

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

CLÁUDIA MARQUES

TRATAMENTO DE SUPERFÍCIES DE IMPLANTES DE TITÂNIO

Rio de Janeiro

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

CLÁUDIA MARQUES

TRATAMENTO DE SUPERFÍCIES DE IMPLANTES DE TITÂNIO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias – D.C.

Rio de Janeiro

2007

C2007

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro - RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmar ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade da autora e do orientador.

| | |
|------|---|
| M357 | Marques, Cláudia Tratamento de Superfícies de Implantes de Titânio. - Rio de Janeiro : Instituto Militar de Engenharia, 2007. 107p : il., graf., tab. : - cm. Dissertação (mestrado) - Instituto Militar de Engenharia, 2007. 1. Titânio. 2. Implantes de Titânio, tratamento. I. Título. II. Instituto Militar de Engenharia CDD 620.189322 |
|------|---|

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

CLÁUDIA MARQUES

Tratamento de Superfícies de Implantes de Titânio

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Carlos Nelson Elias – D.C.

Aprovada em 30 de julho de 2007 pela Banca Examinadora:

Prof. Carlos Nelson Elias – D.C. do IME - Presidente

Prof. André Luiz Pinto – D. C. do IME

Prof. José Brant de Campos – D. C. do CBPF

Rio de Janeiro

2007

Ao meu namorado, Rodrigo, motivador permanente neste caminho que exigiu de mim o espírito de perseverança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que me incentivaram, apoiaram e possibilitaram esta oportunidade de ampliar meus horizontes.

Meus familiares, amigos, mestres e, especialmente aos Professores Elias, meu orientador e Brant, constante colaborador na busca por resultados.

Em especial aos meus pais, Sinésio e Maria Carmen e ao meu namorado Rodrigo, sempre prontos a darem o apoio incondicional.

Agradeço também aos funcionários do IME, principalmente ao técnico Joel, do laboratório de Microscopia e ao secretário Héctor, do laboratório de Biomateriais; à Bacharel em química Silvia, do CBPF; à CSN; à UFF-Volta Redonda, em especial ao doutorando Fábio; à UFRJ, por colaborarem diretamente para a realização do meu trabalho e à Conexão Sistema de Prótese e Implantes, a qual forneceu todas as amostras e à CAPES por viabilizar este trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE ILUSTRAÇÕES | 08 |
| LISTA DE TABELAS | 09 |
| LISTA DE ABREVIATURAS | 10 |
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 OBJETIVOS | 18 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 3.1 Resposta Tecidual dos Materiais | 19 |
| 3.2 Biomateriais e Titânio | 20 |
| 3.3 Tratamento da Superfície do Titânio | 23 |
| 3.3.1 Tratamento com CaO e Fosfato | 24 |
| 3.3.2 Tratamento com Flúor | 26 |
| 3.3.3 Bioatividade e Tratamentos Superficiais | 30 |
| 3.4 SBF..... | 34 |
| 3.4.1 História do SBF..... | 34 |
| 3.4.2 Cuidados para a Preparação do SBF | 36 |
| 3.4.3 Confirmação das Concentrações Iônicas do SBF | 37 |
| 3.4.4 Preservação do SBF | 37 |
| 3.4.5 Modelos de Fluídos Biológicos e Esterilização | 38 |
| 3.4.6 Modificações na Preparação do SBF | 42 |
| 3.4.6.1 Proposição de Müller | 42 |
| 3.4.6.2 Proposta de Barrere | 44 |
| 3.5 Efeitos do Tratamento de Superfície na Bioatividade do Titânio | 46 |
| 3.6 Osteoindução | 48 |
| 3.7 Osteocondutividade do Titânio Bioativo | 48 |
| 3.8 Superfície de Titânio Oxidada Anodicamente | 55 |
| 3.9 Superfície de Titânio Tratada com Solução de Cálcio | 61 |
| 3.10 Efeitos da Implantação de Flúor no Titânio..... | 64 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 3.11 | Efeitos da Titânia na Formação dos Compostos Bioativos..... | 65 |
| 3.12 | Rugosidade e Molhabilidade..... | 70 |
| 3.12.1 | Rugosidade | 70 |
| 3.12.2 | Molhabilidade..... | 76 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 79 |
| 4.1 | Preparação para a Solução de SBF | 79 |
| 4.2 | Preparação das Superfícies dos Implantes e Pastilhas de Titânio | 81 |
| 4.3 | Caracterização da Rugosidade, Morfologia e Molhabilidade | 82 |
| 4.4 | Imersão em SBF | 83 |
| 4.5 | Análise por Difração de RaioX e Observação no MEV..... | 83 |
| 5 | RESULTADOS..... | 85 |
| 5.1 | Rugosidade | 85 |
| 5.2 | Molhabilidade..... | 87 |
| 5.3 | Difração de RaioX | 87 |
| 5.4 | Análise no Microscópio Eletrônico de Varredura..... | 91 |
| 6 | DISCUSSÃO | 96 |
| 7 | CONCLUSÕES | 101 |
| 8 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 102 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-------------|---|----|
| FIG.3.4.5 | Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura..... | 40 |
| FIG.3.4.5.1 | Espectro EDS..... | 41 |
| FIG.3.7 | Superfície de titânio poroso..... | 50 |
| FIG.3.7.1 | Micrografias de MEV..... | 53 |
| FIG.3.7.2 | Avaliação em MEV dos poros do grupo AH-HCl | 54 |
| FIG.3.8 | Morfologia da superfície do titânio e oxidados anodicamente..... | 57 |
| FIG.3.8.1 | Superfície das amostras de Ti oxidadas anodicamente em H ₂ SO ₄ | 58 |
| FIG.3.8.2 | Morfologia da superfície das amostras de Ti imersas em SBF..... | 59 |
| FIG.3.9 | Difratograma das amostras de Ti não-modificada e Ti modificada..... | 62 |
| FIG.3.11 | Curva corrente x voltagem com tempo..... | 66 |
| FIG.3.11.1 | Imagens de MEV das superfícies das amostras..... | 67 |
| FIG. 3.11.2 | Modelo de difração de raioX dos filmes de titânia anódica..... | 67 |
| FIG.3.11.3 | Micrografias das amostras imersas em SBF por 20 dias..... | 68 |
| FIG.3.11.4 | Micrografias e perfis lineares de partículas precipitadas..... | 69 |
| FIG.4.1 | Precipitado de SBF no cilindro de titânio anodizado..... | 81 |
| FIG.5.1 | Perfis de rugosidade das amostras..... | 86 |
| FIG.5.3 | Difratograma das pastilhas de titânio com tratamentos superficiais | 88 |
| FIG.5.3.1 | Difratograma das pastilhas de titânio..... | 89 |
| FIG.5.3.2 | Difratograma das pastilhas de titânio com tratamentos..... | 90 |
| FIG.5.4 | Morfologia das superfícies originais de implantes e pastilhas..... | 91 |
| FIG.5.4.1 | Morfologia das superfícies dos implantes de titânio..... | 92 |
| FIG.5.4.2 | Morfologia das superfícies das pastilhas de titânio..... | 94 |
| FIG.5.4.3 | EDS de pastilhas de titânio com tratamento Vulcano..... | 95 |
| FIG.6.1 | Perfil da rugosidade das amostras analisadas..... | 97 |
| FIG.6.2 | Perfil da superfície de discos de titânio..... | 98 |
| FIG.6.3 | Difratograma da superfície dos implantes tratados com ac. acético..... | 99 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------|--|----|
| TAB.3.4.1 | Composição química do SBF..... | 36 |
| TAB.3.4.3 | Concentrações iônicas..... | 37 |
| TAB.3.4.5 | Composição iônica (mM) de HBSS, SBF e Plasma | 39 |
| TAB.3.4.6.1 | Soluções SBF propostas por Müller..... | 43 |
| TAB.3.4.6.2 | Composição (mM) do plasma sanguíneo humano (HBP)..... | 45 |
| TAB.4.1 | Quantidades e purezas dos reagentes..... | 80 |
| TAB.5.1 | Valores dos parâmetros de rugosidade | 85 |
| TAB.5.2 | Valores de ângulos de contato..... | 87 |
| TAB.6.1 | Parâmetros de rugosidade..... | 97 |
| TAB.6.2 | Parâmetros de rugosidade (Elias e cols.,2004)..... | 97 |
| TAB.6.3 | Valores de ângulos de contato (Elias e cols., 2005)..... | 99 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | | |
|--------|---|---|
| AAS | - | Atomic Absorption Spectrometry |
| AFM | - | Atomic Force Microscopy |
| ASTM | - | American Society for Testing Materials |
| CAPES | - | Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior |
| CBPF | - | Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas |
| CIP | - | Cold Isostatic Pressing |
| CSN | - | Companhia Siderúrgica Nacional |
| DMSO | - | Dimethylsulfoxide |
| EDS | - | Energy Dispersive Espctrometry |
| EDTA | - | Ethylene Diamine Terta-acetic acid |
| FHA | - | Fluoridated Hydroxyapatite |
| HBP | - | Human Blood Plasma |
| HBSS | - | Hank`s Balanced Salt Solution |
| IBED | - | Ion Beam-enhanced deposition |
| IME | - | Instituto Militar de Engenharia |
| MEV | - | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| PSHA | - | Plasma Spray Hydroxyapatite |
| RMGI | - | Resine Modified Glass Ionomer |
| SBF | - | Simulated Body Fluid |
| SEM | - | Scanning Electron Microscopy |
| TF-XRD | - | Thin-film X-ray Diffractometry |
| UFF | - | Universidade Federal Fluminense |
| UFRJ | - | Universidade Federal do Rio de Janeiro |
| XPS | - | X-ray Photoelectron Spectroscopy |

RESUMO

A substituição de ossos, articulações e dentes por biomateriais é usualmente feita em cirurgias para aliviar a dor e recuperar a função do tecido afetado. Boa resistência ao desgaste, boa resistência à corrosão no meio corpóreo, não provocar toxicidade e longa permanência no local são algumas das características que um biomaterial deve possuir para ter sucesso nas aplicações como implantes e próteses. Porém, no corpo humano a degeneração óssea, inflamações nas articulações, bem como o desgaste ou corrosão das próteses e implantes, freqüentemente trazem complicações clínicas. No presente trabalho, amostras de pastilhas e implantes dentários osseointegráveis na forma de cilindro com roscas, fabricados com titânio comercialmente puro ASTM grau 4 foram analisados com quatro tipos de superfícies usadas comercialmente: usinada, superfície tratada com ácido, superfície anodizada e superfície tratada com flúor. Os objetivos deste estudo foram comparar a influência dos tratamentos superficiais do Ti cp na deposição de íons após a imersão em solução de fluido corpóreo simulado; analisar a influência do tempo de imersão (10, 20 e 30 dias) das amostras de titânio na deposição de íons e avaliar as morfologias das amostras antes e após a imersão usando diferentes métodos de caracterização das superfícies (difração de raioX, MEV, rugosidade e molhabilidade). Os resultados mostraram que a superfície com melhor resultado de deposição de íons da solução foi a anodizada; apesar dos tempos de imersão terem sido relativamente baixos, observou-se um resultado significativamente positivo no que se refere aos tratamentos anodizado, com ácido e com flúor; nas amostras imersas em solução por 10 dias não houve significativa presença de precipitados.

ABSTRACT

The replacement of bones, articulations and tooth, for biomaterials are usually done in surgeries to relieve the pain and to recover the function of the affected tissue. High-wear resistance, high corrosion resistance in the human body environment, no toxicity and long time in the place are some the main characteristics that a biomaterial should present to have success in the application. However, in the human body the bone degeneration, inflammations in the articulations, as well as the wear or corrosion of the prostheses and implants, frequently happens and brings clinical complications. In the present work, samples of discs and screw dental implants manufactured with commercial pure titanium ASTM degree 4 were analyzed with four types of surfaces treatment used commercially: machined, acid etched, anodized and immersed in fluorine. The goal of this study had been compare the influence of the surface treatments of Ti cp in the deposition of íons after immersion in simulated corporeal fluid solution; to analyze the influence of immersion time (10, 20 and 30 days) of titanium samples in the deposition of íons and to evaluate the morphologies of the samples before and after the immersion in using different methods of characterization of the surfaces (X-ray diffraction, SEM, rugosity and wettability). The results had shown that the surface with better result of íons deposition from solution was the anodized one; despite the immersion times having been relatively low, a significantly positive result was observe for the treatments anodized, with acid and with fluorine; in the immersed samples per 10 days in solution it did not have significant presence of precipitated.

1 INTRODUÇÃO

Desde o século XVI, os materiais metálicos têm sido utilizados em aplicações como implante. Metais nobres como o ouro, a prata e a platina, em função de suas propriedades mecânicas inadequadas para a maioria das aplicações e devido ao custo elevado, tiveram sérias restrições.

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

O metal titânio e suas ligas têm sido usados com sucesso como biomateriais, devido às suas propriedades mecânicas, químicas, excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade (HAMADA et al., 2002). Um biomaterial é qualquer material, sintético ou natural, que pode ser usado como um sistema ou parte de um sistema que oferece, aumenta, ou substitua algum tecido, órgão ou função do corpo. Já a biocompatibilidade de um dispositivo médico implantável por longo período compreende a capacidade do dispositivo cumprir com sua função destinada, com o desejado grau de incorporação no hospedeiro, sem provocar efeitos local ou sistêmico indesejáveis (WILLIAMS, 1999). Os biomateriais devem possuir determinados requisitos essenciais, entre eles pode-se citar: biocompatibilidade, biofuncionalidade (é a capacidade de o material cumprir com uma reação apropriada a um hospedeiro específico) (WILLIAMS, 1999), bioadesão, propriedades mecânicas e químicas compatíveis com àquelas dos ossos.

Os estudos com ligas de titânio levaram à adição de diferentes componentes, tais como: zircônio, alumínio, nióbio, tântalo e platina, surgindo então novas ligas. Para acelerar os mecanismos envolvidos na osseointegração, os implantes de titânio são freqüentemente recobertos com hidroxiapatita e fosfatos de cálcio, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, dentre outros, visando promover uma ligação química com o osso (BARRERE et al., 2002). Entretanto, não está completamente explicada a resposta celular à camada de apatita e o titânio, especialmente as funções desenvolvidas pelo cálcio e o radical fosfato na interação entre as células e as camadas (FENG et al., 2004). De acordo com a literatura, o osso adjacente ao implante recoberto por hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, principal componente mineral do osso e do dente, é mais organizado que o osso adjacente aos materiais empregados como implante e

apresenta um grau de mineralização mais elevado. O recobrimento com hidroxiapatita (HA) vem sendo usado devido ao fato deste material cerâmico permitir que os implantes de titânio (Ti) ou suas ligas adquiram uma união osso-implante superior àquelas obtidas com superfícies de implantes sem recobrimento (SOUZA, 2003).

Desde que Brånemark et al. (1977) descreveram o mecanismo e os efeitos da osseointegração, há quase quatro décadas, diversas pesquisas biomédicas e de materiais têm procurado encontrar um desenho ideal da superfície de implante dentário capaz de garantir uma longa permanência de ancoragem ao tecido ósseo (VANZILLOTTA et al., 2006). Segundo Brånemark et al., a osseointegração consiste em uma conexão estrutural e funcional direta entre o tecido ósseo e a superfície de um implante submetido ao carregamento. O desenvolvimento da interface osso-implante depende das interações diretas da matriz óssea e dos osteoblastos (células produtoras de tecido ósseo) com os biomateriais. Além disso, a ligação celular parece ser muito sensível às variações na superfície de composição química e topografia do titânio (forma e rugosidade) comercialmente puro grau 4 (FENG et al., 2004). Características superficiais como: energia de superfície, rugosidade, topografia e aspectos químicos, como pH, são condições importantes para as interações do implante com o tecido ósseo do hospedeiro (NAYAB et al., 2005).

O processo de crescimento de células sobre a superfície do implante se faz tão dependente da variação de rugosidade, que implantes com superfície no estado como usinada apresentam proliferação de células, preferencialmente, ao longo das marcas de usinagem. Trata-se de uma rugosidade com forte direcionalidade. Em contrapartida, nas superfícies submetidas ao tratamento para mudança da morfologia e rugosidade observou-se uma menor direcionalidade quanto à rugosidade e, conseqüentemente uma melhor interação das células na superfície dos implantes. Outro aspecto a ser considerado em relação ao efeito da microestrutura superficial na adesão celular é o tipo de célula. Existem células com características de rugofilia, cujas superfícies rugosas são preferidas, como osteoblastos, macrófagos, células epiteliais e leucócitos e, células que são mais atraídas por superfícies lisas, como células gengivais (fibroblastos) (ELIAS et al., 2004).

Com o objetivo de criar substitutos biológicos para restaurar, manter ou melhorar a função de diversos tecidos, estratégias como a reposição através de material sintético e o uso de substâncias capazes de induzir células ou tecidos implantados em local apropriado são utilizadas. O tecido ósseo é um dos poucos tecidos com capacidade de regeneração. Isto se deve à habilidade dos fatores de crescimento em direcionar as células-tronco para as vias

condrogênica e osteogênica, e ao papel das forças mecânicas estimulando a remodelação óssea (SICCA et al., 2000).

Materiais bioativos, incluindo hidroxiapatita, bioglass e vidro cerâmico AW, possuem propriedades osteocondutivas, podendo aderir diretamente ao osso vivo, via camada de apatita. É reconhecido que biomateriais não têm caráter osteoindutivo na ausência de agentes osteoindutivos adicionais, tal como as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP). Porém, certos biomateriais com fosfato de cálcio foram reconhecidos por serem osteocondutores por possuírem uma estrutura específica porosa. Eles induzem a formação óssea em sítios extra-esqueléticos sem a necessidade de células osteogênicas adicionais ou BMP. A implantação em tecido mole não fornece prova conclusiva de indução óssea pelo biomaterial. Além disso, o mecanismo de osteoindução pela cerâmica de fosfato de cálcio (HA) não é claro. Como os biomateriais osteocondutores contêm o íon cálcio e o radical fosfato, são considerados os seguintes fatores importantes: a) composição química do biomaterial, b) propriedades de dissolução específica do material e c) a morfologia de sua superfície. Clinicamente, o desempenho ideal do biomaterial consiste em possuir capacidades de bioatividade e osteocondução, relacionadas com suas propriedades mecânicas e químicas (FUJIBAYASHI et al., 2004).

A osteoindução é uma das principais propriedades atribuídas aos enxertos ósseos. O termo refere-se ao processo pelas quais as células-tronco mesenquimais, presentes no tecido circunjacente ao local do enxerto, são induzidas ao processo de recrutamento, proliferação e diferenciação de células, visando a regeneração de determinado tecido. Esse processo pode ser desencadeado por uma série de substâncias, como por exemplo, os fatores de crescimento, considerados potentes indutores celulares (ALEXANDER, 1987; WEIGEL, 1996; MARTINEZ, 1999 in GIORDANO, ALMEIDA, 2003). Na osteoindução, as células mesenquimais são estimuladas a se transformarem em condroblastos e osteoblastos que produzem a matriz óssea mineralizada. Estas modificações são promovidas por vários fatores, incluindo as proteínas morfogenéticas do osso (BMP) (STEVENSON, 1998; MARTINEZ, 1999 in GIORDANO, ALMEIDA, 2003).

Por outro lado, a osteocondução define-se como um processo pelo qual o enxerto serve passivamente como arcabouço para migração de vasos sanguíneos e deposição de osso novo. Isto é, um processo de direcionamento da formação tecidual produzido por uma estrutura física. Além disso, a osteocondução pode resultar da osteoindução (ALEXANDER, 1987; WEIGEL, 1996; MARTINEZ, 1999 in GIORDANO, ALMEIDA, 2003). Os materiais

osteocondutores, geralmente inorgânicos, permitem aposição de um novo tecido ósseo na sua superfície, requerendo a presença de tecido ósseo pré-existente como fonte de células osteoprogenitoras (SICCA et al., 2000).

Outro termo importante para se conceituar é osteogênese. Este denota os elementos celulares do enxerto que sobreviveu ao transplante e estão ativamente produzindo osso novo (ALEXANDER, 1987 in GIORDANO, ALMEIDA, 2003). Entretanto, segundo Weigel (1996), embora algumas células do enxerto possam sobreviver à transferência, as principais fontes de células para esta fase são as células osteogênicas e osteoprogenitoras do hospedeiro. Os materiais osteogênicos, os quais são orgânicos, possuem capacidade de estimular a formação de osso diretamente a partir de osteoblastos (SICCA et al., 2000).

Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas na área odontológica, para modificar a morfologia da superfície de implantes com o intuito de modificar a rugosidade superficial, melhorar a biofixação endóssea, favorecer a cinética do processo de neoformação óssea e obter sucesso na osseointegração. Entre esses procedimentos pode-se citar: a) deposição de uma camada de hidroxiapatita; b) ataque ácido; c) jateamento com partículas de óxido de titânio (TiO_2); d) microranuras; e) oxidação anódica; f) implantação iônica (VANZILLOTTA et al., 2006) e g) jateamento seguido de imersão em ácido (ELIAS et al., 2004). Informações pré-clínica a respeito de jateamento com posterior ataque ácido em implantes de Ti comercialmente puros indicaram que a extensão da formação óssea nesta superfície é maior do que nos implantes comercialmente puros usinados, sem tratamento superficial (COOPER et al., 2006). Portanto, a importância do tratamento da superfície do implante é comprovada a partir de estudos, os quais demonstraram que o mecanismo de osseointegração de implantes apenas usinados, inicia-se ao seu redor e, não sobre a sua superfície. Portanto, a cicatrização no local desses implantes, ocorre a partir de um processo de mineralização gradativo em direção ao implante (SENNERBY e ERICSON, DELIGIANI et al. in ELIAS, 2004). A superfície de um implante somente usinado não é indutora, necessitando a deposição de materiais bioativos, os quais facilitarão a formação de pontes de cálcio e fósforo (ELIAS et al., 2004).

Nas aplicações do titânio, a implantação com íons de nitrogênio (nitretos) tem sido usada visando melhorar a resistência à corrosão e ao desgaste. Íons de cálcio (Ca^{++}) também têm sido implantados na superfície do Ti para aumentar a biocompatibilidade, resultando em aumento do crescimento ósseo in vivo. No entanto, a implantação de Ca^{++} não mostrou efeitos

benéficos na viabilidade ou na atividade funcional das células ósseas, no que diz respeito ao aumento da resistência à corrosão (NAYAB et al., 2005).

Outro processo que pode ser utilizado para verificar se houve ou não formação de tecido ósseo em torno do implante dentário, é analisando o efeito do íon flúor (F^-) na superfície do implante jateada com partículas de TiO_2 . Segundo COOPER et al. (2006), o tratamento do implante jateado com íon flúor aumenta a aderência osteoblástica e, com isso, ocorre o aumento do contato osso-implante. Através da avaliação morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV), observou-se uma proliferação celular maior, em 24 horas, nas superfícies tratadas com íon flúor em relação àquelas sem flúor. Portanto, o tratamento com flúor tem sido utilizado para aumentar a taxa de proliferação das células osteoblásticas.

