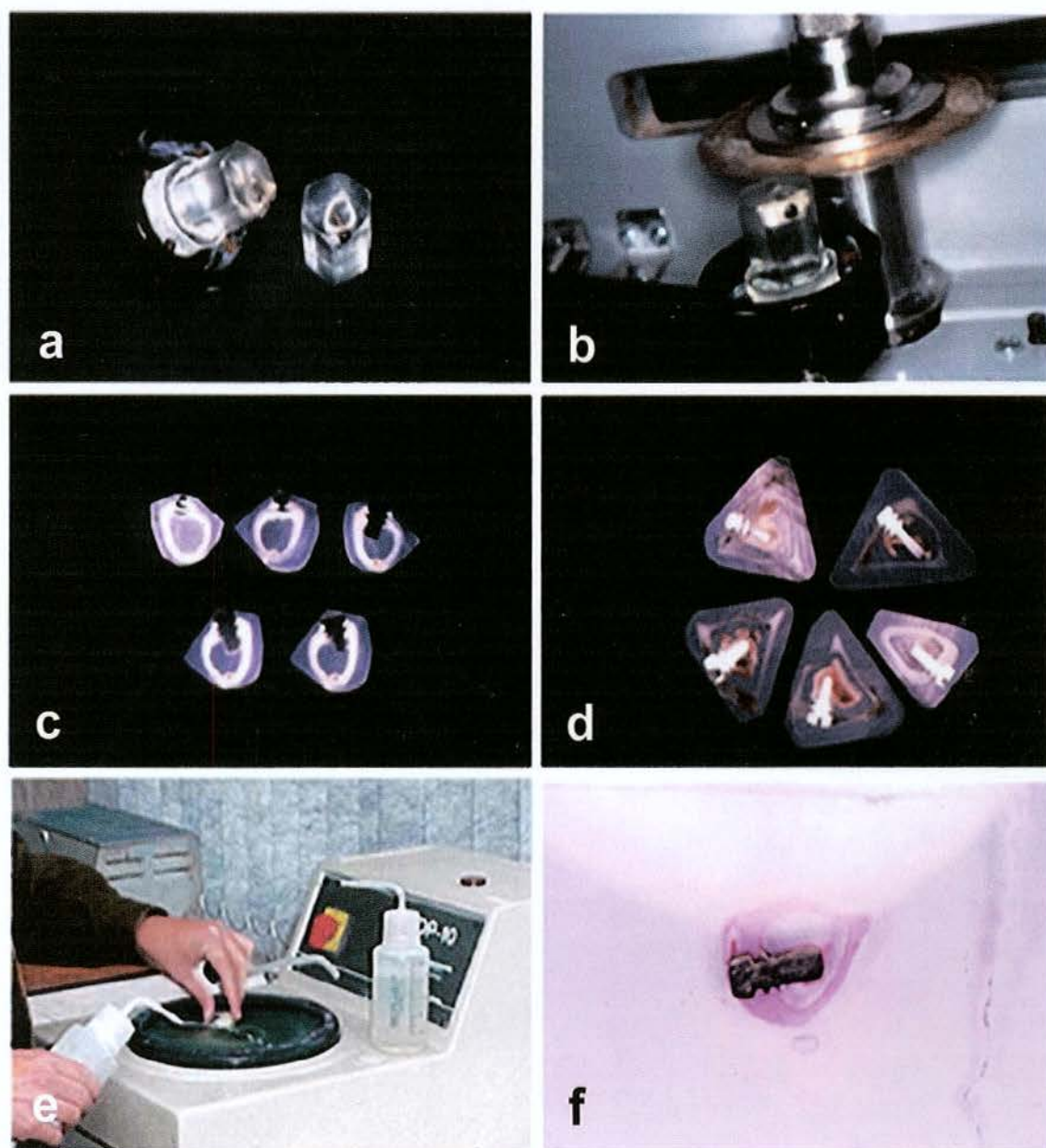


FIGURA 3 – PREPARO DAS AMOSTRAS POR DESGASTE – a) fixação na morsa do fragmento de osso com implante anteriormente incluído em molde sextavado de resina de poliéster. b) realização dos cortes com disco diamantado de 4 polegadas. c) obtenção de cortes com espessura de aproximadamente 50 μm . d) reinclusão em resina e poliéster para desgaste. e) desgaste do material na politriz com sequência de lixas com granulações decrescentes. f) lâmina final para observação em microscopia de luz.

5 RESULTADOS

Em todos os espécimes examinados, seja no material descalcificado, seja no preparado por desgaste e sem descalcificação, notaram-se secções transversais de osso longo, nas quais se observou osso compacto constituindo as paredes densas da diáfise da tíbia, onde foi colocado o implante. Por vezes, o canal medular continha remanescentes de medula óssea, porém, em diversos espécimes, apresentou-se como um espaço vazio, devido à remoção da medula durante a preparação do material.

O osso compacto exibia numerosos sistemas de Havers, formados por lamelas ósseas concêntricas dispostas em torno de um canal central contendo elementos neurovasculares. Os osteócitos localizavam-se no interior de lacunas dispostas em anéis concêntricos nas lamelas. A preparação por desgaste permitiu observar os canalículos que intercomunicam as lacunas de osteócitos e permitiu também diferenciar os sistemas de Havers parcialmente reabsorvidos e irregulares, os chamados sistemas intersticiais.

Na superfície externa, junto ao perióstio, e na superfície interna, junto ao endóstio, notaram-se lamelas concêntricas que se dispunham à volta de toda a circunferência do osso e não estavam estruturadas em sistemas de Havers.

A seguir estão descritas as características observadas na região da implantação.

5.1 Material preparado com descalcificação

Nos cortes do material descalcificado, observou-se espaço vazio no local anteriormente ocupado pelo implante, devido à remoção do mesmo, previamente à inclusão dos fragmentos ósseos em parafina.

Os aspectos observados na região correspondente à interface do tecido ósseo neoformado com o implante foram semelhantes entre os grupos de titânio grau 2 e da liga Ti6Al7Nb. Em ambos pôde-se observar a presença de tecido ósseo neoformado, junto à área de implantação do implante, formando projeções de formato triangular. No período de 21 dias essas projeções eram constituídas por trabéculas imaturas de tecido ósseo entrelaçado, dispostas irregularmente, delimitando amplos espaços medulares, preenchidos por tecido conjuntivo frouxo. Tais trabéculas eram contornadas por uma camada osteoblástica e apresentavam em seu interior lacunas amplas contendo osteócitos, dispostas em arranjo não organizado.

Nas margens da área do implante, o tecido ósseo neoformado estendia-se para as superfícies externa e interna do osso, com as mesmas características descritas, evidenciando a formação de osso supracortical nessas regiões. O osso vizinho à área de contato com o implante apresentava sinais de remodelação, com linhas basófilas de aposição e linhas reversas.

No período de 42 dias observou-se, em ambos os grupos, que o tecido ósseo neoformado junto às roscas do implante era mais compacto, com trabéculas mais espessas e espaços medulares menores e já apresentava arranjo lamelar, demonstrando aspecto mais maduro que o observado aos 21 dias. Em alguns locais, porém, notava-se ainda a presença de alguns espaços medulares amplos no tecido neoformado.

Os sistemas de Havers recentemente formados mostravam canais centrais volumosos e essa característica foi

também observada no osso vizinho, que mostrava sinais de remodelação e apresentava áreas de inclusão de tecido medular.

Em alguns espécimes notaram-se neoformação óssea junto à cortical oposta, porém, sem preencher toda a extensão do implante.

No período de 84 dias, o tecido ósseo neoformado mostrou-se bastante compacto, sendo formado por sistemas de Havers bem organizados, indicando maior maturação. Alguns espécimes exibiram ainda amplos espaços contendo tecido medular, porém, estes não estavam em contato com os implantes, dos quais estavam separados por tecido ósseo neoformado com as características descritas.

5.2 Material preparado sem descalcificação

Em todos os espécimes de ambos os grupos observaram-se neoformações ósseas, levando a uma imbricação desse tecido com a superfície do implante. Nos períodos de 21 e 42 dias notou-se um espaço existente entre a superfície do metal e o tecido ósseo, cuja largura variou, tanto em um mesmo espécime, quanto em espécimes diferentes. Em 84 dias esse espaço era aparentemente menor e o tecido ósseo estava justaposto à superfície metálica.

As características observadas foram basicamente as mesmas do tecido descalcificado. O aspecto entrelaçado das trabéculas ósseas aos 21 dias e o arranjo lamelar, que começou a ser observado aos 42 dias e tornou-se mais evidente aos 84, foram melhor evidenciados nesse tipo de preparação. De modo geral, a morfologia do tecido ósseo em 42 e 84 dias foi semelhante, com característica mais maduras. Foi também mais nítida a delimitação

entre tecido ósseo neoformado e a cortical pré-existente, assim como a diferença entre sistemas de Havers recentemente formados e sistemas intersticiais irregulares (Figuras 5,6,7).

Em diversos espécimes, em todos os períodos e em ambos os grupos, observaram-se neoformações ósseas sobre a porção da cabeça do implante, bem como junto à sua porção apical, quando a mesma tocava a cortical óssea oposta.

5.3 Análise quantitativa da neoformação óssea

A imagem digitalizada das lâminas não descalcificadas foi utilizada para quantificar a porcentagem da formação de tecido ósseo na região entre os filetes de rosca do implante (Figura 4). A média dos valores (Tabela 1), de cada implante, foram submetidos ao teste ANOVA.

Os resultados mostraram que os dois materiais empregados na confecção dos implantes mostraram-se semelhantes, dentro do mesmo período, não havendo diferenças significativas entre o tipo e a quantidade de tecido ósseo formado.