Além daqueles processos mais comuns de modificação da superfície do titânio a fim de obter melhor osseointegração, outros processos especiais também tem sido utilizados, como a imersão do titânio ou suas ligas em soluções aquosas, por exemplo, de NaOH (hidróxido de sódio) e H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) (HAMADA et al., 2002). Ultimamente, um método simples para estimar o potencial de envolvimento do osso com diferentes materiais consiste na imersão desses biomateriais no fluido corpóreo simulado (SBF). De acordo com Kokubo et al. (2006), um requisito essencial para o crescimento ósseo in vivo no material sintético é a formação de uma camada de hidroxiapatita sobre a superfície do biomaterial. Esta apatita permite a ativação de sinais das proteínas e células para iniciarem a cascata de eventos que resultam na formação óssea.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são:

- a) Comparar a influência de tratamentos químicos superficiais (ataque com ácido, tratamento em solução contendo fluoretos e anodização) do Ti comercialmente puro grau 4 na deposição de íons após a imersão em solução SBF;
- b) Analisar a influência do tempo de imersão (10, 20 e 30 dias) das amostras de titânio na deposição de íons e,
- c) Avaliar as morfologias das amostras antes e após a imersão em SBF usando diferentes metodologias de caracterização das superfícies (difração de Raios-X, microscopia eletrônica de varredura, rugosidade e molhabilidade).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Pacientes podem sofrer dor e perda parcial ou completa da funcionalidade de partes do corpo devido às doenças degenerativas e inflamatórias. Em alguns casos é aconselhável o uso de implantes e enxertos. A substituição de ossos, articulações e dentes por biomateriais é usualmente feita em cirurgias para aliviar a dor e recuperar a função do tecido afetado. A exigência por uma qualidade de vida e o desenvolvimento de novos biomateriais utilizados em cirurgias ortopédicas reduziram drasticamente a rejeição do organismo hospedeiro, mas principalmente evitaram infecção a curto prazo, melhoraram a biocompatibilidade a longo prazo e permitiram determinar as limitações dos materiais. Boa resistência ao desgaste, boa resistência à corrosão no meio corpóreo, não provocar toxicidade ao corpo e longa permanência no local são algumas das principais características que um biomaterial deve possuir para ter sucesso na aplicação. Porém, no corpo humano a degeneração óssea, inflamações nas articulações, bem como o desgaste ou corrosão das próteses e implantes, frequentemente ocorrem e trazem complicações clínicas (HE e HAGIWARA, 2006).

3.1 RESPOSTA TECIDUAL DOS MATERIAIS

Antes das aplicações os biomateriais são freqüentemente analisados e testados “in vitro” e “in vivo” quanto às suas propriedades osteocondutivas e indutivas. Para a osteoindução é necessário haver células capazes de se diferenciarem em células formadoras de osso. O parâmetro mais confiável para a diferenciação final e formação óssea consiste na produção de células intermediárias controladas pela matriz extracelular calcificada. Nos estudos dos biomateriais, a quantidade de matriz mineralizada formada no material só é confiável quando comparada à capacidade osteoindutiva dos materiais. Um dos métodos empregados para avaliar a capacidade osteoindutiva do biomaterial é através do emprego de soluções simuladoras do meio corpóreo. Nestes ensaios é importante estar certo que a deposição de minerais não é consequência de precipitações espontâneas devido aos altos níveis de íons de cálcio e fosfato existentes na solução empregada no estudo, mas sim, um processo de células intermediárias ocorrendo sob condições fisiológicas que têm sido equivalente à “ossificação

in vivo”. Calcificação distrófica do biomaterial deve ser distingüida da mineralização metabólica de células intermediárias. Diferentes parâmetros de expressões precoces (avaliação de níveis de fosfatase alcalina e formação de colágeno tipo 1 (um)) e tardias (osteocalcinas) de osteoblastos foram correlacionados. Segundo Declercq (2005), um meio deve ser criado para atrair o potencial de formação de células ósseas. Essas células devem receber a correta estimulação para sintetizar e mineralizar a matriz extracelular orgânica controlada durante o percurso. Nas avaliações da capacidade osteoindutivas dos biomateriais executadas “in vitro” freqüentemente são usadas linhas de células osteoblásticas, bem como células primárias. Como parâmetros para o potencial osteoindutivo de biomateriais, células são analisadas nos níveis de expressão de fosfatase alcalina, síntese de colágeno e potencial de mineralização. A base da diferenciação final das células em osteoblastos é a formação da matriz extracelular calcificada. Entretanto, a deposição de sais de cálcio não ocorre somente no processo de ossificação, mas também em tecidos degradados e necróticos (calcificação distrófica ou não-metabólica). Especialmente, quando cultivam-se células diferenciadas. Normalmente, a cultura pode vir acompanhada por precipitações de sais de cálcio, os quais não são representativos para a formação óssea. Além disso, os altos níveis de fosfatase alcalina criam a possibilidade de ocorrer secreção, resultando na clivagem de β -glicerofosfato e subseqüentemente na precipitação não específica do mineral (DECLERCQ et al., 2005).

3.2 BIOMATERIAIS E TITÂNIO

Diversos biomateriais têm sido utilizados em cirurgias ortopédicas e odontológicas. Outras aplicações incluem dispositivos de fixação de vértebras, discos vertebrais, além de stents cardiovasculares. As listas dos biomateriais incluem os aços inoxidáveis, ligas Co-Cr-Mo, ligas de titânio e outras ligas com aplicações específicas, como Au-Pd. O titânio e as ligas à base de titânio possuem biocompatibilidade, resistência à corrosão, baixo módulo de elasticidade e baixa densidade. Devido a estas qualidades, o titânio é o material de escolha para as cirurgias de implantes odontológicos e ortopédicos. A forma do implante é outro fator importante a ser considerado para a substituição do tecido duro, pois havendo concentração de tensão, o fenômeno de reabsorção do osso natural pode acontecer, promovendo o enfraquecimento da interface osso-implante, esta é a causa principal do insucesso da osseointegração. Quando isso ocorre é necessário realizar uma cirurgia de

reparo e reavaliar toda a metodologia aplicada. Uma causa bem documentada de insucesso de próteses ortopédicas é a necrose óssea, esta tem sido associada à degradação da prótese e liberação de fragmentos dos componentes articulares para o meio. Alguns desses fragmentos migram para a região do implante e, com isso facilitam a morte de células ósseas (osteoblastos) (RACK e QAZI, 2006).

O titânio comercialmente puro e as ligas de Ti, como Ti-6Al-4V, são freqüentemente usadas em cirurgias ortopédicas. O módulo de elasticidade do titânio e da liga Ti6Al4V varia entre 100 e 120GPa e do osso entre 10 e 30GPa. A diferença do módulo de elasticidade da prótese e do osso é desfavorável para a saúde do osso e seu remodelamento. Para resolver este problema e melhorar as propriedades mecânicas e biológicas, novas ligas de titânio têm sido desenvolvidas para aplicações biomédicas. O método normal para se conseguir um melhor desempenho das ligas de titânio quanto às propriedades mecânicas e biológicas é modificar sua composição. Alguns elementos que formam a fase β , como Nb, Ta, Mo e Zr e, outros que estabilizam a fase β , como Fe, Cr e Sn são usualmente adicionados nas ligas de titânio para formar completa ou parcialmente a estrutura- β , a qual possui baixo módulo de elasticidade e contribui para diminuir a diferença entre o módulo de elasticidade da liga e do osso. Além disso, certos elementos de liga como Cu, Co, Ni e Si são utilizados para aumentar a resistência mecânica das ligas.

As ligas biomédicas de Ti modificadas também exibem alta resistência ao torque. Quando o tamanho do grão é reduzido em escala nanométrica, a resistência à deformação aumenta significativamente. Por outro lado, a fração volumétrica do contorno de grão irá também aumentar significativamente e alterar outras propriedades. Para as ligas com tamanho de grão em escala nanométrica, devido à alta quantidade de defeitos (como vacâncias, discordâncias) é esperado ter no contorno do grão menor módulo de elasticidade do que nos interiores dos grãos. Portanto, o contorno de grão também contribui para reduzir o módulo de elasticidade da liga. A fase β -dendrítica contribui com a plasticidade e o baixo módulo de elasticidade, enquanto a matriz (constituente de fases eutéticas) contribui para aumentar a resistência mecânica. Em ligas de Ti livres de níquel (como Ti-Cu-Fe(Co)-Sn-Nb) é possível obter uma microestrutura bimodal, a qual também exhibe resistência ao torque e baixo módulo de elasticidade, revelando que essas ligas possuem potencial para aplicações biomédicas (HE e HGIWARA, 2006).

Os efeitos dos métodos de passivação no comportamento da dissolução do Ti-6Al-4V foram estudados e observou-se que há redução significativa da taxa de dissolução do íon, a

que foi atribuída à presença da fase de transição anatásio-rutilo na superfície do óxido. Chang e Lee estudaram os efeitos químicos da liga de Ti e características nanosuperficiais (características químicas da nanosuperfície dos óxidos, grupo hidroxila anfótero adsorvido nos óxidos e espessura dos óxidos) na biocompatibilidade “in vitro” do Ti-6Al-4V em termos de adsorção de cálcio (Ca) e fósforo (P), assim como a dissolução de íon em SBF. O estudo mostrou que as amostras modificadas possuíam menor percentual de Alumínio e Vanádio nos óxidos da nanosuperfície em comparação com a liga Ti-6Al-4V e, também indicou que os elementos químicos cobre (Cu) e níquel (Ni) não mudaram a capacidade de adsorção de Ca e P, quando comparadas com amostras imersas por 16 dias em solução Hank EDTA. No entanto, a diferença na espessura não pareceu exercer uma influência significativa na adsorção de Ca e P após 16 dias imersos em SBF.

O titânio comercialmente puro com baixo teor de ferro (Fe) minimiza as interações adversas entre o implante e o corpo humano. Apesar desses atributos positivos, a resistência mecânica do Ti cp permanece abaixo do limiar normal considerado para substituição de tecido duro. Na verdade, o desejo de aumentar a resistência mecânica dos implantes tem levado ao aumento do uso de Ti cp grau 4 para biodispositivos, pois o titânio grau 4 tem maior resistência mecânica do que o grau 2 devido a maior quantidade de oxigênio e ferro em solução sólida.

Yao et al. mostraram que a estrutura de granulação ultrafina do titânio comercialmente puro grau 2, influencia na funcionalidade das células “in vitro” cultivadas na superfície do implante. Esse resultado fornece evidência do aumento da adesão osteoblástica após 4 horas exposta no titânio cp com grão ultra-fino, comparado ao titânio convencional grau 2. Os autores sugeriram que esses resultados podem ser relatados pelo aumento do número de contornos de grãos em locais de materiais com granulação ultra-fina ou para um aumento na atividade local reativa promovendo adesão celular (RACK e QAZI, 2006).

Os implantes removidos do organismo humano apresentam clara correlação entre a corrosão do metal e a resposta tecidual. Além disso, os íons liberados pela degradação da prótese podem afetar a resposta celular em locais saudáveis do corpo humano. O efeito da dissolução dos íons depende da taxa de difusão, através da camada de óxidos do metal e da dissolução dos óxidos. A resistência superior à corrosão do Ti em relação a outros metais tem sido atribuída pela existência de uma fina e estável camada de óxido passivante de TiO_2 (óxido de titânio). Apesar das características dos óxidos dos metais em termos químicos,

presença de grupo hidroxila anfótero adsorvido e a espessura da camada de óxidos serem importantes na biocompatibilidade dos materiais, elas não são totalmente compreendidas.

A camada de TiO_2 hidratada é conhecida por possuir no mínimo dois tipos de grupos hidroxila. A hidroxila acidífera com oxigênio duplamente coordenado com o Ti e o grupo Ti-OH básico, simplesmente coordenado. O grupo OH acidífero tende a agir como um cátion no local da troca, enquanto o grupo básico da OH pode agir como um ânion no local da troca. Healy e Ducheyne sugeriram que o Ti não possuía contato direto com o sistema biológico, ao contrário, ele tinha uma transição gradual de volume do metal: óxido estequiométrico, Ca e P substituídos por óxido hidratado, lipoproteína adsorvida, glicolípídeos, proteoglicanas, filamentos de colágeno e feixes para células. Alguns trabalhos detectaram o aumento de espessura do óxido com o tempo de implantação.

3.3 TRATAMENTOS DA SUPERFÍCIE DO TITÂNIO

Titânio e hidroxiapatita são largamente usados na odontologia como biomateriais. O titânio possui resistência à corrosão em fluidos fisiológicos, enquanto a hidroxiapatita possui a capacidade de interagir quimicamente com o tecido ósseo humano. No entanto, os materiais cerâmicos apesar de possuírem superfície bioativa não podem ser usados como implantes devido a sua fragilidade. Por outro lado, o titânio tem boas propriedades mecânicas, porém sua interação com os tecidos não é tão alta como a hidroxiapatita e fosfatos de cálcio. O titânio forma espontaneamente uma camada de fosfato de Ca durante a exposição em SBF, porém a espessura da camada é muito fina, após 30 dias em solução de fluido corpóreo (SBF), a espessura dessa camada é de aproximadamente poucos nanômetros. Modificando-se a superfície do titânio, a formação de hidroxiapatita pode ser aumentada. Um dos métodos usados para a modificação da superfície do titânio é a implantação iônica. A técnica de implantação iônica é útil para produção de camadas superficiais mais reativas, as quais são integradas no substrato e possuem uma composição específica. Hanawa et al. constataram que a implantação de cálcio melhora a capacidade do titânio induzir a formação de precipitados de fosfato de cálcio. Porém, as avaliações da resistência à corrosão após a implantação de cálcio na superfície do titânio mostraram que há formação de “pites” de corrosão durante a polarização anódica.

3.3.1 TRATAMENTO COM CaO E FOSFATOS

A capacidade de alguns materiais cerâmicos, entre eles os fosfatos de Ca, de se ligarem aos tecidos ósseos é atribuída às propriedades de seus componentes CaO e P₂O₅. Por conseguinte, pode-se esperar que com o enriquecimento da camada de óxido da superfície do titânio com CaO e P₂O₅ é possível aumentar a capacidade de haver a nucleação do fosfato de cálcio. Na análise de espectroscopia de fotoelétron de raio X do cálcio implantado no titânio revelou que o cálcio implantado possui a forma de CaO, enquanto o fósforo implantado no titânio está parcialmente oxidado. Espera-se que a implantação em dois passos, a primeira implantação com cálcio e a segunda com fósforo, permita formar uma superfície mais bioativa.

Wieser et al. avaliaram o efeito da implantação de cálcio e fósforo, em duas etapas, na composição química da camada da superfície do titânio e constataram que na camada havia formado óxido de cálcio, porém não tinha fosfato de cálcio. Pham e colaboradores estudaram a bioatividade do titânio sujeito a implantação de cálcio e fósforo seguido de aquecimento a 500°C em atmosfera de oxigênio. A camada de superfície obtida foi enriquecida com CaO e P₂O₅ e, quando imersa em solução simulada de fluido corpóreo mostrou maior capacidade de nucleação da hidroxiapatita, em relação ao titânio não modificado. A implantação em dois passos de íons cálcio e fósforo sobre o titânio tem sido bem combinada com vários tratamentos de implantação com o objetivo de produzir camadas contínuas de hidroxiapatita.

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

A profundidade de penetração do oxigênio é menor do que dos elementos implantados. Enquanto a profundidade de penetração do cálcio é de aproximadamente 100nm, a do

fósforo é de 60nm e a do oxigênio é menor. A concentração máxima de cálcio encontra-se na superfície e é constante até a profundidade de 30nm, o que sugere o local onde se realiza a reação química com o titânio. Os perfis de concentração dos elementos presentes na camada de superfície depois de expostos à solução SBF indicou que a composição da superfície da amostra foi alterada. As concentrações dos principais elementos (Ti e Ca) diminuíram, o contrário ocorreu com as concentrações do fósforo e oxigênio. Essas mudanças podem ser atribuídas à formação de precipitados de fosfato de cálcio (KRUPA et al., 2005). Portanto, é provável que a modificação da camada de superfície pela implantação dos íons de cálcio e de fósforo melhore a resistência à corrosão e a bioatividade do titânio. Embora as doses de cálcio e fósforo fossem as mesmas (10^{17} íons/cm²), a concentração de cálcio na superfície foi quatro vezes maior do que a do fósforo. A concentração de cálcio é constante abaixo da profundidade de aproximadamente 20nm; isso sugere que o cálcio presente na camada está na forma de composto químico. Através das análises em XPS (espectroscopia fotoelétron de raio X), mostrou-se que este composto era CaO (óxido de cálcio) e, que durante a implantação, parte do fósforo resistiu à oxidação e outra parte ocorria em forma de fosfatos. Espera-se que a presença de CaO e PO₄⁻³ ou P₂O₅ estimule a precipitação de fosfato de cálcio pela solução SBF.

As avaliações da capacidade de nucleação da hidroxiapatita na superfície do titânio têm mostrado que a nucleação depende da quantidade de grupos hidroxila presentes na superfície do titânio. Hanawa et al. observaram que a quantidade de grupos hidroxila na superfície do titânio com cálcio implantado é maior que no titânio não-implantado. O mecanismo de formação de fosfatos de cálcio na superfície metálica de titânio ocorre em dois estágios: primeiro, há a adesão do íon fosfato da solução ligado ao grupo hidroxila através do envolvimento com o hidrogênio e, então os íons fosfatos atraem os íons de cálcio da solução. A maior quantidade de grupos hidroxilas na superfície, o maior número de fosfato adsorvido e, por sua vez, o maior número de íons cálcio atraídos da solução têm como consequência, o aumento do número de precipitados. Quando há presença de cálcio na camada implantada, gradativamente ocorre difusão na região ao redor da solução, levando ao aumento do pH e da concentração de cálcio na superfície do titânio e, com isso ocorre a nucleação dos fosfatos de cálcio (KRUPA et al., 2005).

Por outro lado, pesquisadores também constataram que a aplicação de potenciais acima de 2,5 V o cálcio implantado no titânio fica sujeito a “pite” de corrosão. Por essa razão, começou-se a implantar fósforo, o qual é um constituinte dos fosfatos.

Ferdjani e colaboradores avaliaram a distribuição do fósforo na camada implantada com dose de 5×10^{16} P⁺/cm² e energia de 130 keV. Os átomos de fósforo ocupam os sítios intersticiais nessa camada. O efeito da implantação do íon fósforo na superfície do titânio sobre a composição química da camada implantada foi avaliado através de amostras implantadas com doses de 1×10^{15} a 3×10^{17} P⁺/cm² com uma energia de 20 keV. Observou-se que em doses abaixo de 10^{16} , o fósforo não apresenta reação química com o titânio, enquanto que em doses equivalentes e acima de 10^{17} P⁺/cm², há formação de uma nova fase TiP. A quantidade da fase TiP aumentava de acordo com o acréscimo da dose de fósforo. Os efeitos da energia do íon fósforo e a dose de fósforo na composição química, além da estrutura da camada implantada na superfície foram analisados por Wieser et al. Os parâmetros que eles usaram para a implantação foram de 3×10^{17} P⁺/cm² com energia de 30 keV e 5×10^{17} P⁺/cm² com uma energia de 195 keV. A espessura da camada implantada era de 60nm com uma energia de 30 keV e, 250nm com uma energia de 195 keV. Pela análise de difração de raio X, não se identificou compostos químicos de fósforo, mas sim uma camada superficial parcialmente amorfa (KRUPA et al., 2002).

3.3.2 TRATAMENTO COM FLÚOR

A presença da camada de óxido de titânio estável e densa formada na superfície do Ti é responsável pela resistência à corrosão do metal em relação aos fluidos corpóreos. Os íons de flúor são agressivos à camada de óxido protetora do titânio e suas ligas (LIN e YEN, 2006). Por isso, os fluoretos contidos nos cremes dentais comerciais e géis profiláticos usados oral e topicamente para prevenir cáries dentais ou aliviar a sensibilidade devem ser limitados a 0,1-2% (1000-20000 ppm). A presença de íons flúor tópicos pode iniciar uma severa degradação do Ti e suas ligas através do processo de corrosão. No entanto, outro método usado para aumentar a biocompatibilidade do Ti é o contato de sua superfície com o íon flúor e seus compostos (Huang, 2003).

Turpin et al. in Huang (2003) estudaram a influência dos cimentos fluoretados acidificados (como os cimentos de ionômero de vidro) na passivação do Ti. Observaram que os cimentos de ionômero de vidro fluoretados aumentavam a suscetibilidade do Ti à corrosão. Quando o flúor está presente na saliva artificial, o tempo para ocorrer a falha por fadiga do metal é significativamente reduzido, provavelmente por causa da ocorrência de

“pites” de corrosão provocados por reações superficiais. Em uma área em que os íons de flúor não estão presentes, o Ti resiste ao processo de corrosão na forma de fendas e “pites” para valores baixos de pH. Acrescentando flúor na solução faz-se com que o Ti possua maior potencial ativo e menor resistência à corrosão.

Segundo Di Carlo et al. in Huang (2003), as próteses dentárias poderiam ser atacadas topicamente por gel contendo flúor em soluções Ringer neutra e ácida. Isso foi comprovado a partir de uma solução contendo mais do que 20ppm de flúor, o que pode levar a destruição da camada de óxido protetora formada na superfície do titânio. Bosker et al. relataram que 20ppm de flúor poderia causar corrosão por desgaste na superfície do metal e, apresentar “pites” de corrosão após imersão em cremes dentais contendo flúor e maior extensão de corrosão pós-imersão em gel fluoretado. De acordo com Nagakawa et al. in Huang (2003), quando a concentração de fluoreto de sódio (NaF) na solução é maior do que 30ppm, a passivação do filme de óxido de titânio é destruída. Horasawa e Marek in Huang afirmaram que há descoloração do titânio em solução com 1% de cloreto de sódio (NaCl), bem como em baixas concentrações (5-15mg/cm²) de íons de flúor liberados pelo uso de cimentos de ionômero de vidro dental.

Sabe-se que logo após a cirurgia há a formação de uma camada de proteínas adsorvida na superfície do implante dentário quando o material desse implante é introduzido na cavidade oral. A presença dessa camada de proteína pré-adsorvida é muito importante para a biocompatibilidade do implante. Portanto, as proteínas que naturais da saliva humana podem ter influência significativa na resistência à corrosão dos implantes de Ti e suas ligas (Huang, 2003).

Segundo Cook et al. in Huang (2003), em relação ao Ti cp, Ti₁₃Nb₁₃Zr e Ti₆Al₇Nb, a liga Ti-6Al-4V apresenta menor perda de peso pela degradação por corrosão quando testada em uma solução salina contendo albumina em relação à solução somente salina. A proteína albumina bovina em fosfato no estado-tampão (PBS) aumenta a resistência à corrosão do Ti-6Al-4V, no entanto induz maior corrosão nas ligas Ti-13Nb-13Zr e Ti-6Al-7Nb. A adição da proteína albumina na solução PBS reduz a influência do pH na corrosão da liga Ti-6Al-4V. Quando se lava a cavidade oral, após o uso de creme dental ou gel profilático contendo flúor, o teor de proteínas naturalmente presentes na saliva reduz e a resistência à corrosão das ligas odontológicas nos meios orais é alterada. Observa-se que as curvas de polarização potenciodinâmicas da liga Ti-6Al-4V na saliva artificial contendo flúor, com e sem adição de albumina, exibem comportamento de transição de ativo para passivo, exceto

quando a concentração de NaF é aumentada acima de 0,5%. Aumentando a concentração de NaF entre 0,01% e 0,5% há redução na resistência à corrosão, isto é, ocorre maior corrosão, especialmente em alta concentração de NaF ($\geq 0,15\%$). A adição de albumina entre 0,01 e 0,2%, aumenta a resistência à corrosão no meio fluoretado e independe da concentração de F. Além disso, a proteção do filme passivo de TiO_2 na liga Ti-6Al-4V é destruída pelos íons de flúor através da formação de Na_2TiF_6 , quando a concentração de NaF é superior a 0,1%. Este comportamento é evitado pela adsorção de albumina dentro da superfície do metal através do mecanismo de ligação do cálcio (HUANG, 2003).