O período de 21 dias (Figura 5) apresentou como resultado menor quantidade de área formada de tecido ósseo entre as roscas, pela presença ainda de grande quantidade de espaços medulares e remodelação óssea. Os resultados histológicos mostraram que houve semelhança entre os períodos de 42 e 84 dias (Figura 6,7). Dessa forma, a análise estatística foi realizada entre os períodos de 21 e 42 dias (Tabela 1, Figura 8).

Na Tabela 1 observaram-se os valores médios das porcentagens dos espaços medulares, em relação à área total de osso formado entre os filetes da rosca. Os valores individuais, para cada

um dos quatro cortes analisados, estão expressos nos Quadros 1,2,3 e 4 (Apêndice A).

Tabela 1 – Valores médios expressos das áreas de espaços medulares entre os filetes da rosca das amostras analisadas por histomorfometria.

material	amostras	período de 21 dias *	período de 42 dias *
Ti-6Al-7Nb**	1	5,59	1,48
	2	8,37	2,91
	3	9,05	2,53
	4	3,10	7,68
	5	8,10	1,40
	6	9,90	6,22
	7	7,60	3,82
	8	7,05	4,94
Ti grau 2 ***	1	6,23	4,53
	2	7,32	1,92
	3	10,76	4,04
	4	8,75	2,77
	5	4,07	0,57
	6	2,97	3,22
	7	2,24	4,00
	8	0,67	1,45

* valores expressos em porcentagem de área

** Ti-6Al-7Nb : liga contendo Titânio, Alumínio e Nióbio

*** Ti grau 2 : liga de titânio grau 2

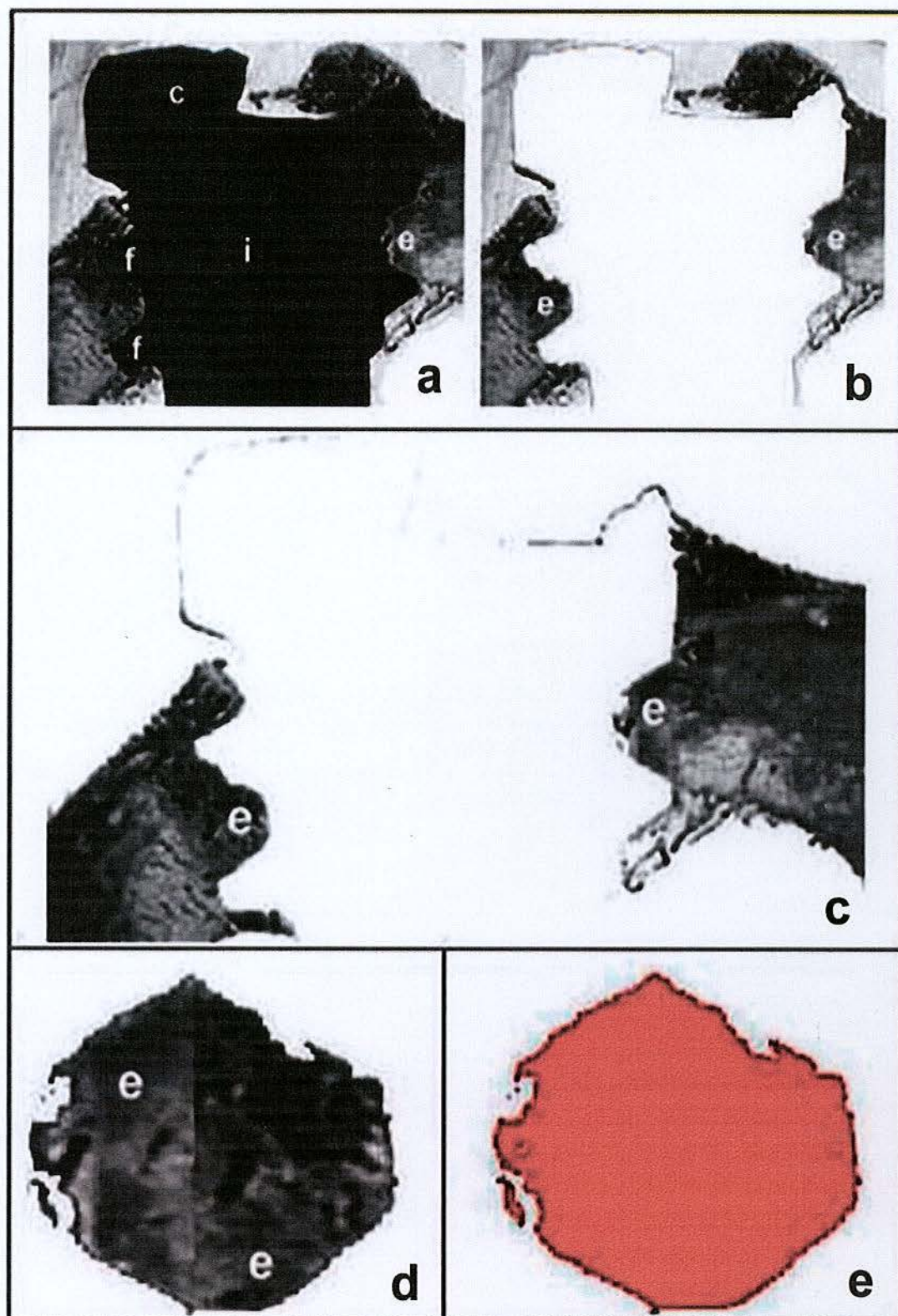


FIGURA 4 – ANÁLISE DA IMAGEM DIGITALIZADA – a) material histológico obtido por desgaste $\times 25$. b) imagem trabalhada após remoção do implante $\times 25$. c) detalhe da imagem anterior $\times 100$. d) cálculo da área total representado pelos espaços medulares e de ossificação. e) cálculo da área do osso medular (área total – área de ossificação). LEGENDAS: i - implante; f – filetes de roscas; c – cabeça do parafuso; e – área de embricamento.

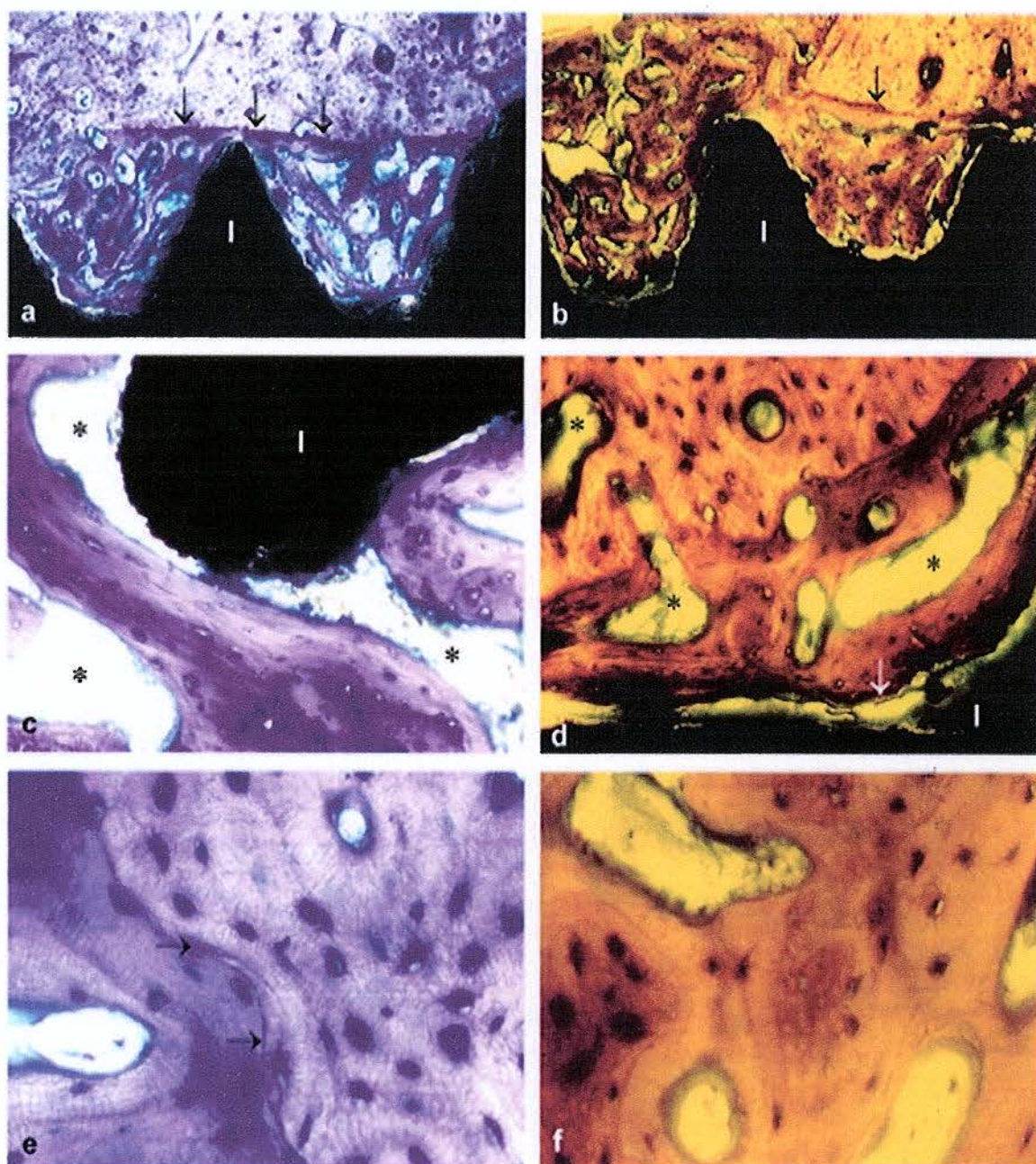


FIGURA 5 – PERÍODO DE 21 DIAS: - a) e b) regiões de interface com o tecido ósseo neoformado entre as roscas do implante (l), com o limite nítido entre o osso pré-existente e o neoformado (seta). Azul de Toluidina (AT) (filtro azul em a; filtro amarelo em b). 25x; c) ápice do filete de rosca do implante (l) e tecido ósseo neoformado, com amplos espaços medulares (*). Azul de Toluidina (filtro azul) 100x; d) região de fundo de rosca do implante (l) e tecido ósseo neoformado, com espaço na interface (seta) e amplos espaços medulares (*). Azul de Toluidina (filtro amarelo) 100x; e) limite entre osso neoformado (à esquerda) e osso cortical pré-existente (à direita). Azul de Toluidina (filtro azul) 200x ; f) osso neoformado na região central entre os filetes de rosca, com amplos espaços medulares. Azul de Toluidina (filtro amarelo) 200x.