É desejável a liberação de flúor pelos materiais usados em aplicações odontológicas, como anteriormente citadas. Isso porque, materiais que liberam grande concentração de flúor possuem também grande potencial de prevenção das cáries. O ionômero de vidro é um material largamente aceito e que satisfaz bem os requisitos para a aplicação odontológica. No entanto, possuem a desvantagem de ter baixa resistência à fratura. Por isso, seu uso é limitado em áreas com baixas tensões. Já o ionômero de vidro modificado com resina (RMGI) é um material semelhante à resina compósita, com propriedades físicas aceitáveis e a liberação de flúor é comparável ao do ionômero de vidro convencional. Uma maneira de atingir isso é incorporar flúor inorgânico, como NaF, no sistema de monômero. Este método depende, sobretudo, da difusão de água a partir da dissolução da matriz do polímero do composto de flúor, com subsequente migração externa do flúor. Porém, essa migração pode provocar vazios na matriz e, com isso, enfraquecer a estrutura do material. Outro caminho seria pela dispersão na matriz polimérica, de agentes solúveis em água. A difusão da água na matriz polimérica pode resultar na liberação de íon de flúor. Mas, devido à baixa solubilidade ocorre perda de volume e, através da porosidade é possível ocorrer a liberação de flúor. Para impedir a saída do flúor, este deve ser encapsulado em material insolúvel e preencher a matriz polimérica. Mesmo em materiais com trincas, a liberação de flúor ocorre, porém ao longo do tempo a concentração de flúor liberada será menor se comparada com a do ionômero de vidro convencional. O flúor orgânico vem sendo avaliado como aditivo para matrizes poliméricas (Glasspoole, Erickson e Davidson, 2001).

Kadoma et al. in Glasspoole (2001) descreveram o uso de co-polímeros de flúor metacrilol (MF)-metil metacrilato (MMA), nos quais a hidrólise do grupo de ácido fluorídrico resulta na liberação de flúor. Esta é baseada no sal acrílico-amino-HF, pelo qual o flúor pode ser liberado pelo ataque de outro íon negativo ao redor dos fluidos. As taxas de liberação do flúor variam entre 6 e $9\mu\text{g/g/dia}$ e são detectadas nos compostos contendo t-

butilamino etil metacrilato ácido fluorídrico (t-BAEMA/HF). Hamer e Suh estenderam o trabalho de Rawls para substituir o flúor com morfolinoetil metacrilato ácido fluorídrico (MEM/HF) com a liberação de flúor do co-monômero. Observaram que este monômero possui aproximadamente liberação de flúor duas vezes maior. Aasen et al. in Glasspoole (2001) exploraram a influência de baixas concentrações do composto flúor nos sistemas de monômero e observaram liberação de flúor inferior a dos ionômeros de vidro convencionais. Já, Glasspoole, Erickson e Davidson usaram altos níveis do composto flúor com duas formulações de monômero. A liberação de flúor pelos dois sistemas de monômeros, cada um contendo 15% em peso de flúor orgânico foi medida por 13 dias. Os valores cumulativos em 13 dias foram de 3,08 e 4,36 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. A solubilidade inicial e os testes de liberação de flúor indicaram claras vantagens do sistema de monômero mais hidrofílico, BisGMA/HEMA, em relação ao sistema BisGMA/TEGDMA. As vantagens estão na capacidade de incorporar mais flúor orgânico e aumentar a taxa de liberação desse flúor. Com isso, espera-se uma redução nas propriedades físicas devido à necessidade de um cruzamento de agentes eficiente como o TEGDMA. Além disso, foi esperado que as propriedades físicas se adequassem às aplicações odontológicas. A primeira diferença entre o composto experimental e os ionômeros de vidro é que o composto tem uma taxa de liberação de flúor linear, enquanto o ionômero de vidro apresenta uma taxa de liberação alta e precoce, a qual diminui com o passar do tempo. As taxas de liberação de flúor têm sido analisadas em sistemas poliméricos utilizando aditivos de flúor orgânico, assim como pelo fluoralumínio silicato de vidro adicionado à matriz resinosa. A quantidade liberada de flúor cumulativa pode não ser a melhor medida da eficiência de liberação de flúor pelo material, ao contrário, o melhor indicativo são as taxas de liberação de flúor. Para as primeiras duas semanas, a taxa de liberação de flúor pelo ionômero de vidro excede àquela do composto experimental. Já, após duas semanas, o composto experimental apresentou liberação semelhante ou maior que os ionômeros de vidro avaliados. Portanto, para uma longa proteção contra a desmineralização, o composto experimental forneceu proteção comparável ou melhor do que àquela apresentada pelos ionômeros de vidro. A queda precoce da liberação do flúor pelos ionômeros de vidro pode também fornecer benefícios ao longo do tempo, desde que as lentas liberações sejam mantidas. Uma aplicação desse material é usá-lo ao redor dos bracktes ortodônticos com o objetivo de controlar a desmineralização próxima a eles. A alta taxa de liberação de flúor acima de um ano ajusta-se com o tempo de

tratamento ortodôntico e as propriedades físicas são adequadas para determinadas aplicações (GLASSPOOLE, ERICKSON e DAVIDSON, 2001).

3.3.3 BIOATIVIDADE E TRATAMENTOS SUPERFICIAIS

Na última década, diferentes modificações na superfície do titânio foram empregadas para obter implantes com maior capacidade de envolvimento com o osso. A alta bioatividade do titânio deve-se basicamente ao tratamento de superfície e, conseqüentemente à formação da camada de óxido de titânio, a qual favorece o envolvimento do titânio com o osso natural após a imersão em solução de fluido corpóreo simulado. Diversas técnicas para a preparação do filme de titania TiO_2 , como oxidação anódica, oxidação térmica, tratamento químico, sol-gel e deposição de feixe acrescido de íon (IBED) têm sido pesquisadas (Lin e Yen, 2006).

O sol-gel convencional é usualmente obtido pelo método de recobrimento por imersão. O qual consiste de vários ciclos de sinterização para obter a espessura necessária. A deposição eletrolítica catódica é um método importante no processamento cerâmico, o qual fornece um processo em baixa temperatura, baixo custo e assegura alta pureza. Portanto, esse método pode ser utilizado para empregar camadas uniformes no titânio e suas ligas, além de outros materiais para aplicações que envolvem o osso. Lin e Yen prepararam a camada de anatásio TiO_2 preparada por deposição eletrolítica (EDT) e realizaram caracterizações por difração de raio X (XRD), espectrômetro fotoelétron de raio X, microscopia eletrônica de varredura (SEM), microscopia de força atômica (AFM), testes de imersão, polarização cíclica dinâmica e cultura de células. As imagens tridimensionais e as análises da microscopia de força atômica permitiram analisar a nanoestrutura superficial do filme biocerâmico. Para a análise da resistência à corrosão, as amostras não tratadas e tratadas com deposição eletrolítica foram recozidas a 300°C (EDT 300) e as com deposição eletrolítica em 700°C (EDT 700) foram polarizadas potenciodinamicamente em solução de saliva artificial e 1000ppm de solução de saliva contendo flúor. Além disso, as amostras EDT 300 e EDT 700 foram imersas em 35ml de SBF por 1, 3, 7, 14 e 21 dias, em pH 7,4 a $36 \pm 1^\circ C$, respectivamente. O precipitado e a taxa de dissolução durante a imersão foram medidos pela variação do peso por unidade de área. Observou-se que a intensidade de difração do anatásio aumentou com a temperatura de recozimento e, gradativamente

transformou-se em rutilo a 500°C. Quando a temperatura atingiu 600°C, a intensidade de difração do anatásio diminuiu e a do rutilo aumentou. A partir da fórmula Scherer identificou-se a camada de deposição eletrolítica da estrutura nanocristalina. O tamanho cristal de anatásio aumentou com o acréscimo da temperatura, de 11,25nm (EDT 300) para 18,12nm (EDT 700). Enquanto o tamanho do cristal do rutilo aumentou de 27,62nm (EDT 600) para 39,46nm (EDT 700). Através das imagens de microscopia de força atômica, a rugosidade (R_a) da amostra EDT 300 foi de 3,587nm e, foram identificados nanocristais. Nas amostras EDT 500 foram observadas nanotrincas, assim como nas amostras EDT 700, porém esta apresentou maior número. A rugosidade aumentou para 10,158nm, e observou-se o aumento do tamanho do cristal com o aumento da temperatura. Por outro lado, sabe-se que as nanotrincas são atribuídas às tensões térmicas, as quais aumentam a probabilidade de exposição do substrato titânio, quando a temperatura ultrapassa 500°C.

O comportamento “in vivo” das cerâmicas bioativas (biovidro e hidroxiapatita), as quais envolvem-se ao osso vivo espontaneamente através de uma camada de apatita biologicamente ativa e conectada ao osso, pode ser estimado utilizando testes “in vitro” com a imersão em fluidos corpóreos simulados. Para os testes de imersão, a perda de peso das amostras EDT 300 foi maior do que nas amostras não tratadas e EDT 700.

O decréscimo nas concentrações de Ca e P da solução SBF, determinadas por difração de raioX é correlacionado com a formação de apatita nas amostras, o que significa que o cristal de apatita cresce com o consumo de Ca e P da solução SBF. Além disso, a bioatividade “in vivo” da titania é atribuída ao grupo hidroxila e à carga negativa do anatásio TiO_2 . Portanto, a superfície do anatásio apresenta carga negativa e combina-se efetivamente com a carga positiva dos íons de Ca na solução. Novas combinações com cargas negativas de íons de P foram formadas para produzir fosfato de cálcio amorfo, este transforma-se espontaneamente em apatita devido a uma fase estável no meio corpóreo que a apatita possui. A nanofase cerâmica (EDT 300) possui maior área superficial para fornecer adsorção de Ca e P, aumentando a nucleação da apatita. Por isso, a eficiência da deposição de apatita não é somente devido ao grupo funcional Ti-OH, mas por uma complexa forma atribuída a sua nanoestrutura e cristalografia (LIN e YEN, 2006).

Ao contrário da hidroxiapatita, que possui propriedades mecânicas indesejáveis para aplicações em substituição a tecidos duros ou dispositivos ortopédicos, a fluorapatita [FA, $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$] possui maior estabilidade térmica do que a simples hidroxiapatita e permanece intacta nas temperaturas de sinterização. A fluorapatita, ligada a hidroxiapatita,

também é um material biocompatível. O flúor é pesquisado para estimular a formação da matriz extracelular “in vitro” e aumentar a união óssea “in vivo”. A hidroxiapatita que contém flúor [FHA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{F}_{2x}$] tem o íon flúor parcialmente substituído por hidroxila na hidroxiapatita ou pode ser considerada uma solução sólida de fluorapatita e hidroxiapatita. O efeito do comportamento de sinterização nas propriedades mecânicas da hidroxiapatita tem sido largamente estudado. Ruys e colaboradores in Qu e Wei (2006) obtiveram densidade de sinterização de 95% e resistência à flexão biaxial de aproximadamente 80MPa após a sinterização da hidroxiapatita comercial a 1150°C. A maior densidade de sinterização (99%) e a resistência à flexão de 200MPa foram obtidas por Jarcho et al. in Qu e Wei (2006) utilizando pó de hidroxiapatita não-calcinada. O comportamento durante a sinterização e as propriedades mecânicas da hidroxiapatita fluoretada foram investigados por Gross e Rodríguez-Lorenzo e Gross e Bhadang. Após estudos com as hidroxiapatita fluoretadas (FHA) sinterizadas entre 1150 e 1250°C observou-se que a concentração de flúor (0,2~0,8 mol F/mol de apatita) não é favorável aos materiais a serem usados como biomaterial devido propriedades mecânicas inadequadas (Qu e Wei, 2006).

Qu e Wei (2006) analisaram por difração de raio X discos de hidroxiapatita contendo flúor e β -tricálcio (β -TCP) compactados isostaticamente a frio (IPM) e usinados. As amostras de hidroxiapatita fluoretadas (IPM FHA-0 e IPM FHA-1) foram parcialmente decompostas para β -TCP em 1200°C, as outras amostras permaneceram com suas estruturas intactas. Após a sinterização em temperaturas maiores (1300 e 1400°C) foi detectada a presença da fase β -TCP nas amostras de FHA-0 e FHA-1. Aparentemente, a estabilidade das amostras melhorou com o aumento da concentração de flúor nas amostras. Em temperaturas de sinterização relativamente altas também ocorreu a decomposição das amostras que não foram submetidas à pressão isostática a frio e moagem. Para permitir a incorporação dos íons de flúor na estrutura da hidroxiapatita todas as amostras contendo flúor foram preparadas a partir da hidroxiapatita pura (FHA-0) através do processo de pH cíclico. O tamanho das partículas das amostras contendo flúor foi significativamente reduzido. O tamanho da partícula do pó de FHA foi igual a metade do tamanho daquele da hidroxiapatita pura e, a densidade a verde foi aproximadamente 15% maior. Após 20h no moinho de bolas, foi possível a redução aproximada de 20% no tamanho das partículas contendo flúor. Porém, a redução de 65% no tamanho da FHA-0 foi devido ao maior tamanho inicial da partícula. Densidades a verde semelhantes foram obtidas para todas as

amostras IPM, inclusive pela IPM FHA-0, além de terem sido maiores do que àquelas sem moagem e compactação isostática a frio. A compactação isostática a frio (CIP) é um método de compactação de pó para obter corpos verdes com densidade uniforme, o processo pode eliminar as fraturas e formação de defeitos detectados na pressão uniaxial. Além disso, a pressão isostática a frio reduz o tamanho dos poros, melhorando assim a densidade sinterizada e as propriedades mecânicas das amostras cerâmicas. Tanto o moinho de bolas quanto a pressão isostática a frio favorece o aumento na densidade após a sinterização das amostras de hidroxiapatita contendo flúor. Portanto, a concentração de flúor possui um impacto significativo na estabilidade térmica e na sinterização das amostras de FHA, sendo extremamente afetada a tensão de flexão biaxial das amostras. Com o aumento da concentração de flúor, as amostras ficaram termicamente estáveis, mas com a sinterização a estabilidade reduziu. Por outro lado, a baixa concentração de flúor das amostras (FHA-0 e FHA-1) decompostas em altas temperaturas de sinterização apresentou estabilidades térmicas inferiores, resultando em microestruturas porosas, baixa densidade após sinterização e menor resistência à tensão de flexão biaxial. Somente as amostras com média concentração de flúor como FHA-2 e FHA-3, apresentaram comportamento de sinterização e propriedades mecânicas balanceadas (QU e WEI, 2006).

Os implantes metálicos com a camada de hidroxiapatita obtida com tratamento de “plasma-spray” exibem propriedades desejáveis, como biocompatibilidade e bioatividade e, por isso são usados nas aplicações clínicas. No entanto, a falha mecânica na interface entre a camada de hidroxiapatita e o substrato metálico é indesejável, o qual pode levar a invalidade do implante recoberto por hidroxiapatita. Por esse motivo, têm sido feitas tentativas para melhorar a adesão e a estabilidade a longo prazo da camada. A melhora da estrutura da camada de hidroxiapatita e composição são obtidas através do uso adequado dos parâmetros que controlam o spray ou por tratamento térmico. Outra alternativa efetiva é formar camadas compostas.

Pesquisas recentes mostram que a adesão da camada depositada e a força coesiva dos implantes com o organismo podem ser aumentadas pela combinação da hidroxiapatita com o titânio e com o emprego da titania TiO_2 , da zircônia ZrO_2 ou da alumina Al_2O_3 , como aditivos de reforço. Além disso, a transformação de fase induzida pela tensão na zircônia, de tetragonal para a fase monoclínica pode ocorrer durante o tratamento de plasma-spray, o que pode resultar no aumento da resistência da camada e da tenacidade à fratura. Devido à adição da segunda fase, mudanças de fase na camada obtida em alta temperatura são

prováveis de acontecer. Por isso, faz-se necessário compreender a influência da adição do titânio e da titânia nas propriedades da camada depositada.

Por outro lado, a otimização dos parâmetros do “plasma-spray” para produzir camadas de hidroxiapatita são usualmente baseados na relação entre parâmetros de “spray” e as características da camada. O titânio e a titânia foram incorporados ao pó de hidroxiapatita e depositados por “plasma-spray”. Não somente o titânio, mas também o rutilo foram simultaneamente detectados nas partículas compostas, as quais indicam que o titânio é severamente oxidado durante o “plasma-spray”.

A camada de TiO_2 formada pelas partículas compostas parece ter uma boa biocompatibilidade e induz a nucleação da apatita na camada superficial após imersão em SBF. Entretanto, a transformação de fase do titânio para óxido de titânio pode resultar em uma adesão inferior entre o titânio e a hidroxiapatita. A oxidação do titânio pode ser extremamente reduzida pelo uso atmosfera protetora. A partícula de HA pura contém mais fases amorfas que partícula composta HA/Ti. A adição de titânio à hidroxiapatita pode levar a uma transformação de fase do titânio para TiO_2 durante o “plasma-spray”, principalmente com o uso de “plasma-spray” com alta energia. Já a adição de TiO_2 pode influenciar a decomposição de HA, porém não há produto da reação química entre eles (como $CaTiO_3$). No entanto, a análise em MEV com EDS mostrou a ocorrência de interdifusão de elementos entre HA e TiO_2 , os quais são favoráveis ao aumento da força coesiva de partículas na camada composta. Quando comparada com a camada HA/ TiO_2 , a camada HA/HA+ TiO_2 possui maior percentual de fases decompostas, como tricálcio e óxido de cálcio. O tratamento térmico a $650^\circ C$ por 2 h, melhora a cristalinidade da camada pela transformação de fase amorfa na hidroxiapatita (SUN et al., 2006).

3.4 SBF

3.4.1 HISTÓRIA DO SBF

Em 1980, Hench e colaboradores mostraram que quando o biovidro era implantado no meio corpóreo havia formação de uma camada rica em SiO_2 e um filme de fosfato de cálcio na superfície do biovidro, a qual permitiu o desenvolvimento do osso vivo. Os estudos foram

complementados por outras pesquisas, as quais concluíram que a formação “in vivo” do filme de fosfato de cálcio poderia ser reproduzida em solução no estado-tampão de trishidroximetilaminometano e ácido hidrolórico em pH 7,4.

Por outro lado, Kitsugi et al. mostraram que a camada rica em SiO₂ não se formava no vidro cerâmico. Neste caso, ocorria a formação de uma camada de fosfato de cálcio na superfície do biovidro colocado no corpo vivo, permitindo o envolvimento com o osso. Subseqüentemente, Kokubo e colaboradores usando microdifração de raioX, identificaram essa camada de fosfato de cálcio como apatita cristalina. Além disso, em 1990, eles demonstraram que a formação de apatita “in vivo” na superfície do vidro cerâmico poderia ser reproduzida em SBF acelular com concentrações semelhantes a do plasma sanguíneo humano, porém não em solução-tampão de tris.

Em análises da apatita formada na superfície do biovidro imerso em SBF, por meio de difração de raioX de filme fino (TF-XRD), espectroscopia de infravermelho de transformação Fourier, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão mostraram que a composição e estrutura era semelhante ao osso mineral. Com isto, esperava-se que os osteoblastos possuíssem capacidade para induzir a proliferação e diferenciação e produzir apatita e colágeno na superfície. Assim, a apatita formada pode envolver a superfície e formar osso ao redor. Conseqüentemente, há reação química entre o material e o osso vivo através da formação da camada de apatita. Baseado nesses resultados, em 1991 foi proposto que para o material ser envolvido por osso vivo é essencial que ocorra a formação de apatita sobre a sua superfície, além da formação de apatita “in vivo” poder ser reproduzida em SBF.

Em 2003, Oyane et al. identificaram a diferença que ocorre com o uso do SBF-convencional (TAB. 3.4.1) e do SBF-revisado. No SBF revisado, as concentrações dos íons Cl⁻ foram diminuídas para os níveis de plasma sanguíneo humano e, a concentração de HCO₃⁻ foi aumentada. Porém, o bicarbonato de cálcio tem forte tendência a precipitar-se do SBF supersaturado, não somente em relação à apatita, mas também à calcita. Em 2004, Takadama e colaboradores propuseram modificação no SBF (SBF-n), mediante a diminuição da concentração dos íons Cl⁻ e HCO₃⁻ para o nível do plasma sanguíneo humano, esta proposta era igual àquela do SBF-convencional (SBF-c). Esse SBF melhorado foi comparado com o convencional quanto à estabilidade e à reprodutibilidade na formação de apatita nos materiais sintéticos. Os SBF foram testados em 10 institutos de pesquisa. Como resultado foi confirmado que o SBF-convencional não é diferente do SBF melhorado quanto à estabilidade e reprodutibilidade. Através desses testes, o método para preparação do SBF-convencional foi

cuidadosamente checado e refinado de modo que ele pudesse ser facilmente preparado. Em 2003, foi proposto ao Comitê Técnico ISO-TC150 o SBF-convencional com composição refinada como uma solução para a capacidade de formação “in vitro” da apatita nos materiais de implante (Kokubo e Takadama, 2006).

TAB. 3.4.1-Composição química do SBF proposta por Kokubo e Takadama (2006).

| Reagentes | Quantidades | Pureza (%) |
|---|-------------|------------|
| NaCl | 8,055g | 99,5 |
| NaHCO ₃ | 0,355g | 99,5 |
| KCl | 0,225g | 99,5 |
| K ₂ PO ₄ .3H ₂ O | 0,231g | 99,0 |
| MgCl ₂ .6H ₂ O | 0,311g | 98,0 |
| 1,0M-HCl | 39ml | _____ |
| CaCl ₂ | 0,292g | 95,0 |
| Na ₂ SO ₄ | 0,072g | 99,0 |
| Tris* | 6,118g | 99,0 |
| 1,0M-HCl | 0-5ml | _____ |

* Hidroximetil aminometano

3.4.2 CUIDADOS PARA A PREPARAÇÃO DO SBF

Visto que o SBF é uma solução supersaturada em relação à apatita, um método de preparação inapropriado pode levar à precipitação da apatita durante o ensaio. Deve-se sempre verificar que no preparo da solução, esta permaneça transparente e que não haja nenhum depósito de precipitado na superfície do recipiente. Se alguma precipitação ocorrer, a preparação do SBF deve ser paralisada, a solução deve ser descartada, a vidraria lavada e, então faz-se nova preparação do SBF.

Após a dissolução de cada reagente, o pH da solução deve ser igual a 2 ou 3, o que será alterado quando o reagente tris for dissolvido na solução. Neste momento, a temperatura encontra-se na faixa 36,5°C e o pH aumenta para 7,4.

3.4.3 CONFIRMAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES IÔNICAS DO SBF

Preparado o SBF, as concentrações dos íons devem ser equivalentes às mostradas na TAB. 3.4.3. Para confirmar essas concentrações são recomendadas análises químicas da solução. Quando um material é imerso em SBF por 12, 24 e 120 h, uma camada de apatita pode ser detectada por difração de raio X e ou microscopia eletrônica de varredura.

TAB. 3.4.3

| Íon | Concentrações iônicas (mM) | |
|--------------------------------|----------------------------|-------|
| | Plasma sanguíneo | SBF |
| Na+ | 142,0 | 142,0 |
| K+ | 5,0 | 5,0 |
| Mg+2 | 1,5 | 1,5 |
| Ca+2 | 2,5 | 2,5 |
| Cl- | 103,0 | 147,8 |
| HCO ₃ ⁻ | 27,0 | 4,2 |
| HPO ₄ ⁻² | 1,0 | 1,0 |
| SO ₄ ⁻² | 0,5 | 0,5 |
| pH | 7,2-7,4 | 7,40 |

KOKUBO, TAKADAMA (2006)

3.4.4 PRESERVAÇÃO DO SBF

O SBF deve ser armazenado em recipiente plástico com tampa e colocado em refrigerador com temperatura de 5 a 10°C. O SBF deve ser usado no prazo de 30 dias após a preparação.

Em alguns casos a apatita é precipitada uniforme e homogeneamente no SBF e pode ser depositada na superfície da amostra. Por isso, é recomendável que as amostras sejam colocadas em uma posição que não ocorra à precipitação, mas que haja a formação da apatita através do processo de adsorção de íons na superfície da amostra.

Após a imersão em 36,5°C por diferentes períodos e tempo máximo de quatro semanas no SBF, as amostras são lavadas cuidadosamente em água pura e secas com secador sem calor. As amostras, uma vez retiradas do SBF e secas, não podem ser novamente imersas (Kokubo e Takadama, 2006).

3.4.5 MODELOS DE FLUÍDOS BIOLÓGICOS E ESTERILIZAÇÃO

Serro e Saramago (2003) investigaram o efeito dos processos de esterilização na mineralização dos implantes de titânio induzidos pela incubação em vários modelos de fluidos biológicos. Amostras de titânio foram submetidas a vários processos de esterilização usados por materiais de implantes: autoclave a vapor, tratamento com plasma de Ar, descarga de calor e irradiação- γ . A modificação das superfícies foi avaliada pelas determinações de ângulo de contato, espectroscopia fotoelétron de raioX (XPS), perfilometria a laser e difração de raioX. As modificações mais significantes foram detectadas na molhabilidade: enquanto as amostras tratadas com plasma Ar mostraram-se altamente hidrofílicas (ângulo de contato em água~0°), a irradiação- γ e a esterilização a vapor induziram um aumento na hidrofobicidade. Depois de esterilizadas, as amostras foram imersas por uma semana em três diferentes fluidos biológicos: Solução salina balanceada de Hank (HBSS), Fluido corpóreo simulado de Kokubo (SBF) e um fluido designado por SBF0, com a mesma composição do SBF, porém sem o TRIS. O nível de mineralização das amostras de Ti imersas, avaliadas pela análise do ângulo de contato dinâmico, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia dispersiva e XPS, indicaram que os estágios precoces de mineralização são essencialmente independentes do método de esterilização. Ao contrário, a incubação em fluidos atua como papel determinante, SBF0 é o meio mais eficiente para a biomineralização do titânio. A TAB. 3.4.5 mostra as composições iônicas das soluções de HBSS e SBF junto com a composição do plasma sanguíneo humano. O pH de ambas as soluções SBF foi ajustado para 7,25 pela adição de HCl em temperatura ambiente.

TAB. 3.4.5: Composição iônica (mM) de HBSS, SBF e Plasma sanguíneo. Serro e Saramago (2003)

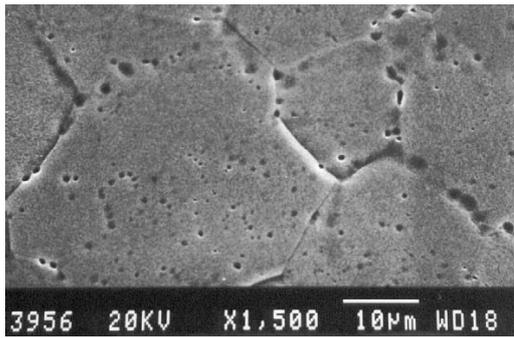
| | Na ⁺ | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | HCO ₃ ⁻ | Cl ⁻ | HPO ₄ ²⁻ | SO ₄ ²⁻ |
|------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------|-------------------------------|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|
| HBSS | 141,5 | 5,8 | 1,3 | 0,8 | 4,2 | 144,9 | 0,8 | 0,8 |
| SBF | 141,8 | 5,0 | 2,5 | 1,5 | 4,2 | 148,0 | 1,0 | 0,5 |
| Plasma sanguíneo | 142,0 | 5,0 | 2,5 | 1,5 | 27,0 | 103,0 | 1,0 | 0,5 |

As mudanças nas amostras hidrofílicas avaliadas através da medida do ângulo de contato estático da água ocorreram devido aos métodos de esterilização. Enquanto a hidrofobicidade de ambas as amostras autoclavadas e irradiadas diminuiu, em relação às amostras originais, as amostras limpas por plasma mostraram-se altamente hidrofílicas. A rugosidade média da superfície, Ra, dos substratos foram determinados usando um perfilômetro. Os resultados obtidos pelas amostras esterilizadas foram comparados com àquelas não-esterilizadas.

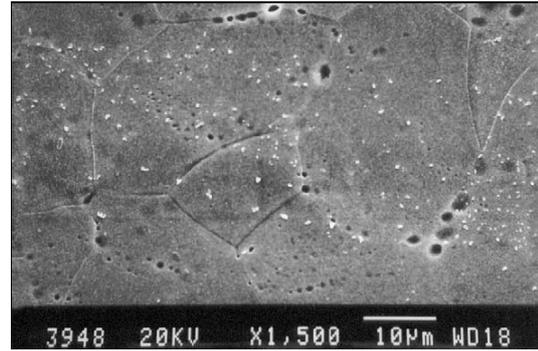
A detecção de precipitados de fosfato de cálcio na superfície das amostras de Ti, após uma semana de imersão em modelos de fluidos biológicos, é uma tarefa difícil devido à irreprodutibilidade dos resultados. De fato, uma observação visual simples das amostras depois de incubadas leva a conclusão que há diferentes graus de mineralização e/ou diferentes tipos de precipitados usando as mesmas condições experimentais (Serro e Saramago, 2003).

Nas FIG. 3.4.5(a) e (b) são mostradas micrografias da superfície do Ti antes e depois da imersão em SBF0, respectivamente. A análise com maior aumento, é possível observar pontos brancos na FIG. 3.4.5(b), e constata-se a existência de depósitos com várias formas de acordo como mostrado nas FIG. 3.4.5(c) e (d). Usando um maior aumento da área ao redor do depósito, é possível observar uma cobertura de filme cuja superfície é mostrada na FIG. 3.4.5(e). Na mesma amplificação, a superfície de titânio antes da imersão é mostrada na FIG. 3.4.5(f). Alguns tipos de depósitos, rodeados por um filme, foram detectados na superfície de todas as amostras incubadas em SBF0, independente do tratamento de esterilização. O espectro de EDS obtido nas amostras imersas exibiu picos de cálcio e fósforo e contaminação por magnésio. Entretanto, a taxa de Ca/P variou de acordo com a região analisada. A observação em MEV das amostras imersas em HBSS e em SBF não revelou a presença de depósitos. O espectro de EDS mostrado na FIG. 3.4.5.1(b), do Ti imerso em SBF, não permite a identificação de superfície contendo cálcio ou fósforo. Além disso, a análise em XPS das amostras imersas em HBSS e SBF revelou a existência de pequena quantidade de cálcio e fósforo.

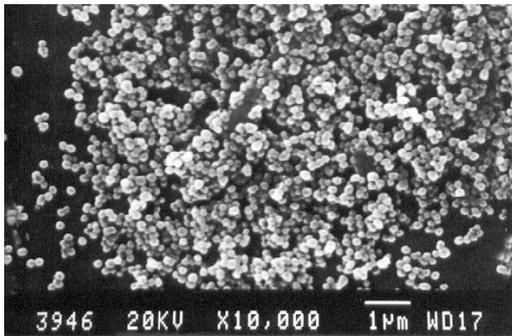
A)



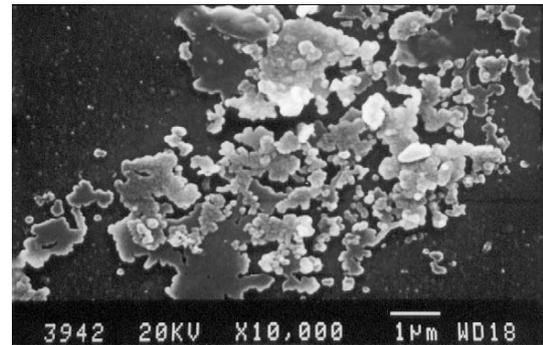
B)



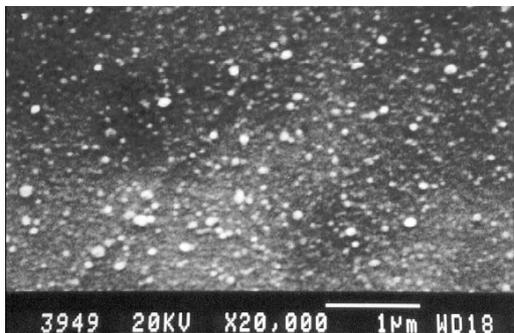
C)



D)



E)



F)

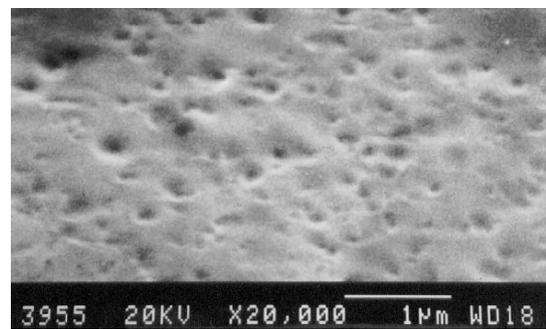


FIG. 3.4.5: Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura: A) Ti antes da incubação, B) Ti após a incubação em SBF0, C) e D) depósitos com diferentes morfologias na superfície do Ti após a incubação em SBF0, E) filme na superfície do Ti após incubação em SBF0 e F) Ti antes da incubação. Serro e Saramago (2003)

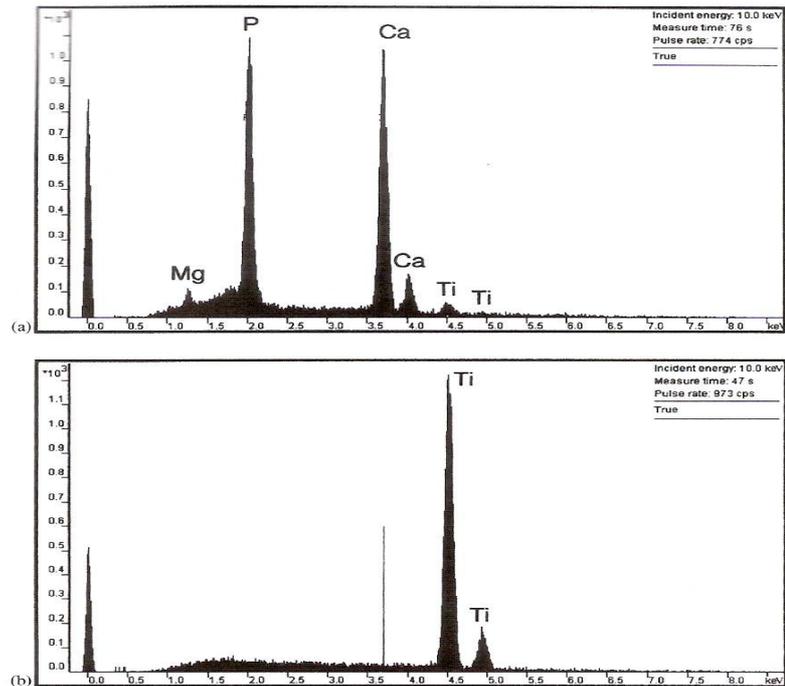


FIG.3.4.5.1: Espectro EDS. a) depósito na superfície de Ti depois de imerso em SBF0 e de b) Ti depois de imerso em SBF. Serro e Saramago (2003)

No trabalho de Serro e Saramago foi estudada a influência dos métodos de esterilização e da composição química de fluidos biológicos na mineralização de materiais de implante de Ti. As modificações das características de superfície, isto é a hidrofiliicidade, rugosidade e composição química induzidas por diferentes métodos de esterilização apresentaram concordância com os resultados de outros trabalhos da literatura. Enquanto, as amostras autoclavadas a vapor e irradiadas- γ mostraram-se mais hidrofóbicas devido ao aumento da contaminação com carbono, as amostras limpas com plasma foram altamente hidrofílicas, rugosas e menos contaminadas. Além disso, as diferenças observadas na superfície não sugerem significativamente diferentes comportamentos de mineralização.

Ao contrário, comparando a mineralização das amostras de Ti imersas durante uma semana em HBSS, em SBF e em SBF0, mostrou que a mineralização aumenta no SBF0, independentemente do método de esterilização. Comparando HBSS com SBF0, foi possível observar que este possui maior grau de supersaturação em cálcio e fósforo. A única diferença entre SBF e SBF0 é a ausência do reagente tris no SBF0, o qual permite aumento espontâneo do pH e evita os íons de Ca^{2+} livres.

3.4.6 MODIFICAÇÕES NA PREPARAÇÃO DO SBF

3.4.6.1 PROPOSIÇÃO DE MÜLLER

Müller, L. e Müller, F.A. (2006) estudaram cinco tipos de SBF com composição de 142 Na^+ , 5 K^+ , 2,5 Ca^{2+} , 1 Mg^{2+} , 1 SO_4^{2-} , 1 HPO_4^{2-} e 136 ($\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$) mmol/l, os quais foram preparados com concentrações de HCO_3^- entre 5 e 27 mmol/l. As soluções de SBF foram preparadas misturando soluções concentradas estáveis, as quais aumentam a reprodutibilidade dos testes “in vitro” devido às mudanças insignificantes de pH durante a preparação. A alta estabilidade do SBF neste modo de preparação permite a avaliação da formação de hidroxiapatita na superfície do material bioativo sem o efeito negativo da precipitação espontânea. Portanto, o uso de soluções concentradas oferece um método fácil de preparação do SBF com quantidades iônicas diferentes e, assim modificando a composição da camada de Ca-P precipitada na superfície do material bioativo exposto às soluções de SBF. Estas soluções são supersaturadas em relação à apatita ligeiramente carbonatada.

O objetivo do estudo de Müller foi desenvolver um novo método para o preparo do SBF e aumentar a reprodutibilidade do procedimento de teste do SBF. Por isso, a influência da quantidade de HCO_3^- na formação da apatita e a supersaturação em relação a diferentes fosfatos de cálcio foram avaliadas.

Cinco soluções de SBF com quantidade variando de 5 a 27 mmol/l e quantidade constante de 136 mmol/l de $\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$ foram preparadas a partir de produtos concentrados de KCl (59,64 g/l), NaCl (116,88 g/l), NaHCO_3 (45,37 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (49,30 g/l), CaCl_2 (preparado de $\text{Ca}(\text{OH})_2$), tris (121,16 g/l), NaN_3 (100 g/l) e KH_2PO_4 (27,22 g/l). A preparação é feita com água destilada para prevenir a precipitação de fosfatos de cálcio homogeneamente nucleados ou outras fases e, para minimizar mudanças no pH durante a preparação das soluções.

Os volumes das soluções salinas concentradas para o preparo de 1 litro do SBF estão listados na TAB. 3.4.6.1. O pH do plasma sanguíneo corpóreo varia de 7,3 a 7,4 em 37°C. Já o pH do SBF depende da temperatura e diminui linearmente com o aumento da temperatura.

TAB. 3.4.6.1 – Soluções SBF propostas por Müller (2006).

| Solução | SBF5 | SBF10 | SBF15 | SBF20 | SBF27 |
|--------------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| KCl | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| NaCl | 60 | 59 | 56 | 53,5 | 50 |
| NaHCO ₃ | 10 | 18 | 27,8 | 37 | 50 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| CaCl ₂ | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Tris+HCl | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| NaN ₃ | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| KH ₂ PO ₄ | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

As amostras de titânio comercialmente puro foram atacadas com ácido clorídrico (HCl) e, subseqüentemente foram imersas em 10 mol/l de solução aquosa de NaOH em 60°C por 24h, lavadas em água destilada e secas a 100°C. A seguir, as amostras tratadas foram imersas em soluções de SBF sob condições estáticas em 37°C por 2 semanas.

A estabilidade das soluções de imersão foi avaliada monitorando o tempo dependente do pH, bem como as concentrações do fósforo e do cálcio durante a exposição em 37°C. Pode-se presumir que, ao diminuir as concentrações dos componentes, ocorre uma precipitação espontânea e, com isso a instabilidade da solução supersaturada. As mudanças nas concentrações de P e Ca foram insignificantes e não excederam o erro analítico ($\pm 5\%$) depois de 14 dias de exposição a 37°C.

As mudanças de pH com o tempo das soluções de SBF armazenadas a 21°C foram menores do que 0,15. Por outro lado, o pH variou de 7,3 a 7,62 nas soluções de SBF que foram expostas a 37°C por diferentes tempos. O aumento mais pronunciado em relação ao pH ocorreu no SBF-20 e no SBF-27 com a maior quantidade de HCO₃⁻.

Foi observada a formação de camadas biomiméticas na superfície da amostra, duas semanas após a imersão em SBF. As camadas com tamanho da ordem de nanômetro apresentaram a morfologia na forma de agregados esféricos com diâmetro acima de 10 µm, característica da camada precipitada do SBF. Cálcio, fósforo e uma pequena fração de magnésio e sódio foram encontrados por análises em EDX. Íons Mg²⁺ e Na⁺ podem substituir os íons de Ca²⁺ nas apatitas, as quais estão no agregado com a composição de apatitas

biológicas dos ossos humanos, que não são estequiométricas com indícios de componentes como Mg^{2+} , Na^+ , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , F^- ou Cl^- . A proporção molar Ca-P da camada precipitada no titânio tratado quimicamente em SBF5 foi medida como 1,35. Com o aumento da concentração de HCO_3^- em SBF, a proporção molar de Ca-P foi de 1,46.

Por meio da difração de raio X identificou-se que na superfície do titânio pré-tratado e imerso em SBF na temperatura fisiológica (37°C) há formação de hidroxiapatita de baixa cristalinidade.

Müller e colaboradores concluíram que: a) é possível usar as soluções de SBF com diferentes quantidades de íons cloro e bicarbonatos para simular a parte inorgânica do plasma sanguíneo humano; b) as soluções de SBF foram preparadas pela mistura de soluções concentradas estáveis, a reprodutibilidade da preparação de SBF e, portanto, os resultados dos testes “in vitro” puderam ser aperfeiçoados; c) os graus de supersaturação indicaram que é mais provável ocorrer à formação de apatita contendo carbonato do SBF do que a formação da hidroxiapatita estequiométrica; d) as análises com difração de raioX da camada precipitada, indicaram que a quantidade de HCO_3^- em SBF influencia a composição e estrutura dos fosfatos de cálcio obtidos. Com isso, pode-se supor que, ao longo do tempo a concentração de HCO_3^- nas soluções de teste é menor que 20 mmol/l.

3.4.6.2 PROPOSTA DE BARRERE

Barrere et al. (2002) investigaram a cinética da liberação de CO_2 em relação à composição de SBF fator 5 (SBF_{x5}) e a formação da camada Ca-P. Quanto à intensidade iônica ou os íons anfóteros são considerações que afetam a solubilidade do gás, influenciam as quantidades de cloreto de sódio e bicarbonatos na liberação de CO_2 . Depois mudou-se individualmente a concentração de NaCl ou HCO_3^- em relação à formação de Ca-P imersa em solução e nas amostras da liga de Ti (Ti-6Al-4V).

Barrere e colaboradores prepararam diversos fluidos corpóreos simulados, mudando as concentrações salinas conforme mostrado na TAB. 3.4.6.2. Todas as soluções foram derivadas da solução clássica proposta por Kokubo, na qual as concentrações iônicas foram multiplicadas por 5. O ponto inicial do experimento ocorre quando o CO_2 pára de borbulhar

(t=0 h). Todos os experimentos foram avaliados em um reator com termostato a 37°C com imersão de 24 h. As soluções foram agitadas com imã magnético.

TAB. 3.4.6.2 – Composição (mM) do plasma sanguíneo humano (HBP), fluido corpóreo simulado regular (SBF), soluções de referência (REF) e SBF experimentais (SBFX5). BARRERE (2002)

| | NaCl | MgCl ₂ .6H ₂ O | CaCl ₂ .2H ₂ O | Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O | NaHCO ₃ |
|-----------------------------|-------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|--------------------|
| HBP | 146,7 | 1,5 | 2,5 | 1,0 | 27,0 |
| SBF | 146,7 | 1,5 | 2,5 | 1,0 | 4,2 |
| SBFx5 | 733,5 | 7,5 | 12,5 | 5,0 | 21,0 |
| REF1 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| REF2 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 21,0 |
| REF3 | 733,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| REF4 | 733,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 21,0 |
| SBFx5 (HCO ₃ x0) | 733,5 | 7,5 | 12,5 | 5,0 | 0,0 |
| SBFx5 (HCO ₃ x3) | 733,5 | 7,5 | 12,5 | 5,0 | 12,6 |
| SBFx5 (NaClx0) | 0,0 | 7,5 | 12,5 | 5,0 | 21,0 |
| SBFx5 (NaClx3) | 440,1 | 7,5 | 12,5 | 5,0 | 21,0 |

A formação da camada de Ca-P nas soluções SBF altamente concentradas, depende dos mecanismos de liberação do CO₂ (REF1, 2, 3 e 4), a qual depende da quantidade de HCO₃⁻ e da intensidade iônica na solução devido à quantidade de NaCl. Na TAB. 5, encontram-se as composições dos meios usados como referência (REF).

Com base nas curvas de pH x tempo para as várias soluções, observou-se que no caso da solução REF1 e REF3, o pH inicial foi de 4,06 e 3,75 respectivamente, enquanto que nos casos da solução REF2 e REF4, o pH inicial foi maior, sendo de 6,29 e 5,99 respectivamente. Essa diferença de pH foi devido à capacidade do HCO₃⁻ “borbulhar”. Aumentando a quantidade de HCO₃⁻, os valores iniciais e finais de pH foram maiores. Portanto, o pH inicial foi ligeiramente menor quando a solução continha mais NaCl. Com isto, houve maior solubilidade do gás CO₂ para alta intensidade iônica.

A precipitação de Ca e P indica o limite de solubilidade ou saturação das soluções SBFx5, as quais possuem diferentes concentrações de NaCl e NaHCO₃, de acordo com a TAB. 3.4.5. Com a observação visual da precipitação em várias soluções SBFx5, pode-se definir três grupos. Primeiro, no caso da solução livre de NaCl, a precipitação ocorre imediatamente no final da adição de CO₂ em pH igual a 6. Segundo, a precipitação ocorre em pH igual a 6,8 no

caso de menor percentual de NaCl e soluções contendo HCO_3^- SBFx5 ($\text{NaCl} \times 3$) e SBFx5 ($\text{HCO}_3^- \times 3$) e, no caso de solução SBFx5 regular. Terceiro, no caso da solução ser livre de HCO_3^- , a precipitação ocorre em pH igual a 6,2.