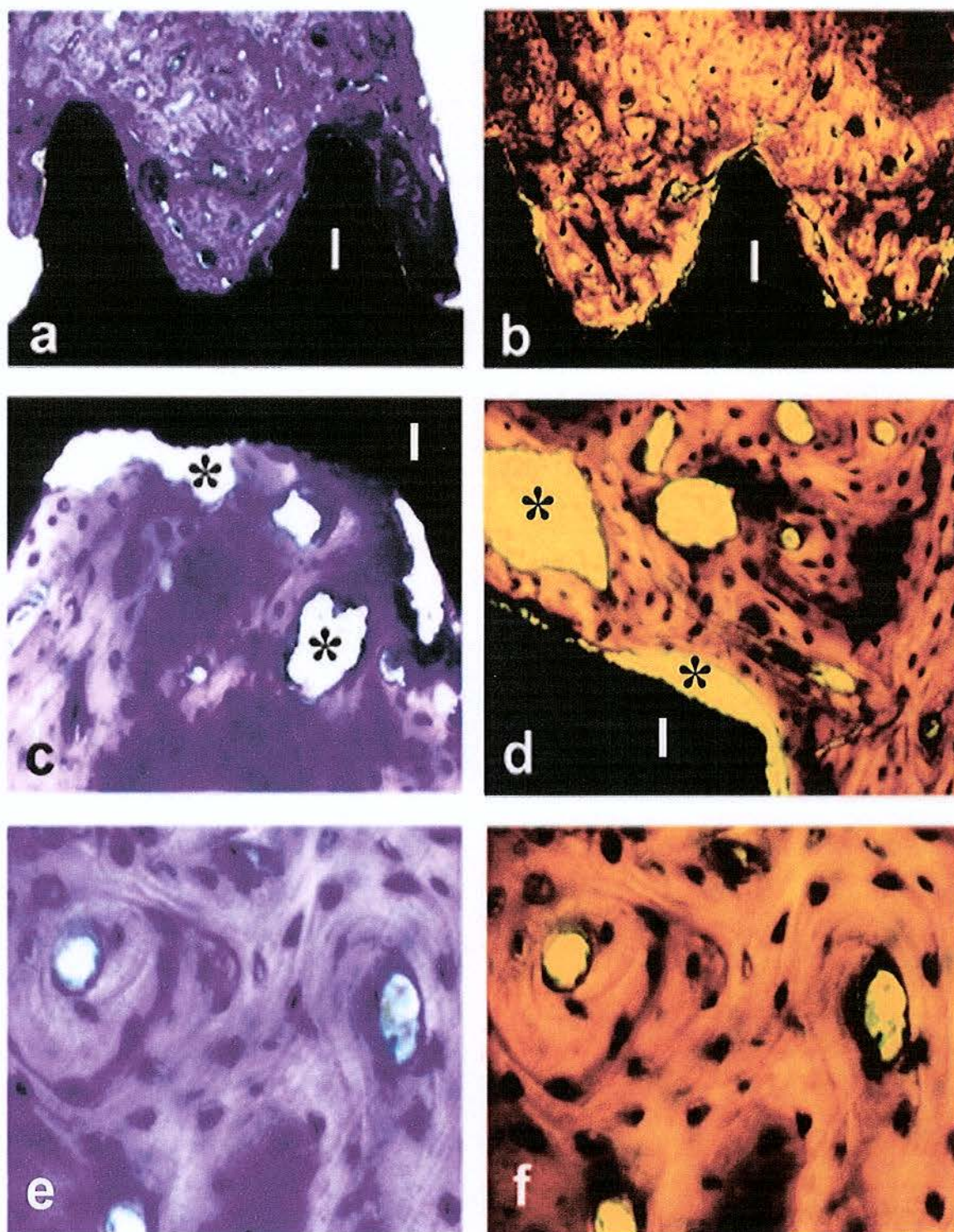


FIGURA 6 – PERÍODO DE 42 DIAS : – a) e b) tecido ósseo entre as roscas do implante (l), com poucos espaços medulares. Azul de Toluidina (AT) (filtro azul em a; filtro amarelo em b). 25x; c) e d) tecido ósseo próximo ao implante, com alguns espaços medulares (*). Azul de Toluidina (filtro azul em c; filtro amarelo em d) 100x; e) e f) osso neoformado na porção central entre os filetes de rosca, com sistemas de Havers. Azul de Toluidina (filtro azul em e; filtro amarelo em f) 200x.

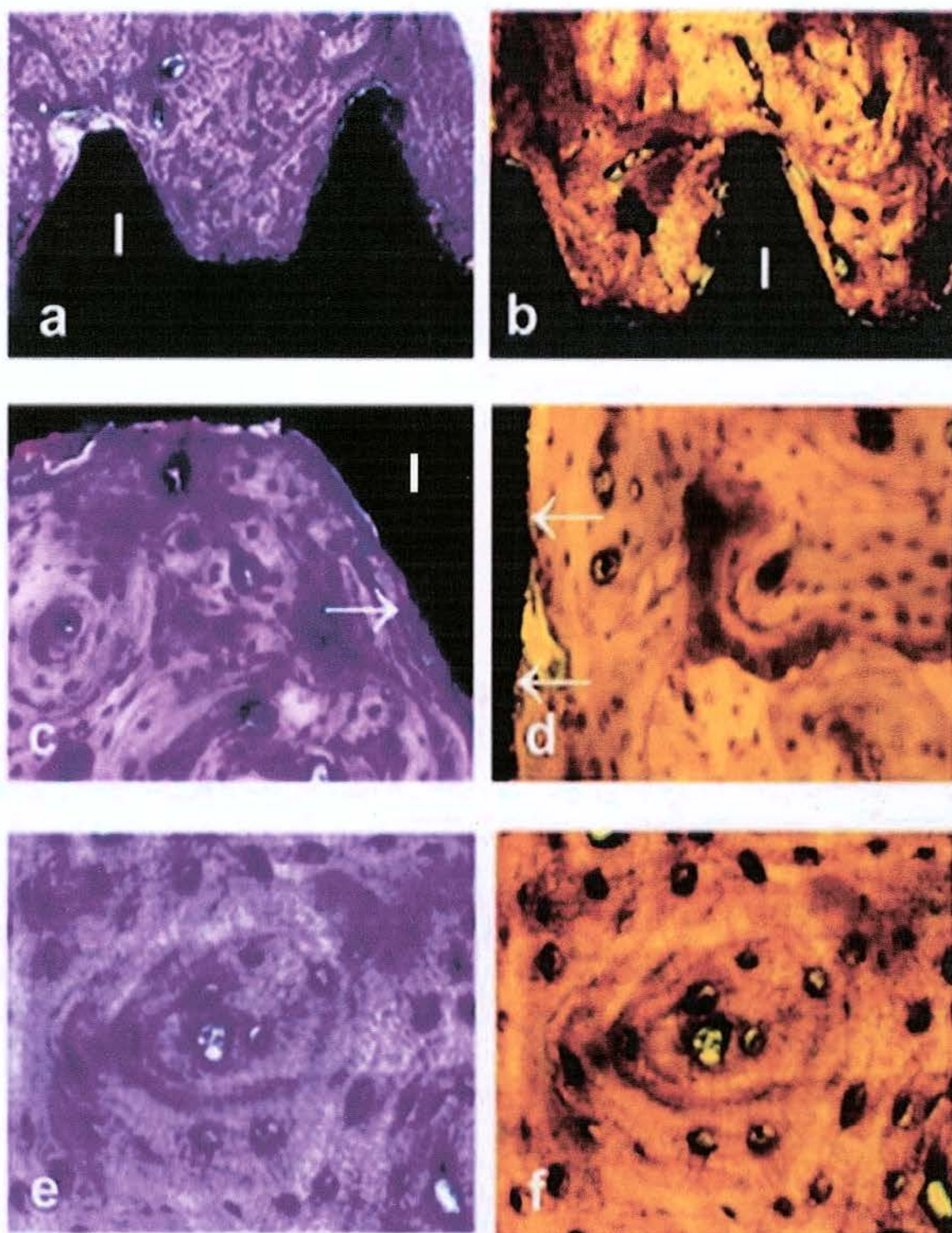


FIGURA 7 – PERÍODO DE 84 DIAS : – a) e b) tecido ósseo compacto entre as roscas do implante (I). Azul de Toluidina (AT) (filtro azul em a; filtro amarelo em b). 25x; c) e d) sistema de Havers no osso compacto junto ao implante. Ausência de espaços entre implante e osso (seta). Azul de Toluidina (filtro azul em c; filtro amarelo em d) 100x; e) e f) detalhe do sistemas de Havers do osso compacto entre os filetes de rosca. Azul de Toluidina (filtro azul em e; filtro amarelo em f) 200x.

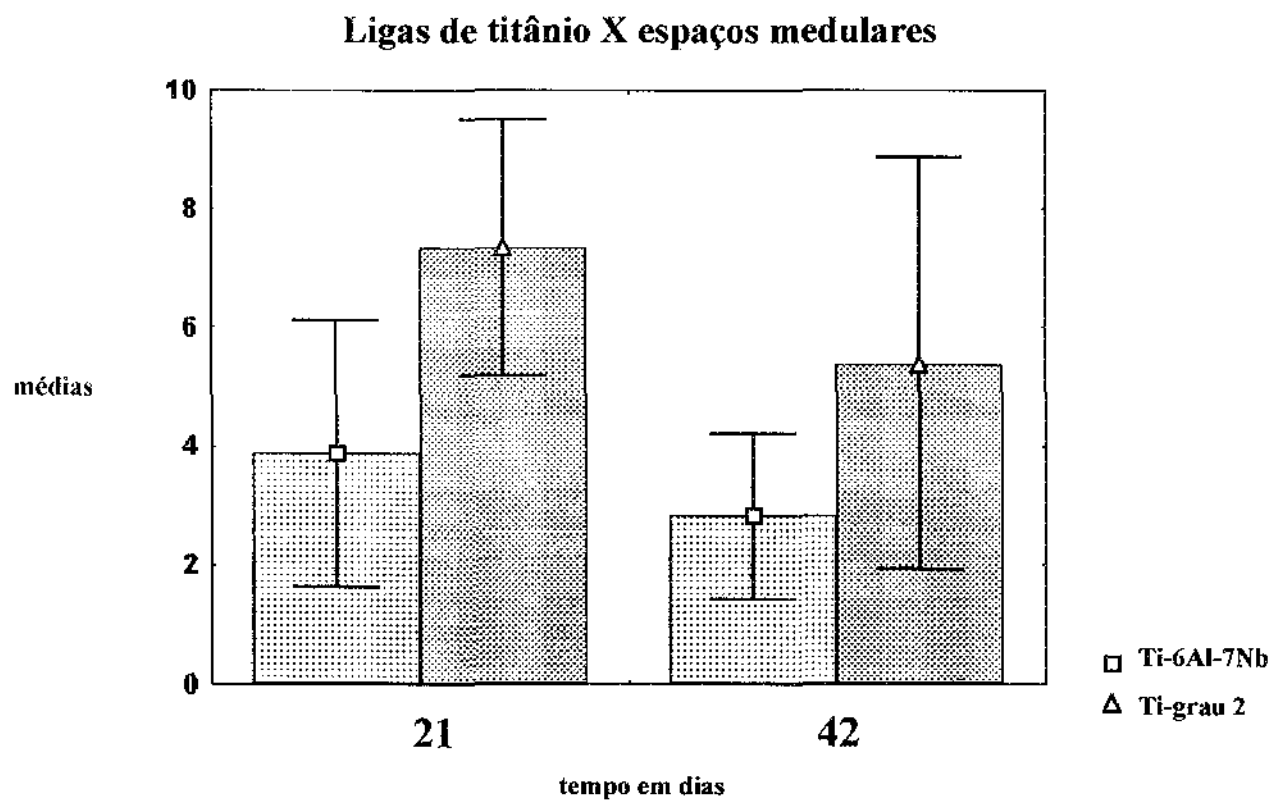


FIGURA 8 - O gráfico mostra a média de espaços medulares presentes nas análises das ligas de Ti-6Al-7Nb e Ti grau 2, em função do tempo de 21 e 42 dias.

6 DISCUSSÃO

Com o advento dos biomateriais, muitas pesquisas buscam elementos que possam substituir partes do corpo que foram perdidas por doenças ou traumas. Assim o grande interesse entre os pesquisadores é o desenvolvimento do material que possa ser colocado dentro do corpo humano e que leve ao mínimo de reação adversa (Williams⁶⁷, 1981).

Dentro da odontologia podemos notar o quanto o estudo dos biomateriais vem colaborando para a melhora dos resultados clínicos nos pacientes que sofreram mutilação, total ou parcial, dos dentes. Os estudos clínicos retrospectivos que analisaram o sucesso e os insucessos dos implantes dentários são prova deste fato (Malavez et al.⁴⁷1996; Askary et al.⁰⁶ 1999^a; Boioli et al.¹³ 2001)

O esqueleto humano é a parte do corpo onde mais se observa a aplicação destes materiais biocompatíveis. Assim sendo, numerosos estudos procuraram entender a complexidade funcional do tecido ósseo, que pode apresentar momentos de síntese de matriz óssea ou reabsorção, ou seja, é um tecido vivo que está em constante remodelação.

A análise da interface entre o material implantado e o tecido ósseo pode trazer maior esclarecimento do mecanismo de embricamento ósseo que ocorre nessa interface (Albrektsson et al.⁰², 1986; Linder et al.⁴⁵1989).

A constatação desta integração entre o tecido ósseo e o implante pode ser avaliada através da força necessária para a remoção do implante após o período necessário para formação de osso, podendo

ser desta maneira comprovado o embricamento mecânico (Sennerby et al.⁶², 1992).

Em nosso trabalho, procuramos avaliar a biocompatibilidade de duas ligas de titânio, que foram analisadas tanto pelo método de descalcificação, com a remoção do implante, como pelo método de inclusão em resina acrílica quimicamente ativada, para obtenção de lâminas histológicas, e posterior desgaste, sem a remoção do implante. Dessa maneira, concordamos com as observações feitas por Albrektsson et al.⁰² (1986) com relação ao processo de inclusão em resina e desgaste ser uma metodologia que mostrou diretamente a formação de osso junto ao implante, caracterizando a osseointegração propriamente dita, constatação que pode ser duvidosa quando o material é submetido ao processo de descalcificação, com remoção do implante, e inclusão em parafina.

Nos cortes descalcificados, corados com hematoxilina e eosina, os achados histológicos foram semelhantes aos observados pelo método de desgaste sem descalcificação, notando-se a presença de osso neoformado na região próxima ao implante. Entretanto o processo de osseointegração, principalmente na interface entre o tecido ósseo e a superfície do implante, foi mais claramente evidenciado nas lâminas que foram obtidas pelo método de desgaste sem descalcificação. Diante do exposto, optamos por ilustrar e caracterizar o processo de osseointegração por apenas um dos métodos empregados neste estudo.

Na avaliação histológica das lâminas que não foram descalcificadas, algumas mostraram, por meio da microscopia de luz refletida, que a interface entre osso e implante apresentava regiões onde talvez a osseointegração não tivesse ocorrido (Hasson et al.³¹, 1983; Linder et al.⁴⁵, 1983), estas regiões deveriam ser melhor analisadas, para não incorrer em afirmações errôneas sobre o processo de integração do osso com implante.

A partir do trabalho desenvolvido, e frente às dificuldades encontradas durante o preparo do material para análise, pudemos afirmar o quanto foi difícil a preparação das amostras contendo a região implante/osso juntos, não só pela composição, mas pelas características estruturais, resiliência, capacidade de dissipação de calor e dureza, inerentes a esses dois materiais. Estes aspectos devem também ser considerados no momento do preparo das amostras para análise, pois os mesmos podem levar a uma análise incorreta da real situação desta interface.

Analisando os espaços observados em algumas interfaces de implante e osso, acreditamos que algumas situações possam ocorrer, quando preparamos uma amostra contendo dois materiais bem distintos. Uma delas seria a escolha correta do local para análise, uma vez que o tecido ósseo poderia sofrer reabsorção ou síntese, conforme a força atuando sobre o local. Assim, transferindo este pensamento para o implante que estava em posição e analisando o corte, em um único plano, pudemos encontrar algumas áreas de remodelação do tecido, mostrando como foi difícil a análise desses espaços (Junqueira & Carneiro³⁵, 1974; Guyton³⁰, 1997).

Outro fato possível de ocorrer seria a contração de polimerização da resina usada nas amostras. Embora os fabricantes afirmem ser a contração de polimerização destas resinas insignificante, é discutível se ela é realmente insignificante quando observada em microscopia. A própria desidratação do tecido ósseo pode levar à contração e a perda deste íntimo contato entre o osso e o metal implantado.

As diferenças entre a composição química, aspecto estrutural e de dureza do osso/implante são fatores que no momento do corte e desgaste podem interferir no resultado final do preparo da amostra, uma vez que o processo mecânico age de maneira diferente, conforme as propriedades mecânicas de cada material.

Embora o método seja válido quando pensamos na análise do tecido ósseo formado, devemos ser cautelosos na avaliação, uma vez que essas regiões podem sofrer modificações inerentes ao próprio processo de preparo por desgaste, durante a confecção das lâminas.

Os resultados desse estudo mostraram padrão histológico bastante similar entre os materiais analisados, acreditamos que isso decorra de ambos apresentarem como elemento base o Titânio. Assim, a maior porcentagem do Titânio, dentro da liga, pode favorecer a um melhor desempenho da liga como um todo, pela estabilidade das interações entre os outros elementos presentes na liga.

Os resultados mostraram que no período de 21 dias, em ambas as ligas, havia uma camada de tecido ósseo neoformado entre a cortical óssea e a superfície dos implantes. Neste período o limite entre o osso cortical e o neoformado foi nítido, decorrente da coloração da matriz, pela diferença na quantidade de seus elementos orgânicos e inorgânicos, bem como no arranjo do tecido.

No período seguinte, de 42 dias, ainda foi possível observar a linha de união entre o osso cortical e o neoformado. Este apresentou coloração mais uniforme, com espaços medulares menos amplos que em 21 dias e inúmeros sistemas de Harvers com lamelas concêntricas. O crescimento ósseo ocorreu para o interior das roscas do implante.