As quantidades de NaCl e HCO_3^- afetam a cinética da precipitação e a estrutura precipitada. A respeito da influência de NaCl, isto é, a intensidade iônica, as soluções referência mostraram que a quantidade de CO_2 é quase igual a intensidade iônica. Portanto, no início dos experimentos, as soluções gasosas SBFx5 ($\text{NaCl} \times 0$) possuem maior concentração de NaCl que as outras soluções calcificantes. Em outras palavras, com menor intensidade iônica, o número de sítios de nucleação presentes na solução é maior. O aumento no número de sítios de nucleação obviamente aumenta a precipitação de Ca-P na solução.

Barrere e colaboradores concluíram que o uso de gás acidífero CO_2 em solução de fluido corpóreo simulado altamente concentrado permite a formação de uma camada de Ca-P no Ti-6Al-4V em tempo inferior a 24 h. Esse método biomimético impede o tratamento da superfície do titânio. A cinética da deposição da camada é influenciada pela intensidade iônica da solução e, por isso controla a liberação de CO_2 e perfil do pH. Portanto, a intensidade iônica e a precipitação lenta de Ca-P na solução SBFx5 favorece a nucleação de Ca-P no Ti-6Al-4V. Além disso, a presença de HCO_3^- reduz o tamanho do cristal de apatita da camada, permitindo um melhor ataque ao substrato Ti-6Al-4V. Após experimentos, dois importantes parâmetros podem ser realçados no processo de formação do Ca-P biomimético das soluções SBFx5. Primeiro, a precipitação na solução deve ser demorada para favorecer a nucleação heterogênea no Ti-6Al-4V. Segundo, partículas de Ca-P depositadas no substrato devem ter tamanho nanométrico para permanecer fisicamente aderida no Ti-6Al-4V.

3.5 EFEITOS DOS TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE NA BIOATIVIDADE DO TITÂNIO

Vanzillotta et al. (2006) determinaram a influência dos tratamentos da superfície de amostras de titânio cp na bioatividade “in vitro”. Chapas de titânio foram submetidas a três tratamentos de superfície, incluindo em todas as amostras o ataque com solução de $\text{HCl}/\text{H}_2\text{SO}_4$. As amostras foram divididas em quatro grupos. Grupo A foi o grupo controle, sem tratamento de superfície; grupo B, C e D foram submetidos ao ataque químico com

solução de HCl/H₂SO₄ para alterar a morfologia da superfície. Os grupos C e D foram adicionalmente submetidos ao tratamento de oxidação da superfície. Para o grupo C, foi empregada a oxidação anódica com solução H₃PO₄ e, para o grupo D, foi realizada a oxidação térmica seguida pela estabilização do filme com solução de NaF. O objetivo da combinação química de ataques com oxidação foi para melhorar os tratamentos individualmente (devido ao comportamento bioativo do óxido) e juntamente, a osseointegração devido a rugosidade trazida pela dissolução do ácido.

A bioatividade das superfícies do titânio foi avaliada através da imersão das amostras em tubos de polipropileno contendo 30 ml de SBF, a 37°C durante 1, 2 e 7 dias. Após cada tempo, a quantidade de cálcio em SBF foi determinada usando espectroscopia de absorção atômica (AAS) e, um histograma com a quantidade de cálcio x tempo de imersão foi construído. A espectroscopia de fotoelétron de raioX (XPS) foi usada para caracterizar a camada externa de uma amostra de cada grupo, após a imersão em SBF por 7 dias.

Foi observado que a quantidade de cálcio na solução tem a tendência de diminuir regularmente quando comparados ao primeiro e sétimo dias de todos os tratamentos. A diferença entre as quantidades inicial e final de cálcio no SBF é devido à precipitação do fluído da fase rica em cálcio na superfície do titânio. A menor quantidade de cálcio no SBF e a maior precipitação da fase rica em cálcio são consideradas um bom indicativo da bioatividade. A quantidade de cálcio decresce lentamente quando a solução está em contato com as amostras não-tratadas (grupo A), enquanto que a queda maior no nível de cálcio ocorre depois de 7 dias para todas as amostras tratadas. Diferenças significantes foram encontradas entre cada tratamento e o grupo A, porém nenhuma diferença foi encontrada entre as amostras tratadas do grupo B ao D.

Os autores concluíram que os resultados obtidos usando diversas técnicas de caracterização indicaram um comportamento semelhante para todas as amostras de Ti com os tratamentos empregados. Uma camada de pequenos glóbulos de fosfato de cálcio precipitou nas superfícies do titânio após 7 dias imersos em SBF. Além disso, para as amostras de titânio não-tratadas, a precipitação da apatita ligada ao osso não foi observada, revelando que o tratamento da superfície parece ter um papel importante na melhora da bioatividade do titânio “in vitro”.

3.6 OSTEOINDUÇÃO

Fujibayashi et al. (2004) classificam o titânio como um material osteoindutivo que possui a capacidade de induzir a osteogênese. Após tratamentos químicos e térmicos, o titânio pode tornar-se bioativo e induzir a formação óssea sem a necessidade adicional de células osteogênicas ou agentes osteoindutivos. Quatro tipos de implantes de titânio foram implantados por Fujibayashi et al., nos músculos dorsais de cachorros e foram examinados histologicamente após períodos de 3 e 12 meses. Além disso, o titânio tratado química e termicamente, assim como o titânio puro foram implantados como blocos porosos ou como malha de fibras cilíndricas. A formação óssea foi encontrada somente nos implantes de blocos porosos tratados química e termicamente e, removidos depois de 12 meses. O estudo mostrou que um metal liso não solúvel e não contendo cálcio ou fósforo pode ser um material osteoindutivo quando tratado de forma apropriada.

Fujibayashi e colaboradores observaram que após a imersão dos blocos de Ti em SBF, é possível identificar a deposição de apatita após 7 dias. Por outro lado, mudanças morfológicas na superfície não foram observadas nos implantes de titânio não tratados após imersão em SBF por um período de 7 dias. Esses resultados indicam que os implantes tratados química e termicamente possuem a capacidade de formar apatita “in vitro” e capacidade osteocondutiva “in vivo”. Com base nos resultados obtidos, Fujibayashi e colaboradores concluíram que um metal sem nenhum tratamento, que não possui propriedades de dissolução e não contém cálcio nem fósforo, pode transformar-se em um material osteocondutivo quando tratado para possuir micro e macroestruturas específicas. Todos os materiais osteocondutivos que induzem a formação de camada de apatita no corpo podem ter o potencial de serem materiais osteoindutivos quando possuírem estrutura porosa específica. Essa observação pode ajudar a elucidar a natureza da osteoindução e levar ao advento dos biomateriais osteoindutivos para a regeneração tecidual.

3.7 OSTEOCONDUTIVIDADE DO TITÂNIO BIOATIVO

Takemoto et al. (2005) analisaram a influência da estrutura porosa, das propriedades mecânicas dos implantes de titânio bioativos e dos tratamentos químico e térmico na

capacidade osteocondutiva dos implantes inseridos no osso de coelhos. Os implantes de titânio bioativos porosos (porosidade de 40%) foram produzidos com o método de “plasma-spray” e submetidos aos tratamentos químico e térmico em imersão em solução 5M de NaOH à 60°C por 24h, imersão em água destilada à 40°C por 8h e aquecimento em 600°C por 1h. A porcentagem de contato osso-implante (índice de afinidade) dos implantes bioativos (BGs) foi significativamente maior do que para os implantes não-tratados (CGs) em todos os tempos pós-implantações (13,5x10,5; 16,7x12,7; 17,7x10,2; 19,1x7,8 em 2, 4, 8 e 16 semanas, respectivamente). A porcentagem de área óssea aumenta significativamente nos implantes bioativos (BGs), enquanto que com os implantes não-tratados (CGs) houve decréscimo após 4 semanas (10,7x9,9; 12,3x13,1; 15,2x9,8; 20,6x8,7 em 2, 4, 8 e 16 semanas, respectivamente). Os resultados sugerem que o titânio bioativo possui propriedades mecânicas e biocompatibilidade adequadas ao uso clínico.

A avaliação da bioatividade “in vitro” do titânio com porosidade foi realizada através da imersão em solução de fluido corpóreo simulado (SBF) com pH de 7,40. As amostras foram imersas em 30 ml de SBF por 3-7 dias em 36,5°C. As amostras foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foi identificada a presença de apatita na superfície das amostras, a qual é uma característica da bioatividade “in vivo”.

A avaliação das amostras no MEV antes da implantação revelou que na superfície há uma macroestrutura porosa complexa. Em aumentos elevados os poros da superfície dos implantes de titânio não-tratados eram pequenos (FIG.3.7a). Além disso, foram identificados microporos nos implantes de Ti tratados química e termicamente (FIG.3.7b).

Com a imersão de blocos de titânio fraturados em SBF, foi identificado depósito de apatita nas superfícies após 3 dias (FIG.3.7c), a qual indica que os implantes de titânio bioativos porosos possuem uma camada de superfície bioativa homogênea por todo o interior dos poros do implante. Por outro lado, não houve mudanças morfológicas na superfície dos implantes de Ti não-tratados após a imersão em SBF por 7 dias.

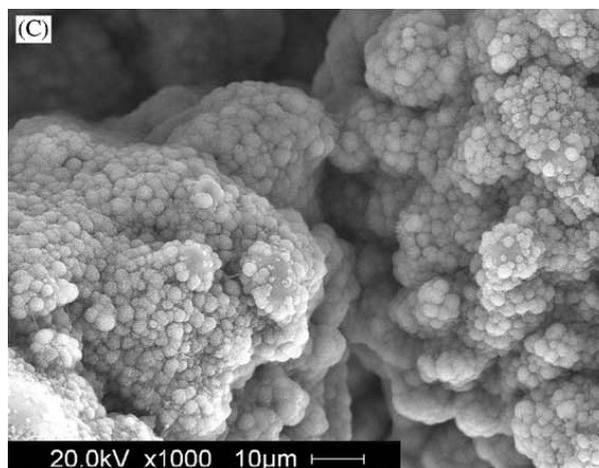
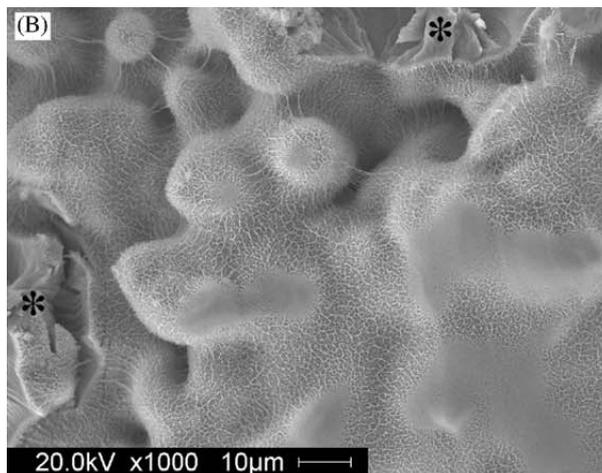
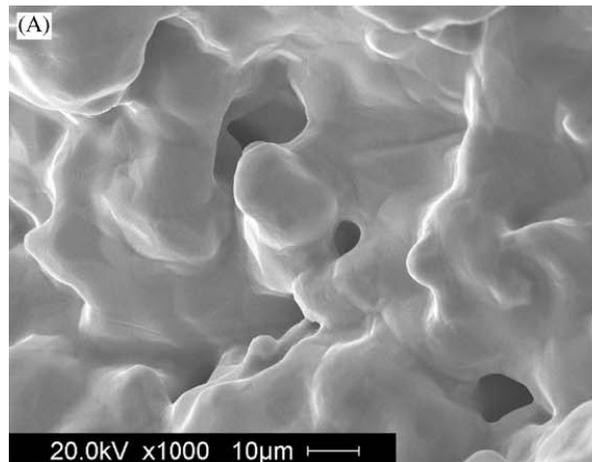


FIG. 3.7-(A) Superfície de titânio poroso não-tratado. B) Superfície de uma porção central de titânio poroso fraturado e tratado química e termicamente. C) Formação de apatita no implante de titânio bioativo poroso depois da imersão em SBF por três dias. Takemoto et al (2005)

Após 4 semanas, foi observado osso novo no centro de ambos implantes, bioativo e não-tratado. Foi encontrado osso novo próximo ao implante. Os implantes bioativos freqüentemente apresentam mais contato osso-implante do que os implantes não-tratados. Entre 8-16 semanas após a implantação, foi observada a presença de osso novo nos implantes

bioativos, enquanto nos implantes não-tratados uma quantidade pequena de osso foi detectada nos poros. Células osteoclásticas multinucleadas foram encontradas ao redor do osso novo e da superfície do implante nos implantes bioativos.

A liga de titânio porosa pode ser coberta com fosfato de cálcio pelo método biomimético, com sucesso, para aumentar a osteocondutividade e a osteoindutividade “in vivo”. Os tratamentos químico e térmico são processos simples e econômicos. Outra vantagem é que os implantes são imersos em solução de NaOH, cujo efeito se estende por toda a estrutura irregular do implante. Devido ao tratamento, os implantes de Ti bioativos porosos possuem superfícies bioativas homogêneas por todo o interior dos poros do implante. Isto é considerado uma vantagem em relação ao método convencional de tratamento com fosfato de cálcio por “plasma-spray”, no qual a camada tende a ser aplicada o mais superficial possível e resulta em um tratamento inadequado e não-uniforme. Além disso, os tratamentos químico e térmico não reduzem o espaço dos poros disponíveis para o crescimento do osso, por causa de sua pequena mudança da morfologia da superfície do implante, afetando somente 1 µm da superfície.

Os tratamentos químico e térmico que produzem superfícies bioativas nos poros dos implantes e aumentam a aposição de osso em todo o tempo pós-implantação. Já é bem conhecido que a camada bioativa melhora a aposição de osso. Entretanto, o material coberto com fosfato de cálcio, que possui aposição de osso tende a diminuir com o tempo como resultado de remodelamento ósseo. Por outro lado, o índice de afinidade do titânio poroso bioativo aumentou durante os períodos examinados pós-implantação. Isto confirma a maior estabilidade da camada bioativa dos implantes porosos tratados química e termicamente e assegura um período longo de fixação óssea. Não houve diferença significativa na área sem crescimento e na profundidade sem crescimento nos períodos de tempo de 2 e 4 semanas. Com o passar do tempo, os implantes bioativos aumentaram a osseointegração, enquanto os implantes não-tratados não o fizeram. A osseointegração dos implantes não-recobertos tende a se perder com o tempo, enquanto que com materiais bioativos cobertos a osseointegração se manteve durante o experimento.

Takemoto e colaboradores (2006) investigaram o efeito do tratamento dos implantes com HCl na osteocondutividade dos implantes de titânio bioativos porosos. A osteocondutividade foi avaliada pela implantação “in vivo”. Em estudos prévios foi observado que o titânio poroso tratado química e termicamente por “plasma-spray” possuía osteoindutividade intrínseca e que a formação de osso ocorria após 12 meses “in vivo”. Neste trabalho

otimizaram o tratamento da superfície e aceleraram a osteoindutividade. Foi desenvolvido um tratamento para ácido clorídrico (HCl) diluído pelo titânio poroso, o qual removia sódio de uma estrutura porosa formada complexamente e, mais efetivamente do que o tratamento convencional de água quente. Três tipos de tratamentos superficiais foram aplicados: a) tratamento térmico e alcalino (AH); b) tratamento alcalino, água quente e térmico (AH-água); c) tratamento alcalino, HCl diluído, água quente e tratamento térmico (AH-HCl). A osteoindutividade dos materiais implantados “in vivo” foi avaliada em 3, 6 e 12 meses. O implante de Ti bioativo poroso tratado por AH-HCl apresentou maior osteoindutividade, a qual induziu a maior quantidade de formação óssea durante 3 meses. O tratamento com HCl diluído foi realizado para oferecer efeitos tanto químico, quanto alteração topográfica na superfície do titânio, embora não se pode determinar qual é o fator predominante. Contudo, adicionando o tratamento de diluição de HCl aos tratamentos químico e térmico convencionais tem-se a possibilidade de um melhor tratamento superficial dos implantes de titânio poroso.

Na FIG. 3.7.1 mostra-se as micrografias das superfícies dos implantes após a imersão em SBF. A capacidade de formação de apatita foi alta em todos os grupos e uma ilha esferulítica representando o depósito de apatita pode ser reconhecida na superfície de todos os implantes um dia após a imersão dos blocos de titânio fraturados em SBF. O tamanho das esferulites é maior no grupo AH-HCl, já o número de esferulites é maior no grupo AH-água. Entre 3 e 7 dias, a superfície foi quase inteiramente coberta por uma camada de apatita em todos os grupos. A capacidade de formação de apatita não difere entre as áreas periférica e central de alguns implantes.

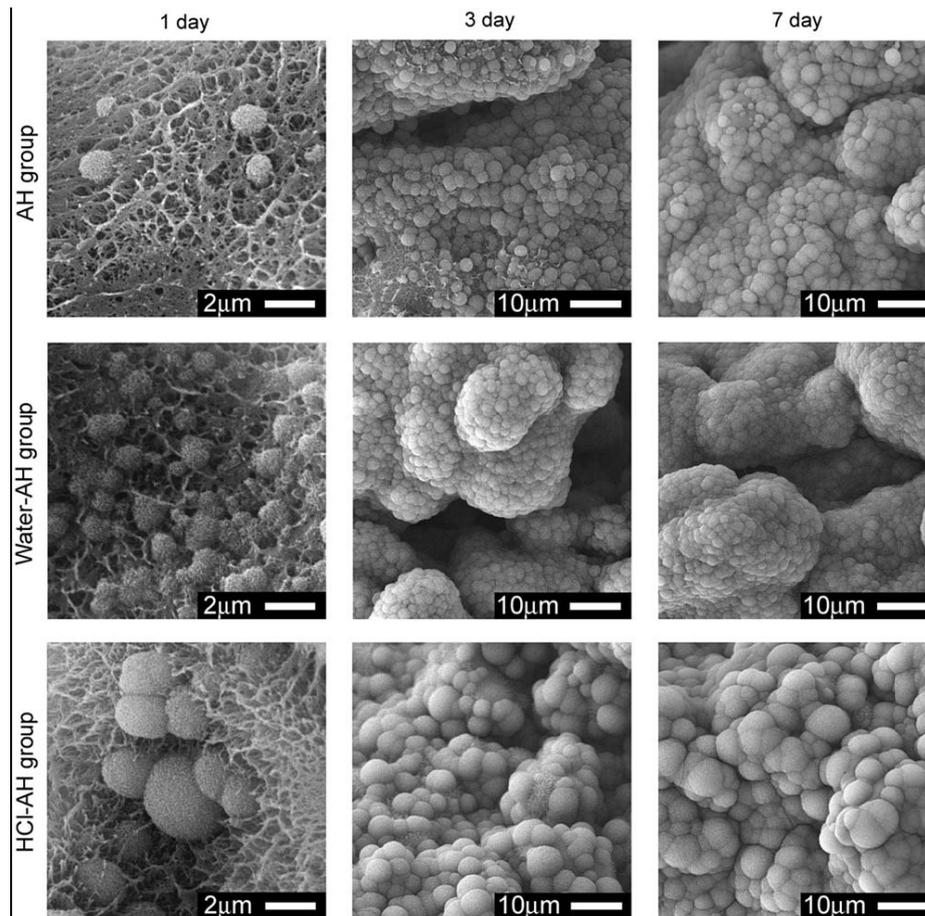


FIG. 3.7.1-Micrografias de MEV das superfícies dos implantes após imersão em SBF por 1, 3 e 7 dias. Notar o maior tamanho de esferulites em grupo AH-HCl e o maior número de esferulites no grupo AH-água. De 3 a 7 dias quase não houve cobertura com uma camada de apatita em todos os grupos. Takemoto et al (2006)

O interior dos poros dos implantes de titânio e o osso formado foram avaliados pela observação das superfícies fraturadas dos implantes (FIG.3.7.2 a-c). Os implantes do grupo AH-HCl com 3 meses pós-implantação apresentaram osso induzido com uma estrutura tridimensional, o qual parecia crescer ao longo das paredes dos poros e em todas as direções (FIG.3.7.2 a). Em algumas áreas ao redor do osso induzido foi identificada a presença de depósito de apatita contendo picos de Ca e P (FIG.3.7.2 b). Em outras áreas afastadas do osso induzido, ainda que depósito de apatita possa não ser observado, análises em EDS mostraram pequenos picos de Ca e P na superfície da camada tratada (FIG.3.7.2 c). Esses pequenos picos de Ca e P também foram detectados na superfície dos implantes AH e AH-água em 3 meses quando não houve ocorrência de indução óssea.

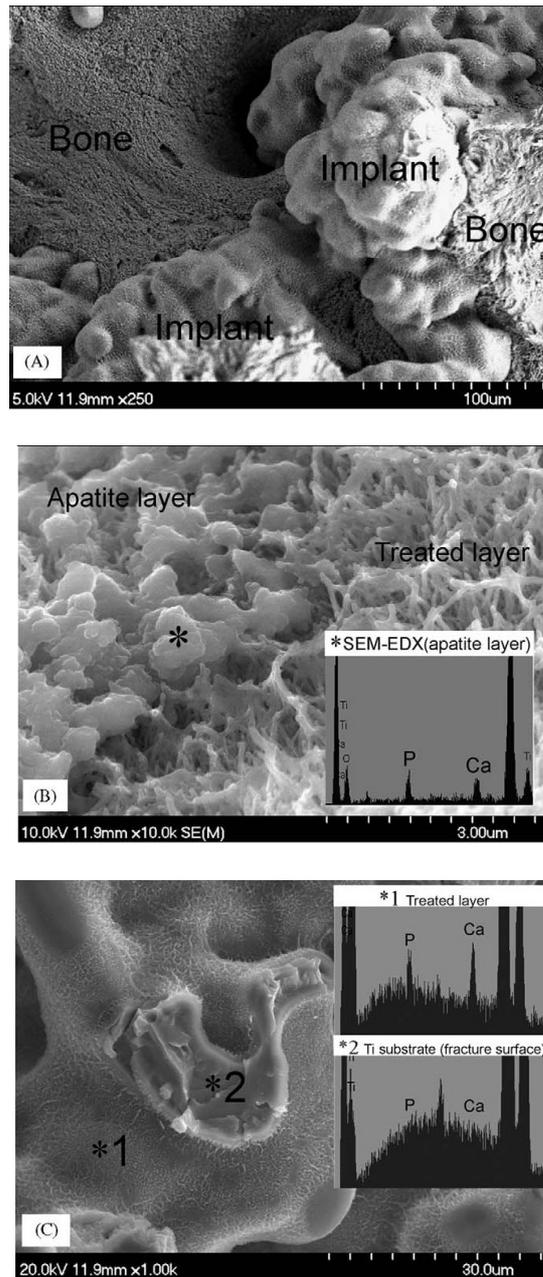


FIG. 3.7.2-Avaliação em MEV dos poros do grupo AH-HCl três meses após implantação “in vivo”. A) Observação do interior da superfície e o osso induzido. A imagem mostra a estrutura tridimensional do osso induzido crescendo ao longo da superfície do implante em todas as direções. B) Observação do interior e ao redor do osso induzido. * depósito de apatita contendo picos de Ca e P em análise de MEV-EDX. C) Observação do interior da superfície do osso induzido. * 1-Camada tratada; 2- Superfície fraturada do substrato titânio. Pequenos picos de Ca e P na análise de MEV-EDX aparecem na superfície da camada tratada. Notar que os picos de Ca e P aparecem na superfície de fratura do substrato titânio (controle negativo). Takemoto et al. (2006)

Os implantes AH-HCl possuíam superfície mais complexa comparada aos outros implantes, a qual pode ter sido causada pelo ataque com HCl. Os implantes AH-HCl exibiram maior osteoindutividade e induziram o crescimento de osso ectópico “in vivo” durante 3 meses. Os resultados do estudo de Takemoto e colaboradores indicaram osteoindução nos materiais, embora não se pode determinar o fator predominante para melhorar essa

osteointituidade seguindo o tratamento de superfície química (formação de titânia e remoção de sódio) com HCl ou mudanças de topografia superficial (ataque).