O período de 84 dias foi o mais longo, neste estudo, da permanência dos implantes, apesar disso não encontramos características histológicas muito diferentes do período de 42 dias. No período de 84 dias havia um padrão ósseo mais maduro, perdendo o limite de cimentação entre o osso neoformado e a cortical preexistente. Observou-se uma diminuição nos espaços vasculares, os osteócitos apresentaram-se mais ordenados, formando sistemas de

Harvers e o corante, azul de toluidina, conferiu um tom mais uniforme a todo o osso corado.

O período mais longo não foi fator importante, neste estudo, para mostrar as diferenças no processo de osseointegração com o decorrer do tempo. Entretanto, acreditamos que dentro de um estudo onde os implantes em análise fossem colocados em função, este período, mostraria histologicamente diferenças mais significantes com relação aos períodos de 21 e 42 dias, pelo fato do tecido ósseo estar em constante processo de remodelação, como afirma Guyton³⁰, 1997. Conforme nossos resultados, pudemos notar que o estudo poderia ter sido realizado com os períodos de 21 e 42 dias, pois seria representativo para mostrar o processo de osseointegração entre as ligas propostas.

Os estudos sobre a estabilidade inicial, mostraram que isso era facilmente obtido quando da escolha correta do formato do implante, além da região a ser implantada, sendo portanto, fatores que contribuem para maior probabilidade de permanência do implante em função. Assim, os resultados relatados na literatura científica mostraram que o osso compacto e um implante com formato que proporcione mais área de contato com o osso, favoreceram a permanência do implante em função por mais tempo (Brunski¹⁶, 1988; Meffert et al.⁴⁸, 1992; Askary et al.⁰⁵, 1999b).

Os cortes preparados exibiram secções transversais de osso longo, nas quais se observou osso compacto constituindo as paredes densas da tíbia, onde foram fixados os implantes, responsável pela estabilidade inicial que, segundo Albrektsson et al.⁰³ (1983) era de grande importância para que ocorresse o osseointegração.

Concordamos com as observações de Baier & Meyer⁰⁸ (1988); Carlsson et al.¹⁹ (1989) e Cain et al.¹⁸ (2000) que destacaram ser a esterilização de todo material empregado na cirurgia um fator importante

para o sucesso da mesma. Todo o material utilizado foi submetido a um rigoroso controle de limpeza e esterilização, por meio de ultrassom, procedimento que removeu mecanicamente partículas sólidas e resíduos de óleo provenientes do processo de manufatura dos parafusos, e foram submetidos ao processo de esterilização por calor em estufa por 1 hora a 170°C.

A técnica cirúrgica é fator também a ser considerado, já que o tecido ósseo, caso seja traumatizado, pode demorar a se recuperar tornando o processo de osseointegração mais demorado e com possibilidades de perda do implante. Dessa forma, segundo as orientações preconizadas por Eriksson & Adell²³ (1986) e Carvalho et al²⁰ (1994) com relação a cirurgias atraumáticas, utilizou-se irrigação abundante, evitando o aquecimento durante a perfuração do osso, um fator importante para evitar danos que pudessem interferir com o processo normal de formação óssea.

Observou-se portanto, que a estabilidade inicial, um método eficaz de esterilização e a cirurgia atraumática, como apresentado, foram fatores importantes durante os primeiros períodos de permanência do implante. Entretanto, a permanência do implante pode sofrer ação de outros fatores relacionados com o tempo prolongado do implante em função.

Quando um implante metálico é implantado junto ao corpo ele fica sujeito à ação química dos fluidos corpóreos, que levam a reações químicas de trocas iônicas. Quanto maior for a exposição a este ambiente corrosivo maior será a degradação sofrida pelo implante. Dessa forma, e baseados nos achados de Williams⁶⁷ (1981) e Geis-Gerstorfer & Weber²⁷ (1988) optamos pela escolha do titânio e suas ligas como material para a confecção dos implantes, principalmente pelas suas características de resistência à corrosão, como anteriormente descrito por Covington²¹ em 1993.

O implante dentário e o componente protético apresentam grande potencial para reter e formar nichos de fixação de microorganismos, que podem levar a infecções semelhantes às aquelas encontradas em dentes normalmente implantados (Jansen et al.³⁴, 1997; Augthun & Conrads⁰⁷, 1997). Além disso, a falta de higiene mais minuciosa em pacientes com implantes pode influenciar também na permanência a longo prazo dos implantes (Becker et al.¹⁰, 1990). Entretanto, essas observações não puderam ser avaliadas nesse trabalho, uma vez que a metodologia utilizada não se prestou a esse tipo de análise.

O dente normalmente implantado é fixado no osso através das fibras colágenas do periodonto, as quais funcionam como coxim de amortecimento. O implante metálico não apresenta esta característica importante, uma vez que toda força aplicada sobre o implante é transferida em grande parte ao osso (Brunski¹⁶, 1988), o qual responde ao estímulo de estresse com reabsorção óssea no local de maior tensão, ou seja, na cervical do implante, junto à cortical óssea.

Os aspectos observados na região correspondente ao tecido ósseo neoformado, adjacente ao implante, mostraram resultados semelhantes entre os grupos de titânio grau 2 e da liga Ti6Al7Nb. Em ambos pôde-se observar a presença de tecido ósseo neoformado, junto à área de implantação do corpo-de-prova, formando projeções de formato triangular, correspondente ao espaço entre os filetes da rosca.

Os espécimes de todos os períodos e em ambos os grupos, apresentaram áreas de neoformações ósseas sobre a porção da cabeça do corpo-de-prova, bem como junto à sua porção apical, quando a mesma tocava a cortical óssea oposta. Em algumas das cirurgias realizadas observou-se uma grande quantidade de sangue extravasado durante a perfuração, decorrente possivelmente do

rompimento de vasos que formam os canais de alimentação do tecido ósseo, sendo observada ainda uma grande quantidade de sangue extravasando mesmo após a fixação do implante. Este fato pode ter ocorrido devido ao implante apresentar roscas de passos largos cuja finalidade era facilitar sua fixação, ou poderia ainda ser decorrente do orifício oval confeccionado no osso para receber o implante. O local de implantação escolhido foi a tíbia de coelhos, área que apresenta uma cortical bastante compacta e friável, e dessa maneira ficaria mais susceptível a ocorrência de trincas e eventuais fraturas, no momento da fixação do implante. Dessa forma, os passos mais largos foram utilizados para evitar o uso de machos na confecção das roscas, fator que também pode levar a uma tensão desnecessária na região.

Os resultados finais mostraram evidências de osseointegração em todas amostras, mesmo com o espaço deixado pelo orifício oval ou, por vezes, ligeiramente maior (Satomi et al.⁶¹, 1988).

O cuidado com o desenho do implante é um aspecto muito importante a ser analisado quando estudos são realizados com implantes em função, uma vez que o tecido ósseo é dinâmico e sofre remodelação sempre que é sobrecarregado por forças externas.

Outro aspecto a ressaltar é o processo de corrosão, que não ocorre com a mesma intensidade entre os materiais metálicos, usados atualmente em implantes. O titânio é resistente à corrosão, sendo ainda considerado um material inerte ao organismo, conforme os estudos de Laing et al.³⁹(1967), Smith⁶⁴(1993) e Niinomi⁵²(1998).

Entretanto, Williams⁶⁷ (1981), explica que a ação de soluções eletrolíticas naturalmente encontradas nos fluidos corpóreos, sangue e saliva, podem levar a ação química de troca de íons, causando a instabilidade química na superfície do implante metálico, acelerando o processo de degradação deste material metálico. A escolha do titânio de

grau 2, neste trabalho como grupo controle, deve-se ao fato do mesmo ser considerado metal de escolha pela biocompatibilidade e boa resistência à corrosão, Smith⁶⁴, 1993.

Atualmente os pesquisadores procuram utilizar elementos não tóxicos que são testados individualmente no organismo, conduzindo assim uma pesquisa com elementos não tóxicos, onde a preocupação passaria a ser o desenvolvimento das propriedades mecânicas da liga metálica.

Ligas de titânio sem elementos como Vanádio e Alumínio estão sendo desenvolvidas atualmente, utilizando elementos considerados menos tóxicos ao organismo como Nióbio, Tântalo e Zircônio. O baixo módulo de elasticidade nas ligas metálicas está sendo requerido na biomedicina, como característica importante do material, devido a esta propriedade apresentar maior similaridade com o osso (Niinomi⁵², 1998).

Peters⁵⁵ (1998), relata em seu artigo que o titânio é o quarto elemento metálico mais abundante da crosta terrestre, mas apesar disso os custos para obtenção do metal são muito altos. O autor concorda que esta limitação na obtenção inviabiliza a sua aplicação como produto final devido ao alto custo, mas acredita que, com novas técnicas de manufatura, possam baratear este custo melhorando o comércio do metal.

Apesar de não ser o enfoque deste trabalho, o estudo procurou viabilizar o uso de uma metodologia de manufatura de implantes metálicos, através da metalurgia do pó, que acredita-se ser um método que pode baratear os custos do produto final.

O processo apresenta a vantagem de permitir a obtenção de peças em formas e dimensões acabadas ou praticamente terminadas para uso, contudo, apresenta a desvantagem de não permitir a obtenção de peças em formato complexo, além de ser um processo limpo, pois gera uma quantidade de subprodutos muito baixa, reduzindo

a emissão de poluentes, interessante do ponto de vista ambiental. Os implantes confeccionados pelo método mostraram-se com qualidade satisfatória e cumpriram o seu papel dentro da pesquisa.

Ambrósio Filho⁰⁴ (1998), mostra que essa técnica apresenta uma relação custo/benefício bastante favorável quando comparada com a obtenção pela técnica convencional por fundição, que necessita, na maioria das vezes, que a peça seja submetida a processos de conformação e usinagem, até conseguir o produto final. Neste contexto o processo de obtenção de peças por metalurgia do pó apresenta-se como uma opção viável de produção de peças finais, eliminando todas as etapas de processamento da matéria prima, reduzindo as perdas por usinagem, com aumento da produção e custo baixo.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados e nas análises feitas em relação ao estudo das ligas de Ti-6Al-7Nb e titânio grau 2, quando implantadas em tibia de coelhos, foi possível concluir que:

- a) não foi observada diferença estatisticamente significativa quanto à neoformação óssea, entre as duas diferentes ligas.;
- b) os períodos de 21, 42 e 84 dias foram suficientes para analisar o processo de osseointegração;
- c) o processo de desgaste desenvolvido para análise da interface entre o implante e o tecido ósseo neoformado foi adequado para este fim, além de apresentar baixo custo;

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 ALBREKTSSON, T. Survival of hydroxyapatite-coated implants: A meta-analytic review. **J Oral Maxillofac Surg**, v.58, p. 1379-80, 2000.
- 2 ALBREKTSSON, T.; JANSSON T.; LEKHOLM, U. Osseointegrated implants. **Dent Clin North Am**, v.30, n.1, p.151-73, Jan, 1986.
- 3 ALBREKTSSON, T. et al. The interface zone of inorganic implants in vivo. Titanium implants in bone. **Ann Biom Eng**, v.11, p.1-27, 1983.
- 4 AMBROZIO FILHO, F. et al. A metalurgia do pó aplicada à indústria automobilística. São Paulo: SAE Brasil,1998.8p. (SAE Technical paper series 9829), p. 1-8, 1998.
- 5 ASKARY, A. S.; MEFFERT, R. M.; GRIFFIN, T. Why do dental implants fail? Part II. **Implant Dent**, v. 8, n.3, p.265-76, 1999.
- 6 ASKARY, A. S. et al. Why do dental implants fail? Part I. **Implant Dent**, v.8, n.2, p.173-84, 1999.
- 7 AUGTHUN, M.; CONRADS, G. Microbial findings of deep peri-implant bone defects. **Int J Oral Maxillofac Implant** , v.12, n.1, p.106-12, 1997.

* Baseado em:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Informação e documentação: referências, elaboração, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2000. 22p.

- 8 BAIER, R.E.; MEYER, A.E. Implant surface preparation. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.3, n.1, p. 9-20, 1988.
- 9 BAGAMBISA, F. B.; JOOS, U.; SCHILLI, W. The Interaction of osteogenic cells with hydroxylapatite implant materials in vitro and in vivo. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.5, n.3, p. 217-26, 1990.
- 10 BECKER, W. et al. clinical and microbiologic findings that may contribute to dental implant failure. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.5, n.1, p. 31-8, 1990.
- 11 BELLINATI, C. E. **Obtenção e caracterização do titânio e suas ligas por metalurgia do pó**. 1999. 123f.Tese (mestrado em Ciências, na Área de Materiais e Processos de Fabricação) - Curso de Engenharia Aeronautica e Mecânica, Instituto Tecnológico Aeronáutico, Campos Montenegro, São José dos Campos.
- 12 BESS, E. et al. protein adsorption and osteoblast responses to heat-treated titanium surfaces. **Implant Dent**, v.8, n.2, p.126-30, 1999.
- 13 BOIOLI, L. T.; PENAUD, J.; MILLER, N. A meta-analytic, quantitative assessment of osseointegration establishment and evolution of submerged and non-submerged endosseous titanium oral implants. **Clin Oral Implants**, v.12, p.579-88, 2001.
- 14 BOWERS, K. T. et al. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.7, n.3, p.302-10, 1992.
- 15 BRÈME, J. Titanium and titanium alloys, biomaterials of preference. **Mem Étud Scientif Rev Métall**, p. 625-37, Oct, 1989.

- 16 BRUNSKI, J. B. Biomaterials and biomechanics in dental implant design. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.3, n.2, p. 85-97, 1988.
- 17 BRUNSKI, J. B. Biomechanics of oral implants: future research directions. **J Dent Educ**, v.52, n.12, p.775-87, 1988.
- 18 CAIN, J. R.; MITCHELL, D. L.; GILLESPIE, J. C. Sterilization of reusable implant components: a pilot study. **J Prosthet**, v.84, n.6, p. 608-11, 2000.
- 19 CARLSSON, L. V.; ALBREKTSSON, T.; BERMAN, C. Bone response to plasma cleaned titanium implants. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.4, n.3, p. 199-204, 1989.
- 20 CARVALHO, P. S. P. et al. Ação das brocas para implantes com e sem irrigação externa. **Rev Gaúcha Odontol**, v.42, n.3 , p.171-3, Maio/Jun, 1994.
- 21 COVINGTON, L. C. Corrosion resistance of titanium. In:_. **Metals Handbook**. 9.ed. ASM, 1993, 9 ed, v.3, p. 413-7.
- 22 ELIADES, T. Passive film growth on titanium alloys: physicochemical and biologic considerations. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.12, n.5, p.621-7, 1997.
- 23 ERIKSSON, R. A.; ADELL, R. Temperatures during drilling for the placement of implants using the osseointegration technique. **J Oral Maxillofac Surg**, v.44, p. 4-7, 1986.

- 24 ERIKSSON, R. A.; ALBREKTSSON, T. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopy study in the rabbit. **J Prosthet Dent**, v.50, n.1, p.101-7, July, 1983.
- 25 ERIKSSON, A et al. Thermal injury to bone. **Int J Oral Surg**, v.11, p.115-21, 1982.
- 26 FROES, F. H. et al. Developments in titanium powder metallurgy. **J Metal**, p.47-54, Feb, 1980.
- 27 GEIS-GERSTORFER, J.; WEBER, H. Corrosion resistance of the implant materials Contimet 35, Memory and Vitallium in artificial physiological fluids. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.3, n.2, p. 135-40, 1988.
- 28 GROBNER-SCHREIBER, B. et al. Plaque formation on surface modified dental implants. **Clin Oral Implant Res**, v.12, p.543-51, 2001.
- 29 GUGLIELMOTTI, M. B.; RENOU, S.; CABRINI, R. L. Evaluation of bone tissue on metallic implants by energy-dispersive x-ray analysis: an experimental study. **Implant Dent**, v.8, n.3, p.303-7, 1999.
- 30 GUYTON, A. C. Tratado de fisiologia médica. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014p.
- 31 HANSSON, H. A.; ALBREKTSSON, T.; BRANEMARK, P. I. Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. **J. Prosthet Dent**, v.50, n.1, p.108-13, July, 1983.
- 32 HERMANN, J. S. et al. Crestal bone changes around titanium implants: a methodologic study comparing linear radiographic with histometric

- measurements. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.16, n.4, p.475-85, 2001.
- 33 JAFFIN, R. A.; BERMAN, C. L. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-years analysis. **J Periodontol**, v.62, n.1, p.2-4, Jan, 1991.
- 34 JANSEN, V.K.; CONRADS, G.; RICHTER, E.J. Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.12, n.4, p.527-40, 1997.
- 35 JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: **Histologia básica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. Cap. 8, p.132-55.
- 36 KASEMO, B. Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects. **J Prosthet Dent**, v.49, n.6, p.832-7, 1983.
- 37 KOHRI, M. et al. Comparative study of hydroxyapatite and titanium dental implants in dogs. **J Oral Maxillofac Surg**, v.48, p.1265-73, 1990.
- 38 KURODA, D. et al. Design and mechanical properties of new type titanium alloys for implant materials. **Mater Science Eng A** 243, p.244-9, 1998.
- 39 LAING, P. C.; FERGUSON JUNIOR, A. B.; HODGE E. S. Tissue reaction in rabbit muscle exposed to metallic implants. **J Biomed Mat Res**, v.1, p.135-49, 1967.

- 40 LEMONS, J.; NATIELLA, J. Biomaterials, biocompatibility, and periimplant considerations. **Dent Clin North Am**, v.30, n.1, p. 3-23, Jan, 1986.
- 41 LI, D. et al. Bone interface of dental implants cytologically influenced by a modified sandblasted surface: a preliminary in vitro study. **Implant Dent**, v.10, n.2, 132-8, 2001.
- 42 LINDER, L. High-resolution microscopy of the implant-tissue interface. **Acta Orthop Scand**, v. 56, p.269-72, 1985.
- 43 LINDER, L. Osseointegration of metallic implants. I. Light microscopy in the rabbit. **Acta Orthop Scand**, v.60, n.2, p.129-34, 1989.
- 44 LINDER, L.; LUNDSKOG, J. Incorporation of stainless steel, titanium and vitallium in bone. **Injury**, v.6, n.4, p.277-85, 1975.
- 45 LINDER, L.; OBRANT, K.; BOIVIN, G. Osseointegration of metallic implants. II. Transmission electron microscopy in the rabbit. **Acta Orthop Scand**, v.60, p.135-39, 1989.
- 46 LINDER, L. et al. Electron microscopic analysis of the bone titanium interface. **Acta Orthop Scand**, v.54, p.45-52, 1983.
- 47 MALEVEZ, C. H.; HERMANS, M.; DAELEMANS, P. H. Marginal bone levels at Branemark system implants used for single tooth restoration. The influence of implant design and anatomical region. **Clin Oral Impl Res**, v.7, p.162-9, 1996.
- 48 MEFFERT, R. M.; LANGER, B.; FRITZ, M. E. Dental Implants : a review. **J Periodontol**, v.63, n.11, p. 859-70, Nov, 1992.