Tas (2000) preparou partículas de hidroxiapatita com tamanho nanométrico (aprox. 50nm), homogênea, pó cerâmica de sais de nitrato de cálcio tetrahidratado com alta pureza e di-amônio fosfato de hidrogênio dissolvido em solução de fluido corpóreo sintético (SBF) à 37°C e 7,4 usando técnica de precipitação química.

Dois procedimentos de precipitação foram estudados durante a síntese de pó de HA via solução de SBF. O primeiro processo envolveu a adição de volumes pré-determinados de soluções diluídas de NH_4OH na reação, para o ajuste de pH, começando do período de precipitação. Este foi chamado de experimento com “adição inicial”. O segundo procedimento constitui em contínuas adições de hidróxido de amônio durante o processo de precipitação.

Tas considerou que o SBF é uma solução metaestável estado-tampão semelhante ao plasma sangüíneo, saturado em relação à formação e à precipitação de uma fase de fosfato de cálcio amorfo (ACP), devido à alta taxa de 2,5 de Ca/P. As pequenas variações na temperatura das soluções de SBF foram também conhecidas por causa da precipitação espontânea “in situ” de diferentes fosfatos de cálcio como função do pH da solução. Portanto, a adição de reagentes externos como $\text{Ca}(\text{NO}_3)_4\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ao SBF também pode induzir a precipitação. Os resultados químicos acrescidos na variação da taxa de soluções de Ca/P e, com isso a formação de fosfato de cálcio origina-se de diferentes composições.

Pó de hidroxiapatita (HA) quimicamente homogênea e de tamanho nanometro tem sido sintetizado e apresentado bom comportamento ao ser imerso em solução de fluido corpóreo simulado modificado. Os melhores resultados têm sido obtidos com a imersão em solução que apresenta as condições fisiológicas e biomiméticas de pH 7,4 e 37°C, contendo sais de nitrato de cálcio e di-amônio fosfato hidrogenado em quantidades apropriadas pela técnica de precipitação química.

3.8 SUPERFÍCIE DE TITÂNIO OXIDADA ANODICAMENTE

Yang et al (2004) estudaram o efeito da oxidação anódica do titânio em solução de H_2SO_4 combinada com tratamentos térmicos na capacidade de formar apatita. A oxidação anódica foi

empregada para mudar a estrutura e a bioatividade do titânio, formando anatásio e rutilo na superfície metálica. As amostras foram caracterizadas por difração de raio X e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que as superfícies metálicas do titânio foram cobertas por anatásio e/ou rutilo. No fluido corpóreo simulado (SBF), o titânio anodicamente oxidado sob certas condições induz a formação de apatita na superfície. Durante o período de indução da formação de apatita a quantidade de anatásio ou de rutilo aumenta devido à oxidação anódica. Posteriormente, o metal foi submetido ao tratamento térmico em 600°C por 1h, para induzir a formação de apatita em SBF. A quantidade de anatásio ou rutilo foi aumentada pelo tratamento térmico. Os resultados mostraram que a capacidade de indução para formar apatita no titânio poderá ser obtida pela oxidação em conjunto com o tratamento térmico.

No trabalho realizado por Yang et al., após a oxidação anódica e subsequente tratamento térmico, o titânio foi imerso em 30 ml de SBF com concentrações iônicas aproximadas ao do plasma sanguíneo humano, por 3 e 6 dias.

Os resultados obtidos por Yang e colaboradores mostraram que quando o titânio é oxidado anodicamente em 1M de solução de H_2SO_4 , as superfícies tornam-se porosas em voltagens de 90 a 180V e a descarga elétrica ocorre quando a voltagem é maior do que 105V. A porosidade e o tamanho dos poros aumentam com o aumento da voltagem de 155 para 180V (FIG. 3.8). Depois do titânio ser oxidado em 1M de solução de H_2SO_4 em voltagem de 90 a 180V e após o tratamento térmico, comparou-se a morfologia da superfície com titânio sem tratamento térmico e, com isso a morfologia da superfície do material não teve mudança após o tratamento térmico.

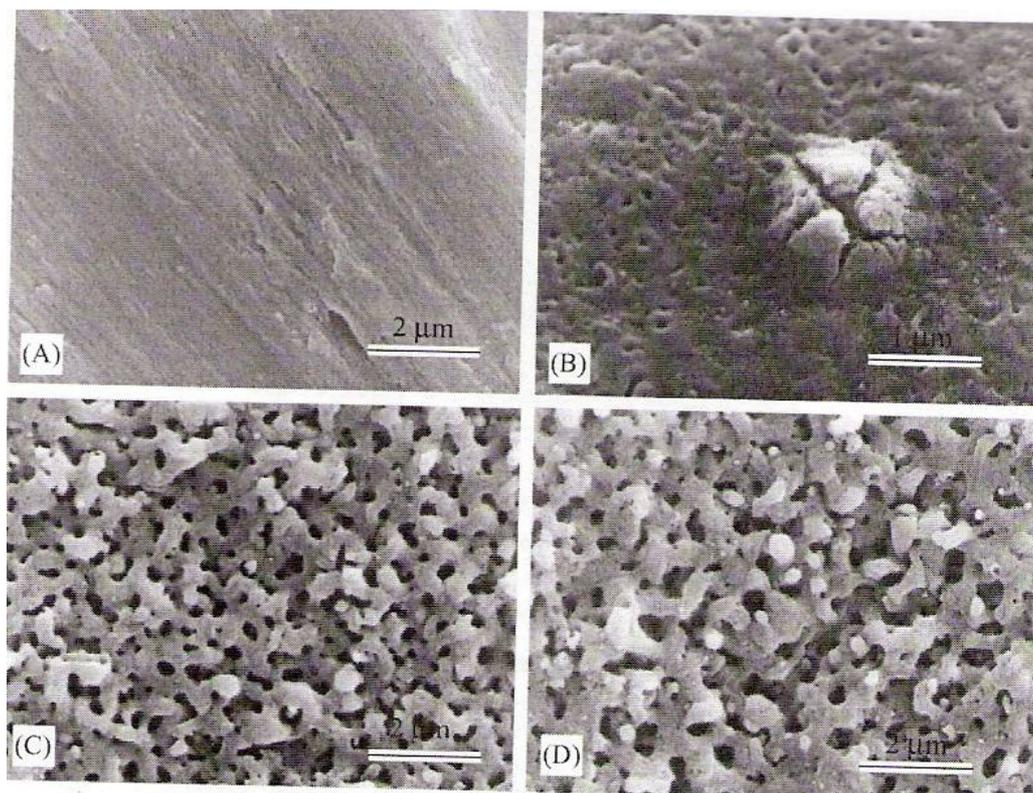


FIG. 3.8-Morfologia da superfície do titânio e oxidados anodicamente em (A) sem tratamento, (B) 90V, (C) 155V, (D) 180V em 1 M H₂SO₄ por 1 min. Yang et al. (2004)

Quando as amostras de titânio foram oxidadas anodicamente em 155V em soluções de H₂SO₄ com concentrações de 0,5-3,0M, a superfície apresentou poros e a descarga elétrica ocorreu em todos os casos. O tamanho dos poros e a porosidade da estrutura aumentaram com o aumento da concentração de 0,5 a 1,0M e, não mudaram com o aumento da concentração de 1,0 para 3,0M (FIG. 3.8.1). Em todas as superfícies dos materiais anatásio e rutilo foram formados.

Após a oxidação das amostras de titânio em solução 1,0M em diferentes voltagens, elas foram imersas em SBF por 3 dias. A apatita foi encontrada nas amostras oxidadas em 155 e 180V, enquanto que em 90V não houve formação de apatita. Após a imersão das amostras em SBF por 6 dias, não foi observada apatita na superfície oxidada em 90V, ao contrário, as superfícies de Ti oxidadas em 155 e 180V apresentaram-se recobertas completamente por apatita (FIG. 3.8.2).

Após o tratamento térmico e a imersão em SBF por 3 dias, todas as amostras de Ti induziram a formação de apatita na superfície. Ao comparar com as amostras sem tratamento, o Ti oxidado em 90V também induziu a formação de apatita, após tratamento térmico. Os resultados são mostrados na FIG. 3.7.5.

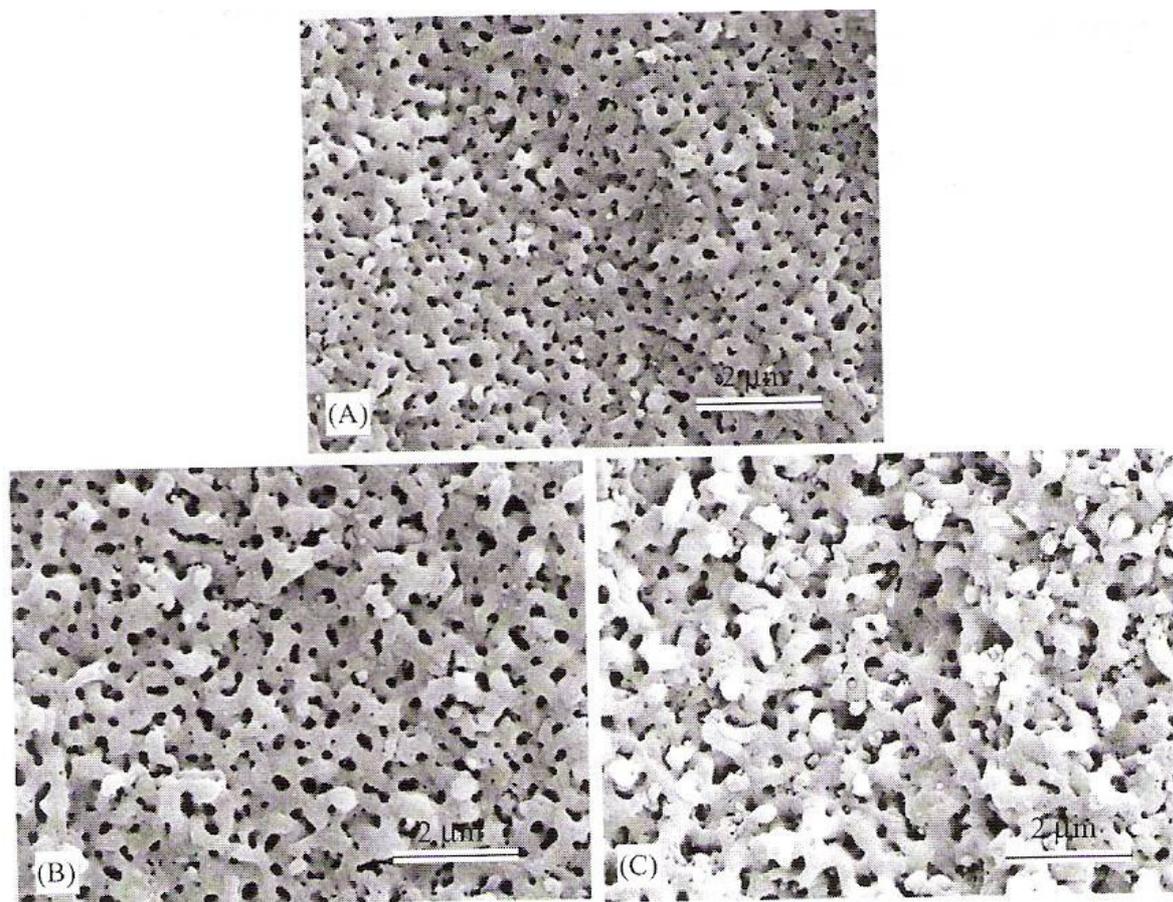


FIG. 3.8.1-Superfície das amostras de Ti oxidadas anodicamente em H_2SO_4 com voltagem de 155V: (A) 0,5M, (B) 1M, (C) 3M por 1 min. Yang et al. (2004)

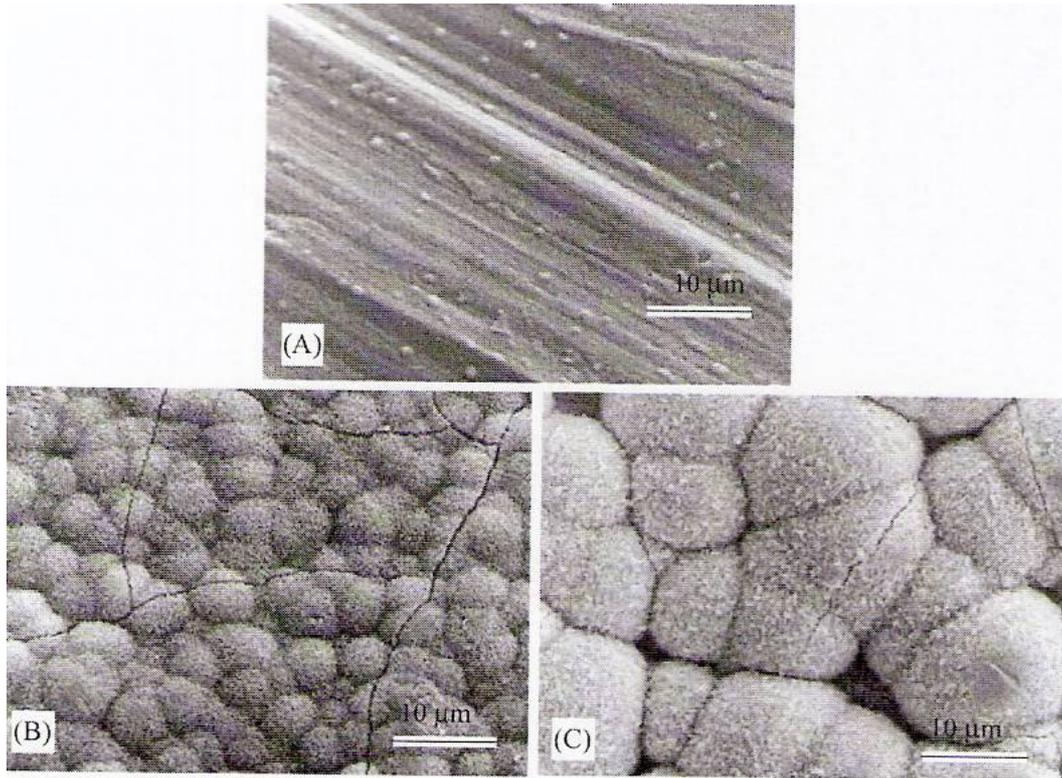


FIG. 3.8.2-Morfologia da superfície das amostras de Ti imersas em SBF por 6 dias após serem oxidadas anodicamente em 1M H₂SO₄ (A) 90V, (B) 155V, (C) 180V por 1 min. Yang et al. (2004)

Yang e colaboradores concluíram que a oxidação anódica com solução de H₂SO₄ é um processo eficiente para preparar o Ti bioativo, o qual é conveniente para os casos em que há necessidade de aplicação de cargas logo após a cirurgia. Uma determinada quantidade de Ti de anatásio e/ou rutilo na superfície oxidada foi requerida para a formação da apatita.

Strnad et al. (2000) estudaram a formação da camada de fosfato de cálcio nas superfícies das amostras de Ti com deposição de hidroxiapatita por “plasma-spray” (PSHA) e jateadas. As amostras foram imersas em fluido corpóreo simulado com concentração de íons semelhante ao do plasma sanguíneo humano. A superfície PSHA induziu a formação de camadas de superfícies de fosfatos de cálcio, enquanto a precipitação do fosfato de cálcio no Ti cp jateado não foi detectada. A avaliação histológica após testes “in vivo” demonstrou que os implantes com uma camada de PSHA permitiu o crescimento de tecido ósseo nas reentrâncias com profundidade acima de 1mm sem formação significativa de fibras teciduais intermediárias.

Strnad e colaboradores selecionaram reentrâncias de 0 a 1mm em amostras de Ti para investigar o crescimento de tecido ósseo. As amostras de implantes cilíndricos de Ti não revestidos e implantes de Ti com camada de PSHA foram implantados em tíbia de cães.

Procurou-se no estudo obter estabilidade primária e contato direto do osso à superfície do implante. As interfaces foram histologicamente avaliadas. Os implantes com a camada de PSHA e os implantes de Ti cp imersos em SBF foram avaliados em testes “in vitro”, mediante análise da superfície de discos de implantes e pela determinação das mudanças nas concentrações dos íons do SBF com respeito ao período de exposição.

As amostras imersas em SBF foram usinadas com titânio cp, grau 3, em forma de discos com diâmetro de 10mm e espessura de 1mm. As amostras não-cobertas foram jateadas com partículas de alumina (tamanho de 100 μ m). As amostras cobertas foram preparadas com deposição plasmática de hidroxiapatita na superfície do titânio cp jateado mencionado anteriormente. Foram avaliados os parâmetros de rugosidade de ambas as amostras, jateadas e PSHA.

As amostras foram imersas em SBF com pH 7,40 e em 36,5°C. As mudanças na concentração das amostras foram determinadas por espectroscopia de adsorção atômica e com um pHmetro. Após a imersão em SBF, a superfície das amostras foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura com EDS e por difração de raioX.

Os implantes recobertos com PSHA foram imersos em SBF. Verificou-se a transferência de íons de cálcio e fosfato da solução, bem como a deposição de cristais esferulíticos de fosfato de cálcio na superfície. Durante os primeiros dias houve queda nas concentrações dos íons de cálcio e fosfato na solução e, o processo apresentou estabilidade após 10 a 12 dias. 10 dias após a imersão observou-se que a superfície da amostra havia sido coberta por uma camada de aglomerados de fosfato de cálcio. A natureza da camada cristalina precipitada foi determinada pela análise em difração de raioX.

As amostras de titânio cp jateadas não exibiram decréscimo na concentração de cálcio e fosfato após exposição ao SBF, mesmo depois de 50 dias. Nas análises das superfícies das amostras com microscópio eletrônico não foi possível identificar a presença de cálcio ou fósforo.

Strnad e colaboradores concluíram que implantes cobertos com PSHA exibem maior tolerância do que os implantes de Ti cp para condições desfavoráveis durante a cicatrização, como na interface das reentrâncias ou na instabilidade primária do implante. Os implantes cobertos com hidroxiapatita por plasma-spray mostraram uma alta porcentagem de contato ósseo quando as reentrâncias foram menores do que 1mm. No caso dos implantes de Ti jateados, o preenchimento das reentrâncias com fibras teciduais foi observado em grande parte da superfície das reentrâncias com profundidade de 0,3mm.

3.9 SUPERFÍCIE DE TITÂNIO TRATADA COM SOLUÇÃO DE CÁLCIO

Hamada et al. (2002) pesquisaram o efeito da modificação da superfície do titânio com soluções de cálcio e tratamento hidrotérmico em autoclave. Os efeitos do tratamento hidrotérmico na estrutura da superfície do Ti foram estudados por difratometria de raio X de filme fino (TF-XRD) e espectroscopia de fotoelétron de raio X (XPS). Além disso, os efeitos na precipitação de apatita na superfície do Ti em solução de Hank, assim como em fluido corpóreo simulado (SBF) foram investigados.

Hamada e colaboradores modificaram as superfícies de Ti utilizando água destilada, solução aquosa de CaO e solução aquosa de CaCl₂. Após a imersão durante 30 dias, os discos foram rinsados com água destilada, secos e pesados. Foram determinadas as mudanças nas massas por unidade de superfície de área antes e após a imersão. Foram preparadas quatro chapas para a medida da mudança de massa. A microscopia eletrônica de varredura foi usada para analisar a morfologia dos precipitados após a deposição de ouro. As amostras foram tratadas em 600°C por 30 min sob condições a vácuo de aproximadamente 10Pa para aumentar a cristalinidade dos precipitados na superfície do Ti e analisados usando TF-XRD.

Os difratogramas obtidos por Hamada e colaboradores das amostras de Ti não-modificado e Ti modificado em água, imersos em soluções de CaO e CaCl₂ com e sem tratamento hidrotérmico são mostrados na FIG. 3.9.

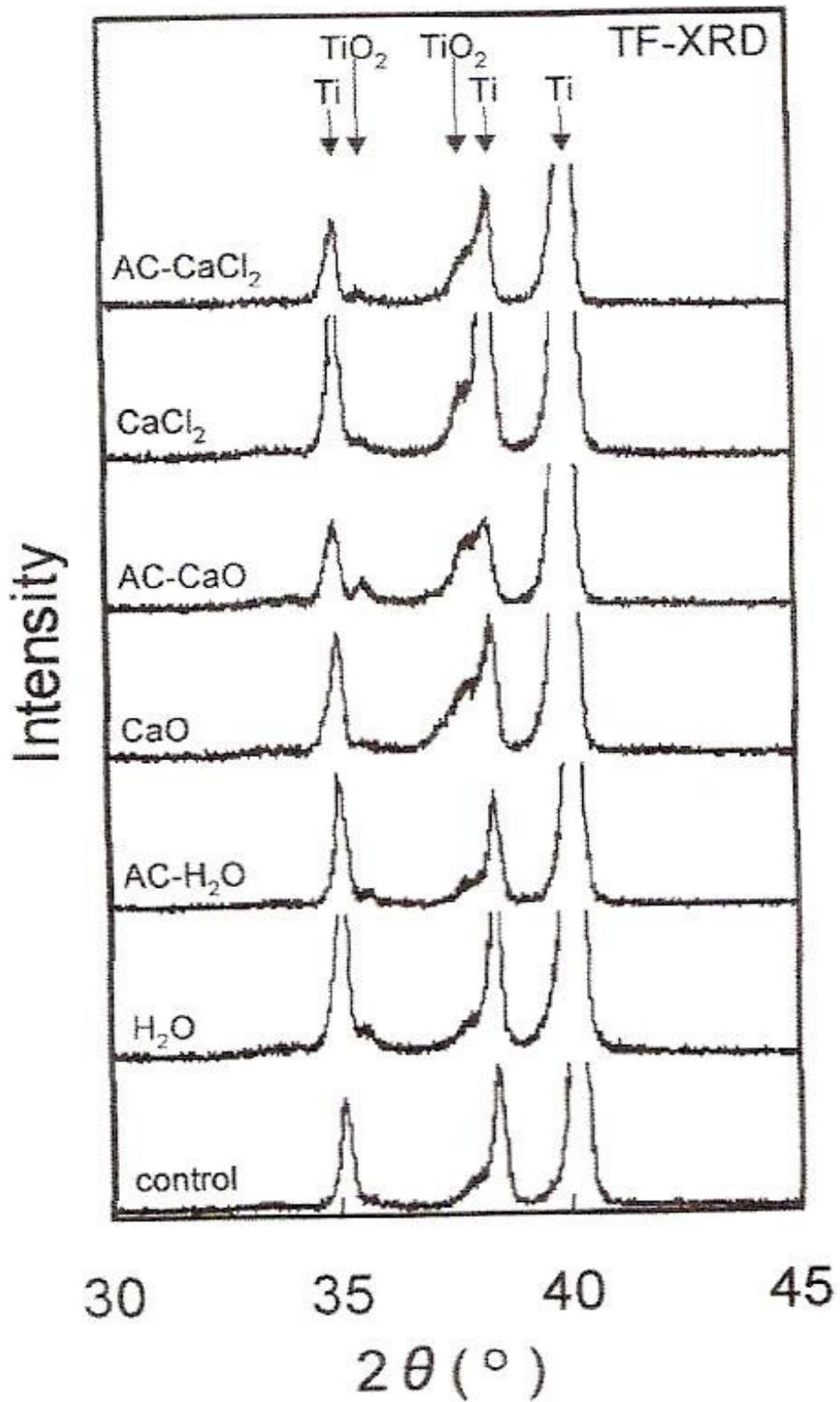


FIG. 3.9-Difratograma das amostras de Ti não-modificada e Ti modificada em água e soluções de CaO e CaCl₂ com e sem tratamento hidrotérmico. Autoclave indica modificação com tratamento hidrotérmico. Hamada et al.(2002)

Picos do TiO_2 (anatásio) foram detectados nas amostras de titânio modificadas em soluções de CaO e CaCl_2 . Esses picos não foram observados no titânio modificado em água. Isto é, o titânio reagiu com as soluções contendo íons de cálcio, resultando na formação de TiO_2 ; o qual reagiu com água em menor grau. O pico fraco detectado no espectro obtido foi da superfície de titânio modificada em solução de CaCl_2 sem tratamento hidrotérmico, o qual indica que a superfície de óxido era fina.