- 49 MEREDITH, N. Assessment of implant stability as a prognostic determinant. **Int J Prosthodont**, v.11, n.5, p.491-501, 1998.
- 50 MOMOSE, D. R. A biocompatibility study of Ti 6Al 7Nb Alloy. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA. 17, 2000, Águas de Lindóia. **Anais... J Dent Res**. V.80, 2001, p.1124.
- 51 NAGEM-FILHO, H. et al. Proposed Method to evaluate rats subcutaneous connective tissue reactions to the implantation of materials. **Rev Estomatol Cult**, v.8, n.1, p.41-8, Jan/Jun, 1974.
- 52 NIINOMI, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. **Mater Sci Eng A** 243 Elsevier, p.231-36, 1998.
- 53 OKAZAKI, Y. et al. Cytocompatibility of various metal and development of new titanium alloys for medical implants. **Mater Sci Eng A243** Elsevier, p. 250-56, 1998.
- 54 OLIVEIRA, V. M. **Obtenção e caracterização da liga Ti-6Al-7Nb para aplicação em próteses ortopédicas**. 1995. 83f. Tese (Mestrado em Engenharia, Área de Concentração em Engenharia de Materiais) – Faculdade de Engenharia Mecânica. Universidade Estadual de Campinas. Campinas.
- 55 PETERS, D. M. Fundição emprega métodos especiais no trabalho com titânio. **Fundição e Serviços**, v.5, p. 53-9, Maio, 1998.
- 56 PIMENTA, J.; CASTRO, F. Chemical modifications of pure titanium surfaces for oral Implants. **Implant Dent**, v.8, n.1, p.86-9, 1999.

- 57 ROBERTS, W. E. Bone tissue interface. **J Dent Educ**, v.52, n.12, p.804-9, 1988.
- 58 ROBERTS, W. E. et al. Osseous adaptation to continuous loading of rigid endosseous implants. **Am J Orthod**, v.86, n.2, p.95-111, Aug, 1984.
- 59 SANZ, A. et al. Experimental study of bone response to a new surface treatment of endosseous titanium implants. **Implant Dent**, v.10, n.2, p.126-38, 2001.
- 60 SANZ, M. et al. Characterization of the subgingival microbial flora around endosteal sapphire dental implants in partially edentulous patients. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.5, n.3, p.247-53, 1990.
- 61 SATOMI, K.; AKAGAWA, Y.; NIKAI, H. Bone-implante interface structures after non tapping and tapping insertion of screw-type titanium alloy endosseous implants. **J Prosthet Dent**, v.59, n.3, p.339-42, Mar, 1988.
- 62 SENNERBY, L.; THOMSEN, P.; ERICSON, L. E. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.7, n.1, p. 62-71, 1992.
- 63 SISK, A. L. et al. A light and electron microscopic comparisson of osseointegration of six implant types. **J Oral Maxillofac Surg**, v.50, p. 709-16, 1992.
- 64 SMITH, D. C. Dental implants: material and design considerations. **Int J Prosthodont**, v.6, n.2, p.106-17, 1993.

- 65 VIDIGAL JUNIOR, G. M. et al. Histomorphometric analyses of hydroxyapatite coated and uncoated titanium dental implants in rabbit cortical bone. **Implant Dent**, v.8, n.3, p.295-300, 1999.
- 66 WEINLAENDER, M. et al. Histomorphometry of bone apposition around three types of endosseous dental implants. **Int J Oral Maxillofac Implant**, v.7, n.4, p. 491-6, 1992.
- 67 WILLIAMS, D. F. Titanium and titanium alloys. In: **Biocompatibility of clinical implant materials**. s.l.: Boca Raton, 1981, Cap. 2, p.1744.
- 68 WILLIAMS, D. F.; BLACK, J.; DOHERTY, P.J. Second consensus conference on definitions in biomaterials. In: DOHERTY, P.J.; WILLIAMS, R. L.; WILLIAMS, D. F. **Biomaterials – tissue interfaces**. Amsterdam: Elsevier, 1992. p.525-33. *Advances in biomaterials*, 10. (Proceedings of the ninth European Conference on Biomaterials, Chester, U. K., September 9-11, 1991).

Apêndice A

Quadro 2: Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo Ti-6Al-7Nb, após 21 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total.

amostras*	Área total em pixels	Área ossificação em pixels (%)	Área medular em pixels (%)
21Nb1a	18058	17389 (96,30)	669 (3,70)
21Nb1b	16679	15444 (92,60)	1235 (7,40)
21Nb1c	14334	13587 (94,79)	747 (5,21)
21Nb1d	15432	14498 (93,95)	934 (6,05)
21Nb2a	20827	18771 (90,13)	2056 (9,87)
21Nb2b	29559	27658 (93,57)	1901 (6,43)
21Nb2c	19879	18159 (91,35)	1720 (8,65)
21Nb2d	22944	20986 (91,47)	1958 (8,53)
21Nb3a	14519	12875 (88,68)	1644 (11,32)
21Nb3b	11401	10424 (91,43)	977 (8,57)
21Nb3c	12401	11147 (89,89)	1254 (10,11)
21Nb3d	15340	14388 (93,80)	952 (6,20)
21Nb4a	12217	11882 (97,26)	335 (2,74)
21Nb4b	22791	22000 (96,53)	791 (3,47)
21Nb4c	15515	15201 (97,98)	314 (2,02)
21Nb4d	14422	13820 (95,83)	602 (4,17)
21Nb5a	8250	7488 (90,77)	762 (9,23)
21Nb5b	7449	6817 (91,52)	632 (8,48)
21Nb5c	14166	13001 (91,78)	1165 (8,22)
21Nb5d	14351	13422 (93,53)	929 (6,47)
21Nb6a	22735	19938 (87,70)	2797 (12,30)
21Nb6b	14519	12820 (88,3)	1699 (11,70)
21Nb6c	12478	11427 (91,58)	1051 (8,42)
21Nb6d	5072	4369 (92,82)	703 (7,18)
21Nb7a	14584	13337 (91,45)	1247 (8,55)
21Nb7b	12811	11883 (92,76)	928 (7,24)
21Nb7c	15434	14449 (93,62)	985 (6,38)
21Nb7d	17493	16053 (91,77)	1440 (8,23)
21Nb8a	22920	21180 (92,41)	1740 (7,59)
21Nb8b	31971	29301 (91,65)	2670 (8,35)
21Nb8c	19747	18244 (92,39)	1503 (7,61)
21Nb8d	25319	24141 (92,39)	1178 (4,65)

* 21 = período

Nb = liga contendo Nióbio

1 a 8 = número do implante

a,b,c, e d = corte não descalcificado

Quadro 3: Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo titânio grau 2, após 21 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total.

amostras	Área total em pixels	Área ossificação em pixels (%)	Área medular em pixels (%)
21Tig21a	23997	23030 (95,97)	967 (4,03)
21Tig21b	20714	19166 (92,53)	1548 (7,47)
21Tig21c	18741	17515 (93,46)	1226 (6,54)
21Tig21d	19479	18139 (93,12)	1340 (6,88)
21Tig22a	10491	9587 (91,39)	904 (8,61)
21Tig22b	17191	15950 (92,78)	1241 (7,22)
21Tig22c	15442	14347 (92,91)	1095 (7,09)
21Tig22d	11325	10604 (93,64)	721 (6,36)
21Tig23a	17131	14861 (86,75)	2270 (13,25)
21Tig23b	26962	23854 (88,47)	3108 (11,53)
21Tig23c	22742	20629 (90,71)	2113 (9,29)
21Tig23d	19437	17693 (91,03)	1744 (8,97)
21Tig24a	15626	14293 (91,47)	1333 (8,53)
21Tig24b	9144	8300 (90,78)	844 (9,22)
21Tig24c	23508	21098 (89,75)	2410 (10,25)
21Tig24d	6836	6357 (93,00)	479 (7,00)
21Tig25a	9170	8689 (94,76)	481 (5,24)
21Tig25b	6240	5999 (96,15)	241 (3,85)
21Tig25c	7114	6910 (97,14)	204 (2,86)
21Tig25d	8744	8365 (95,67)	379 (4,33)
21Tig26a	6232	6032 (96,79)	200 (3,21)
21Tig26b	15955	15415 (96,62)	540 (3,38)
21Tig26c	18457	17996 (97,51)	461 (2,49)
21Tig26d	11243	10928 (97,2)	315 (2,80)
21Tig27a	12407	12099 (97,52)	308 (2,48)
21Tig27b	24521	23758 (96,89)	763 (3,11)
21Tig27c	26200	25772 (98,37)	428 (1,63)
21Tig27d	20930	20565 (98,26)	365 (1,74)
21Tig28a	15026	14938 (99,42)	88 (0,58)
21Tig28b	14925	14793 (99,12)	132 (0,88)
21Tig28c	10041	9966 (99,26)	75 (0,74)
21Tig28d	14060	13992 (99,52)	68 (0,48)

* 21 = período

Tig2 = titânio grau 2

1 a 8 = número do implante

a,b,c, e d = corte não descalcificado

Quadro 4: Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo Ti-6Al-7Nb, após 42 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total.

amostras	Área total em pixels	Área ossificação em pixels (%)	Área medular em pixels (%)
42Nb1a	12354	12349 (99,96)	5 (0,04)
42Nb1b	14181	14117 (99,55)	64 (0,45)
42Nb1c	14464	14115 (97,59)	349 (2,41)
42Nb1d	14260	13824 (96,95)	436 (3,05)
42Nb2a	16381	16003 (97,69)	378 (2,3)
42Nb2b	8603	8502 (98,83)	101 (1,17)
42Nb2c	10683	10121 (94,74)	562 (5,26)
42Nb2d	13242	12857 (97,09)	385 (2,91)
42Nb3a	13464	12869 (95,58)	595 (4,42)
42Nb3b	17431	17342 (99,49)	89 (0,51)
42Nb3c	18125	17791 (98,16)	334 (1,84)
42Nb3d	18850	18216 (96,64)	634 (3,36)
42Nb4a	15040	13647 (90,74)	1393 (9,26)
42Nb4b	6633	6124 (92,32)	509 (7,68)
42Nb4c	14190	13037 (91,88)	1153 (8,12)
42Nb4d	7739	7299 (94,32)	440 (5,68)
42Nb5a	18696	18477 (98,83)	219 (1,17)
42Nb5b	18721	18520 (98,93)	201 (1,07)
42Nb5c	8190	8029 (98,04)	161 (1,96)
42Nb5d	12493	12318 (98,60)	175 (1,40)
42Nb6a	22006	21461 (97,53)	545 (2,47)
42Nb6b	22702	20646 (90,95)	2056 (9,05)
42Nb6c	14835	13824 (93,19)	1011 (6,81)
42Nb6d	20866	19493 (93,42)	1373 (6,58)
42Nb7a	12457	12430 (99,79)	27 (0,21)
42Nb7b	17193	16536 (96,18)	657 (3,82)
42Nb7c	21343	19655 (92,10)	1688 (7,90)
42Nb7d	11910	11511 (96,65)	399 (3,35)
42Nb8a	14887	14237 (95,64)	650 (4,36)
42Nb8b	14850	13201 (88,9)	1649 (11,1)
42Nb8c	17110	16777 (98,06)	333 (1,94)
42Nb8d	13672	13348 (97,64)	324 (2,36)

* 42 = período

Nb = liga contendo Nióbio

1 a 8 = número do implante

a, b, c, e d = corte não descalcificado

Quadro 5: Dados obtidos após a análise morfométrica das imagens do grupo titânio grau 2, após 42 dias. Os valores de área total estão expressos em pixels. Os valores das áreas de ossificação e medular estão expressos em pixels e porcentagens (%) relativas a área total.

amostras	Área total em pixels	Área ossificação em pixels (%)	Área medular em pixels (%)
42Tig21a	27243	25182 (92,44)	2061 (7,56)
42Tig21b	19638	19267 (98,11)	371 (1,89)
42Tig21c	27911	26753 (95,85)	1158 (4,15)
42Tig21d	22697	21669 (95,47)	1028 (4,53)
42Tig22a	28590	28117 (98,35)	473 (1,65)
42Tig22b	19007	18665 (98,20)	342 (1,80)
42Tig22c	31537	31294 (99,23)	243 (0,77)
42Tig22d	20120	19417 (96,51)	703 (3,49)
42Tig23a	17645	16316 (92,47)	1329 (7,53)
42Tig23b	13385	13084 (97,76)	301 (2,24)
42Tig23c	15947	15302 (95,96)	645 (4,04)
42Tig23d	13652	13331 (97,64)	321 (2,35)
42Tig24a	19986	19688 (98,51)	298 (1,49)
42Tig24b	17951	17189 (95,76)	762 (4,24)
42Tig24c	12574	12199 (97,02)	375 (2,98)
42Tig24d	29763	29058 (97,63)	705 (2,37)
42Tig25a	11538	11472 (99,42)	66 (0,57)
42Tig25b	17201	16991 (98,78)	210 (1,22)
42Tig25c	13342	13304 (99,72)	38 (0,28)
42Tig25d	16743	16707 (99,79)	36 (0,21)
42Tig26a	11035	10844 (99,42)	191 (1,73)
42Tig26b	15492	14943 (96,46)	549 (3,54)
42Tig26c	12668	12212 (96,40)	456 (3,60)
42Tig26d	14471	13890 (95,99)	581 (4,01)
42Tig27a	14315	13830 (96,62)	485 (3,38)
42Tig27b	18395	17605 (95,71)	790 (4,29)
42Tig27c	13778	13086 (94,98)	692 (5,02)
42Tig27d	12674	12254 (96,69)	420 (3,31)
42Tig28a	19825	19274 (97,23)	551 (2,77)
42Tig28b	12363	12228 (98,90)	135 (1,10)
42Tig28c	11699	11616 (99,30)	83 (0,70)
42Tig28d	6186	6110 (98,77)	76 (1,23)

* 42 = período

Tig2 = titânio grau 2

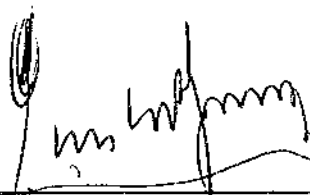
1 a 8 = número do implante

a,b,c, e d = corte não descalcificado

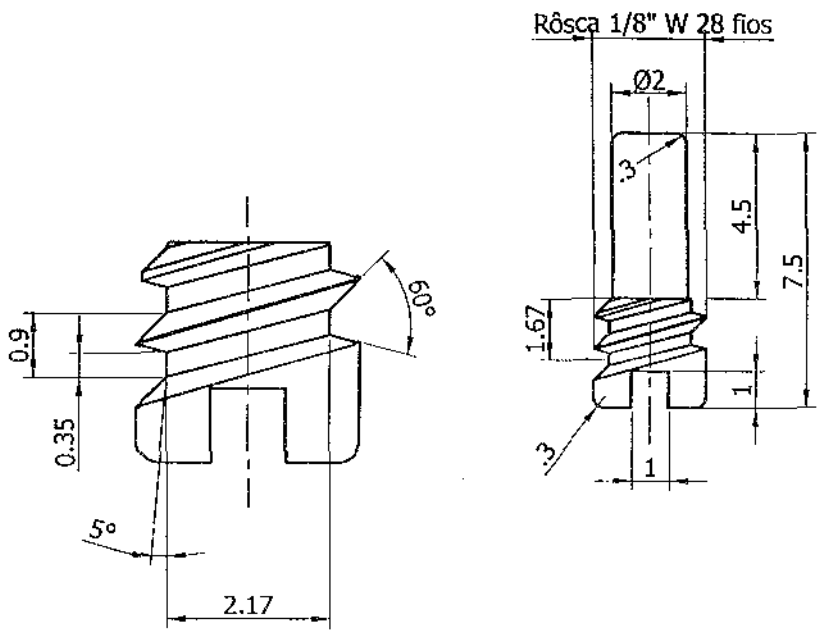
CERTIFICADO

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 027/2000-PA/CEP, sobre “Estudo da biocompatibilidade da liga Ti-6Al-7Nb e Titânio de Grau 2 em animais”, sob a responsabilidade de Dalton Reis Momose, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

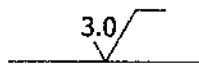
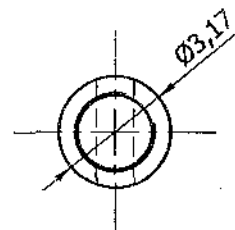
São José dos Campos, 21 de dezembro de 2000.



Prof. Dr. Paulo Villela Santos Junior
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa-Local



ESCALA: 10:1



				TITÂNIO	
ITEM	QUANT	TÍTULO		MATERIAL	DES. NÚMERO OU DIMENSÕES
M. Aer. DEPED CTA-IAE/AMR		PROJETO: CERÂMICOS ESPECIAIS			TOLERÂNCIA: $\pm 0,1$
		TÍTULO: PARAFUSO DA CORTICAL ÓSSEA			
PROJ.	Leonildo	DATA	30/10/00	ESCALA:	DES. NÚMERO
DES.	Leonildo	DATA	30/10/00	5:1	IAE / AMR - 3677
VISTO					

MOMOSE, D. R. Study of biocompatibility of the Ti-6Al-7Nb alloy and titanium grade 2 in rabbits. 2002. 96 pages. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal, Área de Concentração em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

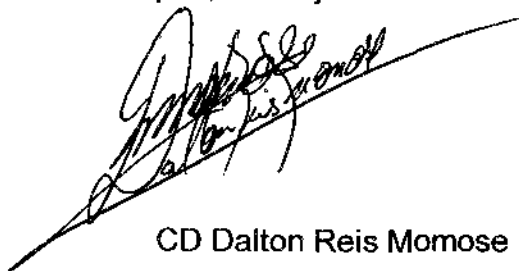
ABSTRACT

The aim of this work was to analyze bone tissue reaction concerning implants materials made of titanium alloy containing aluminum and niobium (Ti-6Al-7Nb) and compared with pure commercial titanium (grade 2). The essay was performed in 24 rabbits – New Zealand strain – about 3,5 Kg each and three and half months of age, in which were placed bodies test manufactured by powder metallurgical technology, and latter on trimmed to allow final dimensions around 2,0mm in diameter; 7,5mm in length and 1,67mm in screw saw, size enough to initial bone fixation. Four implants were placed on each animal: two Ti-6Al-7Nb into left tibia bone, distant 4cm from one each other, and last two grade 2 titanium into right tibia bone. The animals were sacrificed at different periods of time (21, 42 and 84 days), and the interfaces between implants and bone tissue were histologically analyzed in decalcified and non decalcified samples. Image from non decalcified samples were obtained, and then analyzed in a specific image software (Image G – NIH, USA). Area of new bone tissue formation between grooves were calculated. Data were statistically analyzed by ANOVA and Tukey test. Our results showed there were no statistical differences in bone tissue responses related to this two implant materials. Concerning to the analyzed period we should realized that in 21-days-samples a quite large amount of medullar spaces and woven bone were presented when compared with the others two periods. The following 42-days-samples and 84-days-samples did not show any differences among them. We may conclude that 21 and 42 days were sufficient enough time to analyze osseointegration over implants that did not submitted to functional stress. Finally, we may say that Ti-6Al-7Nb alloy showed similar behavior compared to grade 2 titanium, and therefore, it might be used in medicine for biological applications.

Keywords: biomaterials; alloy; osseointegration; grade 2 titanium.

Autorizo a reprodução xerográfica deste trabalho.

São José dos Campos, 25 de julho de 2002

A handwritten signature in black ink, written over a diagonal line. The signature is cursive and appears to read 'Dalton Reis Momose'.

CD Dalton Reis Momose