Os resultados indicaram que o tratamento hidrotérmico aumenta a síntese do titanato de cálcio durante a modificação e forma uma camada espessa na superfície modificada contendo titanato de cálcio. Por outro lado, picos foram detectados no espectro da superfície modificada do titânio em solução de CaCl_2 sem tratamento hidrotérmico e, picos fracos foram observados com tratamento.

A análise em MEV das amostras de Ti imersas na solução Hank mostrou significativa precipitação na superfície do Ti modificada com tratamento hidrotérmico em solução de CaO após imersão em solução de Hank por 30 dias. Mostrou também precipitação nas amostras imersas em água com tratamento hidrotérmico e, em soluções de CaO e CaCl_2 sem o tratamento, o qual não tinha diferença morfológica daquele com tratamento hidrotérmico em CaO , mas houve diferença na área coberta pela precipitação. Observou-se também que não houve precipitação nas amostras em água sem tratamento hidrotérmico e não houve precipitação em solução de CaCl_2 com tratamento hidrotérmico.

Após a imersão em solução de Hank, a massa do titânio modificado com tratamento hidrotérmico em água e em solução de CaO aumentou mais do que as sem tratamento. Além disso, com tratamento hidrotérmico em solução de CaCl_2 , a massa aumentou menos do que a sem o tratamento hidrotérmico. Isto é, a camada de superfície modificada foi dissolvida em solução de Hank.

Os possíveis efeitos do tratamento hidrotérmico na superfície modificada são os seguintes: a) a modificação em água mostrou um ligeiro aumento na espessura da camada da superfície, em ambos os casos, com e sem tratamento hidrotérmico e, o aumento da espessura no caso com tratamento hidrotérmico foi menor do que aqueles sem o tratamento; b) a modificação da superfície das amostras em solução CaO também mostrou um ligeiro aumento de espessura no caso com tratamento hidrotérmico; c) modificação em solução de CaCl_2 mostrou significativo aumento da espessura no caso sem tratamento, porém houve aumento da espessura com tratamento.

Com relação aos dados de mudança de massa antes e depois da imersão em solução de Hank, a precipitação da apatita foi melhorada pelo tratamento hidrotérmico em solução de CaO. Esta melhora pode ter sido causada por 3 fatores: 1) o aumento na espessura da camada de superfície modificada; 2) o aumento na camada sintetizada de titanato de cálcio e 3) aumento no óxido de cálcio contido na camada modificada de superfície. Embora, não haja uma explicação clara sobre a causa da precipitação pela espessa camada de superfície, presume-se que a camada de superfície mais espessa pode conter mais íons de cálcio, os quais podem ser percebidos na solução de Hank.

Hamada e colaboradores concluíram que o tratamento hidrotérmico da superfície modificada do Ti é mais efetivo para induzir a precipitação “in vitro” do que naquelas sem o tratamento hidrotérmico e, a superfície modificada hidrotérmicamente tratada pode apresentar melhor resultado em termos de condução óssea. Portanto, a otimização do tratamento hidrotérmico com temperatura e pressão pode levar ao desenvolvimento de outras microestruturas da superfície com grande condutividade óssea.

3.10 EFEITOS DA IMPLANTAÇÃO DE FLÚOR NO TITÂNIO

Cooper et al. (2006) determinaram o efeito da modificação do teor de íon flúor na diferenciação osteoblástica em implantes de Ti cp jateados com TiO₂ e a formação óssea interfacial por pesquisas “in vitro” e “in vivo”. Células mesenquimais humanas foram cultivadas em discos de Ti cp jateados por TiO₂ tratadas em soluções com e sem íon flúor. A adesão celular, proliferação e expressão gênica osteoblástica foram medidas em microscopia eletrônica de varredura. Após 24h, não houve diferença na adesão celular entre as superfícies testadas. Além disso, a superfície tratada com flúor apresentou grande proliferação e crescimento da expressão de proteína óssea e morfogênica BMP-2.

O contato osso-implante formado nas amostras jateadas com TiO₂ e tratadas com solução contendo flúor e a superfície apenas jateada com TiO₂ foi de 55,45% e 34,21%, respectivamente. O tratamento com incorporação de íon flúor na superfície jateada por TiO₂ aumentou a diferenciação osteoblástica “in vitro” e a formação óssea interfacial “in vivo”. Semelhante investigação “in vitro” e “in vivo” demonstra que a modificação com flúor aumenta a diferenciação osteoblástica e a formação óssea interfacial.

O objetivo do trabalho de Cooper et al. foi determinar o efeito da modificação da superfície do Ti jateada com TiO_2 e tratada com soluções contendo íons flúor na osteogênese medida no ensaio de cultura de célula e identificar o grau de formação óssea na interface do implante endósseo. O tratamento do implante jateado com TiO_2 com íon flúor aumentou a adesão e diferenciação osteoblástica das células mesenquimais humanas e aumentou significativamente o contato osso-implante em relação aos implantes de Ti cp jateados com TiO_2 .

A avaliação morfológica no MEV da superfície do implante modificada com íon flúor, não indicou mudança morfológica da superfície em relação à submetida ao tratamento convencional de jateamento com TiO_2 . Na caracterização com MEV observou-se um empacotamento denso de “pites” uniformemente distribuídos na superfície. Após 24h, a adesão das células na superfície dos grupos tratados com flúor exibiu maior proliferação celular do que nas superfícies que não receberam tratamento com flúor. Após 72h, a adesão celular na superfície jateada apresentou pouca atividade proliferativa em relação à superfície jateada com ou sem modificação do íon flúor. Uma tendência de menor proliferação com aumento do tratamento com flúor foi notada em 24h e pode refletir precocemente a diferenciação.

Cooper et al. concluíram que a superfície de Ti cp jateada com TiO_2 modificada com solução contendo íon flúor aumentou a diferenciação osteoblástica, aumentou a expressão gênica osteoblástica em meio de cultura e, apresentou maior formação óssea na superfície do implante modificado com flúor, durante o período de cicatrização. Os resultados indicaram vantagens potenciais com a modificação da superfície dos implantes de Ti cp tratados com soluções contendo fluoreto e houve aumento da área ativa.

3.11 EFEITOS DA TITÂNIA NA FORMAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS

Lee e colaboradores (2006) estudaram os efeitos das características da titânia na formação da apatita bioativa, para melhorar a nucleação preferencial do fosfato de cálcio pela interação entre o íon cálcio no fluido corpóreo e a superfície de óxido carregada negativamente. O filme de óxido de titânio poroso carregado negativamente para aplicações por implantes foi sintetizado por processo eletroquímico em solução de ácido sulfúrico contendo ácido

fosfórico como um aditivo. Caracterização microestrutural, identificação de fase e análise das condições químicas do filme de TiO_2 anódico foram executadas e avaliações biológicas foram realizadas em fluido corpóreo simulado.

O resultado do processo de anodização é mostrado na FIG. 3.11. Para a fabricação da camada de TiO_2 , uma corrente constante anódica de 35mA/cm^2 foi aplicada na amostra de titânio, onde o potencial anódico foi aumentado gradualmente com o tempo. Na FIG. 3.11A, a camada de TiO_2 foi menos porosa do que aquela do filme anódico formada em potenciais altos e, a estrutura celular não foi nucleada quando se iniciava a anodização. Mas, em potencial maior do que 90V , a formação da estrutura celular inicia-se e cresce com a evolução do gás e com o início da chama. O aspecto da estrutura celular é mostrado na FIG. 3.11B. Sob potencial constante de 180V , o tamanho do poro e a espessura aumentou gradativamente com o tempo anódico, como pode ser visto na FIG. 3.11C.

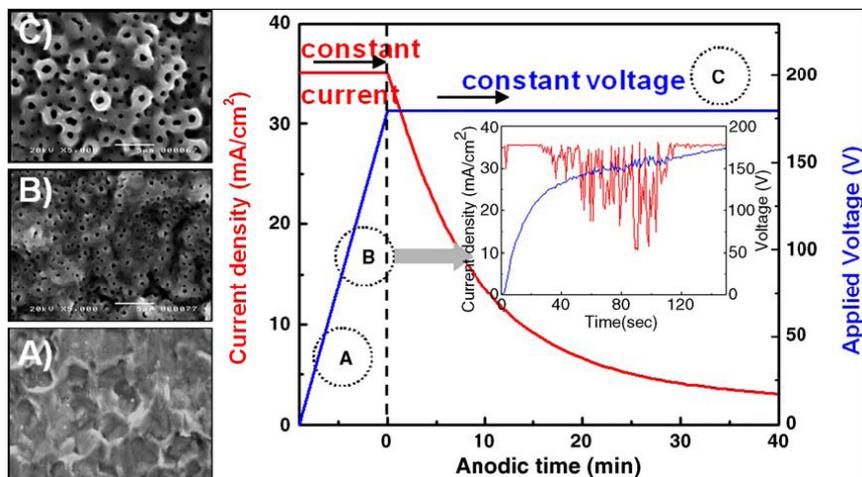


FIG. 3.11-Curva corrente x tensão com tempo para transformar a anodização sob controles galvanoestático e potencioestático, mostrando variação de morfologias de superfícies (A, B, C) durante anodização em mistura de $1,5\text{ M H}_2\text{SO}_4/0,3\text{ M H}_3\text{PO}_4$. Lee et al. (2006)

No processo de anodização, a estrutura e a morfologia dos óxidos anódicos podem variar através do controle dos parâmetros processo, como as composições eletrolíticas. Para observar os efeitos da concentração do ácido fosfórico com aditivo na microestrutura do filme anódico de TiO_2 , a anodização foi executada em 180V por 30 min em várias soluções eletrolíticas. As variações de morfologia com concentrações de ácido fosfórico são mostradas na FIG. 3.11.1. Como comparação, a morfologia do Ti puro atacado é mostrado na FIG. 3.11.1a. Do resultado na FIG. 3.11.1, fica claramente sugerido que a morfologia da superfície da camada anódica de TiO_2 é dependente em composição eletrolítica e também os tamanhos de célula e de poro foram gradativamente aumentados com a concentração de ácido fosfórico

em eletrólise. Essa diferença em morfologias na titânia anódica pode ser afetada pela compatibilidade bioativa.

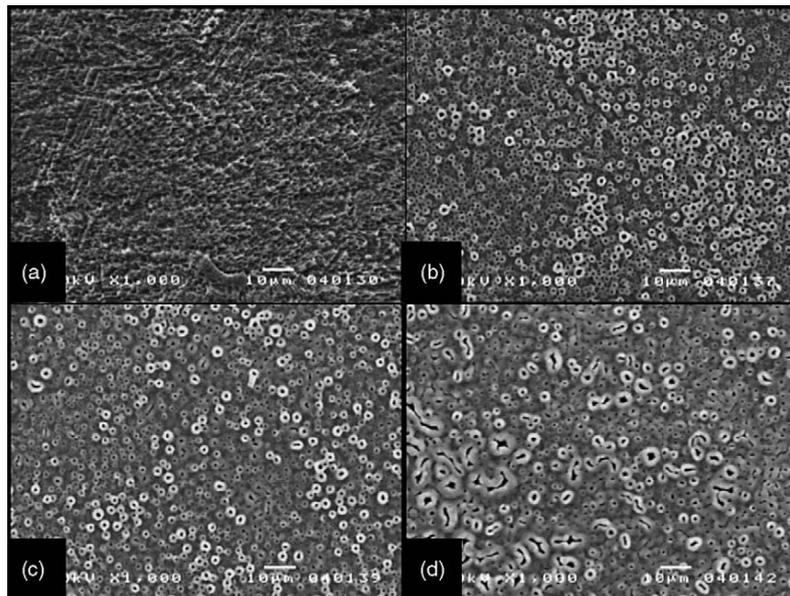


FIG. 3.11.1 - Imagens de MEV das superfícies das amostras após ataque em HF/HNO₃ (a), e anodização em 1,5 M H₂SO₄/0,3 M (b), 1,5 H₂SO₄/ 0,6 M (c) e mistura de 1,5 M H₂SO₄/ 0,9 M H₃PO₄ (d). Lee et al. (2006)

Mostra-se na FIG. 3.11.2 o difratograma do filme de TiO₂ anódico formado em várias concentrações de ácido fosfórico. O espectro de difração de raio X mostrou picos relativos às fases de anatásio e do substrato de titânio. O filme anódico formado em mistura de H₂SO₄/H₃PO₄ apresentou redução gradativa dos picos de difração de anatásio e do titânio com a concentração de ácido fosfórico. Esse dado indica que durante a anodização com ácido fosfórico com maior concentração, a camada anódica cresce mais rapidamente e facilmente incorpora espécies químicas da eletrólise. Os ânions incorporados podem agir como interruptores da formação de anatásio. Portanto, as intensidades dos picos de raio X do titânio e do anatásio apresentam pequena redução.

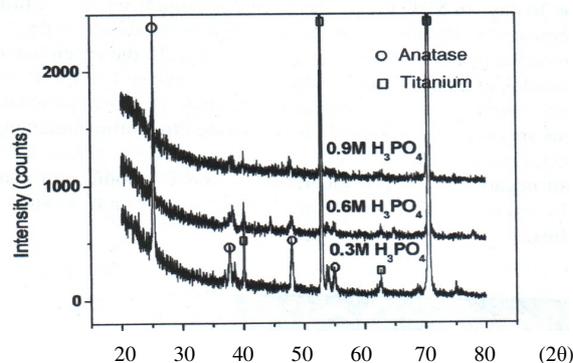


FIG. 3.11.2 - Modelo de difração de raio X dos filmes de titânia anódica com concentração de ácido fosfórico. Lee et al. (2006)

A avaliação da bioatividade dos filmes de TiO_2 anódicos formados em mistura de H_2SO_4 e H_3PO_4 foi analisada em solução de fluido corpóreo simulado. Após a imersão em SBF à 37°C por 20 dias, a superfície do filme anódico foi observada em MEV com espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e foi comparada com a amostra somente atacada em mistura de HNO_3/HF e imerso em SBF. A FIG. 3.11.3 mostra as morfologias do titânio atacado e a superfície anódica de TiO_2 após imersão em SBF por 20 dias. As imagens de MEV mostram os precipitados de hidroxiapatita na superfície de todas as amostras. Os precipitados apareceram em todos dos filmes de óxido anódico. Porém, na camada formada na mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4/0,9\text{M H}_3\text{PO}_4$, como pode-se observar na FIG. 3.11.3 d, existe maior número de partículas do composto de Ca-P.

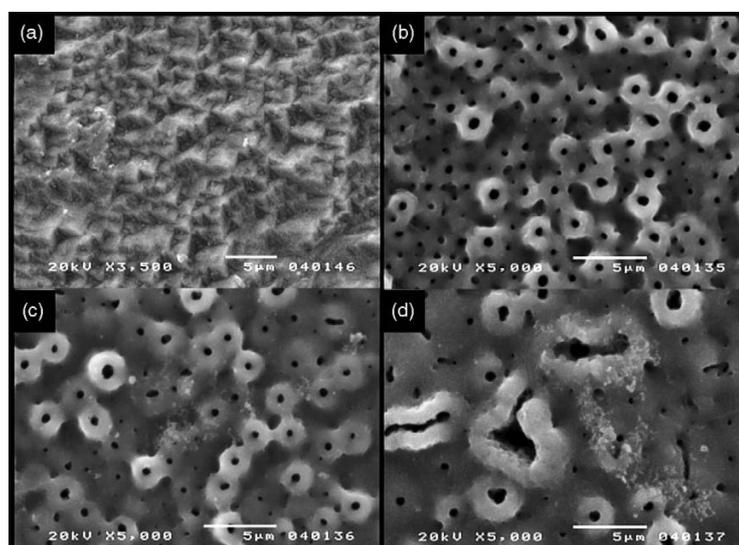


FIG. 3.11.3 - Micrografias das amostras imersas em SBF por 20 dias após ataque somente em HF/HNO_3 (a), anodização com mistura de soluções de $1,5\text{ M H}_2\text{SO}_4/0,3\text{ M H}_3\text{PO}_4$ (b), $1,5\text{ M H}_2\text{SO}_4/0,6\text{ M H}_3\text{PO}_4$ (c) e $1,5\text{ M H}_2\text{SO}_4/0,9\text{ M H}_3\text{PO}_4$ (d). Lee et al. (2006)

O filme de óxido anódico formado em alta concentração de ácido fosfórico apresentou maior precipitação de compostos bioativos Ca-P do que o filme anódico formado em ácido fosfórico diluído. Para examinar os elementos químicos das partículas precipitadas na camada de TiO_2 durante o teste de imersão em SBF, foram realizadas análises em EDS. Após a imersão por 30 dias em SBF, os compostos precipitados no filme anódico obtido com a mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4/0,9\text{M H}_3\text{PO}_4$ são mostrados na FIG. 3.11.4. Com as análises de EDS (FIG.3.11.4), pode-se constatar que as partículas precipitadas com diâmetro aprox. de $10\mu\text{m}$ são compostos ricos em Ca-P-O. Esses resultados indicaram que mais íons fosfato são incorporados no filme de óxido durante a anodização com alta concentração de ácido

fosfórico, e como estas partículas possuem caráter iônico sobre o filme anódico, há aumento do potencial para ocorrer a precipitação de compostos ricos em Ca-P-O no filme anódico.

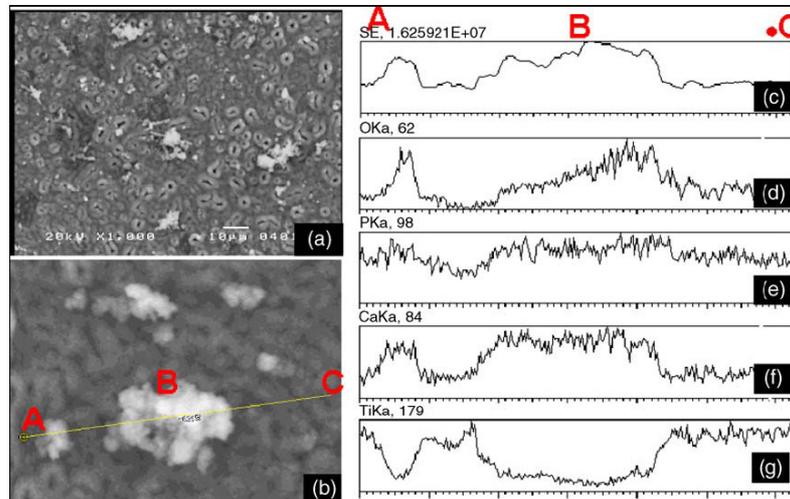


FIG. 3.11.4-Micrografias e perfis lineares de partículas precipitadas na superfície da camada anódica formada em mistura de $H_2SO_4/0,9MH_3PO_4$ e imersas em SBF por 30 dias. As análises de EDS sugerem que os precipitados são compostos ricos em Ca. Lee et al. (2006)

As camadas de TiO_2 anódicas para aplicações em implantes podem ser fabricadas por método eletroquímico. As características da superfície e as propriedades bioativas dos filmes de TiO_2 influenciam na bioatividade. A morfologia da superfície do filme anódico de TiO_2 é dependente da composição e concentração do eletrólito usado na anodização, e a estrutura celular do filme anódico aumenta com a concentração de ácido fosfórico do eletrólito. O filme de óxido anódico obtido no tratamento eletroquímico com o ácido sulfúrico contendo alta concentração de ácido fosfórico, a quantidade de espécies de fosfatos incorporadas na camada de óxido anódico é maior em comparação a baixa concentração de ácido fosfórico na solução. Nas análises químicas com XPS, as espécies com fosfatos incorporados apresentaram sob a forma de HPO_4^- , PO_4^- , PO_3^- . Os locais carregados negativamente na superfície anódica do óxido de titânio agem como locais preferenciais de nucleação de fosfato de cálcio devido à atração do íon cálcio do fluido biológico, o óxido anódico formado na maior concentração de ácido fosfórico representou maior capacidade de precipitação do composto bioativo Ca-P do que o filme anódico formado em ácido fosfórico diluído. Os resultados da análise de EDS mostraram que os precipitados em SBF são compostos ricos em cálcio.

3.12 RUGOSIDADE E MOLHABILIDADE

3.12.1 RUGOSIDADE

Desde que Bränemark et al. descreveram o mecanismo e os efeitos da osseointegração, há quase quatro décadas, diversas pesquisas biomédicas e de materiais têm procurado encontrar a morfologia ideal da superfície de implante dentário capaz de garantir uma longa permanência de ancoragem ao tecido ósseo (VANZILLOTTA et al., 2006). Segundo Bränemark et al., (1977), a osseointegração consiste em uma conexão estrutural e funcional direta entre o tecido ósseo e a superfície de um implante submetido ao carregamento. O desenvolvimento da interface osso-implante depende das interações diretas da matriz óssea e dos osteoblastos (células produtoras de tecido ósseo) com os biomateriais. Além disso, a ligação celular parece ser muito sensível às variações na superfície quanto à composição química e topografia do titânio (forma e rugosidade) comercialmente puro (FENG et al., 2004). Características superficiais como: energia da superfície, rugosidade, topografia e composição química e pH são condições importantes que devem ser analisadas nas interações do implante com o tecido ósseo do hospedeiro (NAYAB et al., 2005).

O processo de crescimento de células sobre a superfície do implante depende da variação da rugosidade, por exemplo, nos implantes com superfície no estado como usinada apresentam proliferação e crescimento das células, preferencialmente, ao longo das marcas de usinagem. Trata-se de uma rugosidade com forte direcionalidade. Em contrapartida, nas superfícies submetidas ao tratamento para mudança da morfologia e rugosidade observa uma menor direcionalidade quanto à rugosidade e, conseqüentemente uma melhor interação das células na superfície dos implantes. Outro aspecto a ser considerado em relação ao efeito da microestrutura superficial na adesão celular é o tipo de célula. Existem células com características de rugofilia, cujas superfícies rugosas são preferidas, como osteoblastos, macrófagos, células epiteliais e leucócitos e, células que são mais atraídas por superfícies lisas, como células gengivais (fibroblastos). Quanto menor é a direcionalidade da rugosidade, melhor o comportamento das células na superfície dos implantes (ELIAS et al., 2004).

Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas na área odontológica, para modificar a morfologia da superfície de implantes com o intuito de melhorar a rugosidade superficial, aumentar a biofixação endóssea, favorecer a cinética do processo de neoformação óssea e

obter sucesso na osseointegração. Entre esses procedimentos pode-se citar: a) deposição de uma camada de hidroxiapatita, b) ataque ácido, c) jateamento com partículas de óxido de titânio (TiO_2), d) microranhuradas, e) oxidação anódica, f) implantação iônica (VANZILLOTTA et al., 2006) e g) jateamento seguido de imersão em ácido (ELIAS et al., 2004). Informações pré-clínica a respeito de jateamento com posterior ataque ácidos em implantes de Ti comercialmente puros indicaram que a extensão da formação óssea nesta superfície é maior do que nos implantes comercialmente puros usinados, sem tratamento superficial (COOPER et al., 2006). Portanto, a importância do tratamento da superfície do implante é comprovada a partir de estudos, os quais demonstraram que o mecanismo de osseointegração de implantes apenas usinados, inicia-se ao seu redor e, não sobre a sua superfície. Por isso, a cicatrização no local desses implantes ocorre a partir de um processo de mineralização gradativo em direção ao implante (SENNERBY e ERICSON, DELIGIANI et al. in ELIAS, 2004). A superfície de um implante somente usinado não é indutora, necessitando a deposição de materiais bioativos, os quais facilitarão a formação de pontes de cálcio e fósforo (ELIAS et al., 2004). Durante a cicatrização, mudanças biológicas ocorrem na interface osso-implante sendo dependentes das propriedades da camada de óxido inicial (ELIAS, LIMA e FIGUEIRA, 2005).

No estudo realizado por Elias, Lima e Figueira (2005) implantes usinados foram submetidos aos tratamentos de superfície através de imersão em tipos diferentes de ácidos; jateamento seguido de ácido; oxidação e tratamento com laser. As amostras foram observadas no MEV antes e após os tratamentos e, as morfologias das superfícies comparadas aos implantes com tratamentos semelhantes. O número de implantes usinados que são comercializados tem sido reduzido drasticamente nos últimos anos, pois possuem superfícies heterogêneas e sulcos orientados provenientes das ferramentas de usinagem. Isto não favorece a adesão de células na superfície do biomaterial e, conseqüentemente, reduz a ligação satisfatória osso-implante. O objetivo do tratamento da superfície dos implantes é aumentar a rugosidade da superfície para induzir a proliferação de células responsáveis pela osseointegração. A empresa Conexão Sistema de Prótese produz o implante Master Screw Porous com essas características de superfície anisotrópica.

No tratamento com ácidos, a rugosidade do implante torna homogênea, ocorre aumento da área superficial ativa e, com isso melhora a bioadesão das células. A essas características damos o nome de superfície isotrópica, pois não é possível identificar uma orientação preferencial das microcavidades, porosidades e sulcos. Esse tratamento consiste em imergir as

amostras em banhos de soluções contendo HCl/H₂SO₄, HF/HNO₃ e HNO₃. Um exemplo de implante comercial com este tratamento é o Master Porous, da empresa Conexão Sistemas de Próteses. Outro tratamento é por jateamento de partículas sólidas na superfície do implante. Essas partículas podem ser constituídas de óxido de alumínio, óxido de titânio, óxido de silício, cloreto de sódio e hidroxiapatita. A rugosidade obtida com o jateamento depende do tamanho das partículas, a distância de jateamento, velocidade de rotação da peça, pressão do equipamento, tempo de jateamento, resistência mecânica das partículas e da peça. A empresa Conexão fornece o implante Master Porous, com esse tratamento superficial.

No tratamento eletroquímico (oxidação), soluções ácidas e básicas são empregadas em diferentes temperaturas, as quais permitem a incorporação de íons de cálcio, flúor e fósforo. O objetivo deste processo é aumentar a espessura da camada de óxido e simultaneamente modificar a morfologia, composição química, cristalinidade e rugosidade superficial. Com este tratamento mudanças na espessura, estrutura de microporos e cristalinidade ocorrem, melhorando assim, o comportamento biomecânico dos implantes. Portanto, a formação óssea e, conseqüentemente a osseointegração serão influenciadas por essas mudanças relacionadas às características da superfície do óxido (Sul in Elias, Lima e Figueira, 2005). Os implantes comercializados atualmente com essas características são o TiUnite produzidos pela empresa Nobel Biocare, Gotemborg – Suécia e o Master Vulcano produzido pela Conexão. A rugosidade é influenciada pelos parâmetros envolvidos no tratamento de oxidação, como tipo de solução, concentração e temperatura do processo (Elias et al. e Sul in Elias, Lima e Figueira, 2005).

No tratamento com laser observa-se macrorugosidades na superfície do implante e, não há a formação de microrugosidades. A superfície tratada com laser apresenta característica típica de estrutura bruta de fusão, os cristais possuem a superfície lisa e ocorre união entre eles. A desvantagem desse processo é a criação de regiões com baixa rugosidade, dificultando a adesão das células mecanicamente. Os implantes que possuem superfície como usinada ou tratadas com laser apresentam características morfológicas anisotrópicas.

Os valores dos parâmetros de rugosidade são importantes para analisar a adesão, a adsorção e o espalhamento das células. Os parâmetros de rugosidade mais utilizados são os números de picos por unidade de comprimento (P_c); o valor médio aritmético dos desvios do perfil da rugosidade em relação a uma linha média (R_a ou S_a); o valor médio quadrático da rugosidade (R_q ou S_q); o valor médio de cinco rugosidades unitárias medidas entre o ponto mais baixo e o mais alto do perfil (R_z); rugosidade máxima ($R_{máx}$); distância média entre

sulcos (S_m); o valor da rugosidade média dos picos que estão acima da área de contato mínima do perfil (R_{pk}) e o valor da rugosidade média dos valores que estão abaixo da área de contato do perfil (R_{vk}).

De acordo com Wennerberg e Albrektsson in Elias, 2005 os implantes como usinados possuem rugosidade entre 0,5 e 1,0mm; os implantes tratados com ácido apresentam rugosidade média entre 0,54 e 1,97mm; os jateados possuem valores de rugosidade variando entre 0,84 e 2,12mm e os implantes com a superfície oxidada apresentam R_a acima de 2,00mm. Além disso, implantes tratados superficialmente com ácidos têm sua rugosidade modificada e a superfície torna-se isotrópica. Isto, já não ocorre com implantes tratados com jateamento, no qual há mudança simultânea na rugosidade e na energia superficial devido às tensões residuais compressivas.

A rugosidade está associada a um importante fator que é a osseointegração, a qual pode ser medida pelo torque de remoção. Por isso, quanto mais adequada a rugosidade, maior é a resistência à remoção do implante (Elias et al., 2005).

De acordo com Oshida e Lim (2001) a ligação de células às superfícies de titânio biocompatíveis é um importante parâmetro na área clínica de implante médico e odontológico. Uma importante consideração reservada aos implantes tem sido a produção de superfícies que promovem respostas desejáveis nas células e tecidos em contato com os implantes. Esses pesquisadores estudaram três materiais de titânio (titânio comercialmente puro-TiCp; Ti6Al4V e TiNi), os quais foram tratados mecanicamente, quimicamente, mecano-quimicamente e termicamente para formar superfícies côncavas com diversas rugosidades. Usando quatro meios diferentes (água destilada; 1% de solução aquosa de NaCl; uma suspensão de neutrófilos humanos e uma suspensão de células de ligadas a osteoblastos MG-63), foram medidos ângulos de contato iniciais. Seis leituras (três gotas de cada medida por dois observadores) foram coletadas de cada material e para cada meio. A correlação de coeficientes foi usada para comparações pelos grupos. Como resultado, observou-se que, estatisticamente, o titânio cp não obteve diferenças significativas nos ângulos de contato entre os quatro meios; o ângulo de contato aumentou linearmente com a rugosidade média, isto quando os ângulos foram maiores que 45° e, o ângulo de contato diminuiu linearmente com a rugosidade, quando os ângulos foram menores que 45°.

A união das células à superfície do titânio é uma consideração importante na área clínica odontológica. O principal fator dos responsáveis pelo desenho dos implantes é a produção de superfícies que promovem desejáveis respostas nas células e tecidos em contato com os

implantes. Comportamentos celulares, tais como adesão, mudança morfológica, alteração funcional e proliferação são extremamente afetadas pelas propriedades da superfície, como a hidrofiliabilidade, rugosidade, carga, energia livre e morfologia. A resposta tecidual ao implante dental pode envolver fatores tais como tamanho, forma, topografia da superfície e relativo movimento interfacial, bem como fatores químicos associados com a composição e estrutura do implante. O primeiro fator deve ser considerado como a compatibilidade morfológica. Os segundo e terceiro fatores são bem documentados como compatibilidade mecânica e compatibilidade biológica, respectivamente. Essas três compatibilidades são exigidas para se obter com sucesso um sistema de implante funcional.

As propriedades da superfície dos biomateriais atuam como papel fundamental no processo de adesão das células adjacentes. A adesão celular e seu espalhamento no biomaterial são, entre outros fatores, dependente da molhabilidade da superfície do material. Medidas de molhabilidade do material, expressa pelo ângulo de contato na presença de diferentes líquidos, é um índice de citocompatibilidade. A modificação da superfície do titânio tem sido muito estudada a fim de melhorar a aposição óssea, adesão tecidual e migração de células osteoblásticas. Com a superfície química do titânio modificada, diferentes taxas de ligação celular foram observadas. Porém, respostas bioquímicas das células em relação a outras propriedades superficiais, como espessura do óxido, topografia da superfície ou mudanças dinâmicas podem ocorrer após a implantação do implante.

Os biomateriais usados dentro do organismo devem entrar em contato com células relacionadas aos tecidos. Por esta razão, eles devem ser naturalmente inofensivos ao organismo. Além disso, eles devem possuir um efeito biológico capaz de fornecer circunstâncias favoráveis às propriedades e funções das células no local do implante.

A superfície atua com um papel fundamental nas interações biológicas por quatro razões. Primeira, a superfície do biomaterial é a única parte em contato com o meio. Segundo, a região superficial do biomaterial é quase sempre diferente na morfologia e na composição do volume. Diferenças surgem do rearranjo molecular, reação de superfície e contaminação. Terceiro, para biomateriais que não liberam substâncias tóxicas, as características da superfície comandam a resposta biológica. Quarto, algumas propriedades superficiais como topografia afetam a estabilidade mecânica da interface tecido-implante.

Portanto, os métodos de preparação de superfície de implante pode significativamente afetar a resultante das propriedades da superfície e subseqüentemente as respostas biológicas que ocorrem nessa superfície. Recentes pesquisas mostraram que o sucesso ou o fracasso de

implantes odontológicos podem ser relacionados não somente às propriedades químicas da superfície do implante, mas também à natureza micro-morfológica. Do ponto de vista “in vitro”, a resposta de células e tecidos em superfícies de implantes pode ser afetada macroscopicamente pela topografia ou geometria da superfície, bem como pela superfície morfológica ou rugosidade microscopicamente.

Essas características afetam, incontestavelmente, a resposta de células e tecidos a vários tipos de biomateriais. De todas as respostas celulares, considera-se a adesão celular a mais importante resposta necessária para o desenvolvimento de uma interface rígida osso-implante.

Macroscopicamente (rugosidade $>10\mu\text{m}$), a rugosidade é influenciada pelas propriedades mecânicas da interface osso-titânio, bloqueio mecânico da interface e a biocompatibilidade do material. Microrugosidades superficiais promovem significativamente melhor aposição óssea do que superfícies lisas resultando em maior porcentagem de osso em contato com o implante. Essas microrugosidades superficiais podem influenciar as propriedades mecânicas da interface, a distribuição de tensão e também o remodelamento ósseo. Aumentando a área de contato e o bloqueio mecânico do osso em relação à superfície microrugosa, pode haver diminuição de concentração de tensão resultando em redução da reabsorção óssea.

Diversos estudos de implantes odontológicos clínicos têm focalizado o sucesso dos implantes endósseos na variedade de características superficiais. Na tentativa de melhorar a quantidade e a qualidade da interface osso-implante, inúmeras modificações na superfície dos implantes foram realizadas. Para se obter compatibilidade morfológica a superfície do implante de titânio necessita ser alterado. Essas superfícies podem ser tratadas com métodos aditivos (criando uma textura convexa na superfície), assim como no processo de “spray” de plasma que aumenta a área superficial. Elas também podem ser modificadas através de métodos subtrativos (criando uma textura côncava na superfície), assim como imersão em ácido, ataque ácido, jateamento de partículas para alterar a textura, bem como aumentar a área superficial. O desenvolvimento e o uso dessas modificações na superfície têm sido baseados na teoria de que a osseointegração satisfatória pode ser obtida com o aumento da topografia e da rugosidade da superfície do implante (LIM e OSHIDA, 2001).

3.12.2 MOLHABILIDADE

A molhabilidade mede a energia das superfícies através do ângulo de contato de líquidos com a superfície. Os valores do ângulo de contato indicam se a superfície é hidrofílica ou hidrofóbica. Elias et al., (2005) observaram que as superfícies oxidadas em contato com água destilada ou solução salina são mais hidrofílicas do que as superfícies tratadas com ácido ou jateadas. Nos testes “in vitro” e “in vivo” foram observados que a área da superfície de titânio, onde ocorre o espalhamento de osteoblastos humanos, aumenta com a molhabilidade da superfície (Georgi, Grinnel e Groth in Elias, 2005).

Outros estudos mostraram que quanto maior a molhabilidade da superfície maior é a proliferação de células, principalmente de osteoblastos. Além disso, os fibroblastos possuem maior adesão e espalhamento na superfície hidrofílica que na hidrofóbica (Webb, Hlady e Tresco in Elias, 2005).

Kamei e Mitsuhashi (2000) estudaram as superfícies hidrofóbicas e hidrofílicas de um único cristal de dióxido de titânio em relação ao controle da molhabilidade de sua superfície pelo tratamento mecânico-químico. O controle da molhabilidade em uma superfície com posições arbitrárias de superfícies sólidas é extremamente interessante no ponto de vista da ciência e da tecnologia. Recentemente, foi descoberto que uma posição controlada com alta velocidade de transição hidrofílica para hidrofóbica era possível em superfícies de um único cristal de anatásio-TiO₂, aplicando um novo método de “fricção molhado”. Esse novo modelo de tratamento de superfície mecânico-químico proporcionou a troca da superfície hidrofílica com ângulo de contato de 3° para uma superfície com ângulo de 80° durante 1 minuto, em posições arbitrárias na superfície. Conseqüentemente, comportamentos hidrofóbicos podem ser realizados em superfícies hidrofílicas.

O filme de anatásio TiO₂ mostrou um ângulo de contato de 81° antes da irradiação de UV. Esta irradiação foi realizada utilizando uma lâmpada de 200W de Hg-Xe com fibra ótica associada e 20 min. de irradiação UV, que resultou em uma superfície homogênea hidrofílica do filme. Duas gotículas de água foram difundidas no filme, ambas mostrando idênticos ângulos de contato de 3°.

A difusão da água com ângulo de contato de 3° e a gotícula de água com ângulo de contato de 80° foram observadas lado-a-lado na mesma superfície. Isso foi previamente avaliado ao período de armazenagem de duas a três semanas no escuro, o qual era necessário

para uma completa reconversão de superfícies de TiO₂ de hidrofílico para hidrofóbico. Porém, esse novo método “fricção molhado” fornece posição controlada, bem como reconversão na superfície hidrofóbica. O ângulo de contato inicial do filme era de 81°, durante 20 min. de irradiação UV voltada para a superfície hidrofílica com ângulo de contato de 3°.

A mudança da superfície hidrofóbica para hidrofílica no TiO₂ foi atribuída à formação e extinção do grupo hidroxil da superfície. Precisamente, a irradiação UV causou redução de íons Ti de Ti⁴⁺ para Ti³⁺ e a produção de vacâncias de oxigênio nas superfícies TiO₂. Subseqüente adsorção dissociativa de vapor de água ambiente nessas vacâncias de oxigênio resultou na formação de um grupo hidroxil na superfície (transição hidrofóbica para hidrofílica). A remoção desses grupos hidroxis da superfície defeituosa de TiO₂ (transição hidrofóbica para hidrofílica) pode ser atribuída a reoxidação de TiO₃⁺ na superfície durante a armazenagem no escuro. A força mecânica usada no processo de “fricção molhado” foi em torno de 5000 N/m², muito forte para causar defeitos superficiais na superfície TiO₂, a qual pode facilitar a adsorção do grupo hidroxil.

O método de “fricção molhado” apresenta potencial para desenvolvimento da nova tecnologia. Através desse processo consegue-se o controlar localmente o ângulo de contato da água na superfície do TiO₂.

Molhabilidade constitui-se o ângulo de contato entre um líquido e um substrato. A molhabilidade de uma superfície é amplamente dependente da energia de superfície e influencia o grau de contato com o meio fisiológico; aumentando a molhabilidade, aumenta a interação entre a superfície do implante e o meio biológico.

A molhabilidade na superfície de biomateriais é avaliada para atuar sobre a ligação de células. Essa ligação celular no estágio inicial é afetada pelas propriedades físicas e químicas, incluindo a molhabilidade. Com isso, pode-se concluir que a ligação celular ao material está intimamente relacionada à molhabilidade da sua superfície. Por essa razão que o foco do desenvolvimento dos biomateriais tem encontrado meios de controle da molhabilidade da superfície do material e a ligação com tecidos do local do implante. Portanto, com baixo ângulo de contato (maior a molhabilidade), a taxa de ligação celular será alta, enquanto que com menos ligação celular, o ângulo de contato é alto e, conseqüentemente a molhabilidade será menor (LIM e OSHIDA, 2001).

Oshida e colaboradores investigaram as mudanças de ângulos de contato em alguns biomateriais pré-oxidados incluindo Titânio comercialmente puro, Ti6Al4V, NiTi, Ni puro, aço inoxidável 316L e liga Co-Cr. Todos os materiais foram oxidados a 300°C por 30 minutos

em puro oxigênio. Utilizando 1% de solução NaCl, um método de gotejamento foi empregado para medir os ângulos de contato e, mudanças nestes em função do tempo foram medidas. Alterações nos ângulos de contato em função do tempo indicam que todos os materiais testados podem ser classificados dentro de três grupos; (i) baixo ângulo de contato inicial com baixa taxa de alteração para o Ni puro e a liga Ti6Al4V, (ii) alto ângulo de contato inicial com baixa taxa de alteração para o aço inoxidável 316L e a liga Co-Cr e (iii) alto ângulo de contato com alta taxa de alteração para o Ti cp e NiTi. Com isso, pode-se dizer que a energia de superfície, determinada pelas medidas de ângulos de contato, está relacionada à estrutura cristalina do filme de óxido da superfície.

O objetivo do trabalho de Lim e Oshida era elucidar a relação entre a superfície rugosa e a medida de ângulo de contato em diversas superfícies de titânio trabalhadas mecânica e quimicamente. Além disso, esclarecer o efeito da molhabilidade dos materiais de titânio em culturas de células, com a molhabilidade sendo expressa pelos ângulos de contato na amostra através de quatro meios diferentes (água destilada, 1% de solução de cloreto de sódio, uma suspensão de neutrófilos humanos e uma suspensão de células MG-63 ligadas a osteoblastos).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi dividido nas seguintes etapas:

1) Preparação da solução Kokubo antecedida pela análise bibliográfica das diferentes composições das soluções propostas, inclusive a importância da água Milli-Q obtida por osmose reversa, praticamente isenta de íons metálicos que agiriam como agentes nucleantes de precipitação. A prática da preparação adequada desta solução tem-se mostrado de fundamental relevância.

2) Determinação da rugosidade e da molhabilidade das superfícies antes da imersão na solução SBF. A rugosidade e a tensão superficial têm forte influência na nucleação e no crescimento dos cristais precipitados. A molhabilidade foi medida com água destilada (controle) e solução de fluido corpóreo simulado (SBF).

3) Imersão das amostras de implantes de titânio com a incorporação de cálcio, fósforo e flúor na superfície. É importante a busca contínua de informações sobre a influência e o comportamento dos íons cálcio e flúor e do radical fosfato na superfície dos implantes dentários, bem como, nas pastilhas e discos de titânio.

4) Caracterização das superfícies dos corpos de prova pela observação no MEV, antes e após a imersão na solução Kokubo.

5) Caracterização das amostras após imersão, precipitação e secagem, por Difração de raios X e microanálise com EDS.

4.1 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO SBF

A solução SBF usada no presente trabalho foi a convencional, proposta por Kokubo, com composição química mostrada na TAB. 4.1 (KOKUBO e TAKADAMA, 2006), pois é a mais utilizada segundo a literatura.

Os reagentes utilizados para a preparação da solução Kokubo foram adquiridos na representante MERCK-Hexágono Química e Equipamentos Ltda-Rio de Janeiro. A vidraria usada para a produção e armazenamento da solução, assim com o pHmetro de mesa e um termômetro para ser colocado em estufa foram obtidos da Elzividros- Rio de Janeiro.

TAB. 4.1-Quantidades e purezas dos reagentes para preparação de 1000 ml de SBF. Kokubo e Takadama (2006)

| Reagentes | Quantidades | Pureza (%) |
|---|-------------|------------|
| NaCl | 8,055g | 99,5 |
| NaHCO ₃ | 0,355g | 99,5 |
| KCl | 0,225g | 99,5 |
| K ₂ PO ₄ .3H ₂ O | 0,231g | 99,0 |
| MgCl ₂ .6H ₂ O | 0,311g | 98,0 |
| 1,0M-HCl | 39ml | _____ |
| CaCl ₂ | 0,292g | 95,0 |
| Na ₂ SO ₄ | 0,072g | 99,0 |
| Tris* | 6,118g | 99,0 |
| 1,0M-HCl | 0-5ml | _____ |

* Hidroximetil aminometano

Antes da preparação da solução SBF, toda a vidraria utilizada foi lavada com detergente Extran 5% v/v e rinsada com água Milli-Q. O detergente Extran foi adquirido na MERCK-Hexágono Química. Após a pesagem dos reagentes mostrados na TAB. 4.1, em uma balança analítica com precisão de 0,0001g fez-se a dissolução dos reagentes em um litro de solução. A dissolução foi realizada à temperatura de 37° C e com agitação moderada. A água usada em todas as etapas do processo foi proveniente do sistema de filtros e osmose reversa Milli-Q. Neste processo purifica-se a água até o grau ultrapura (praticamente “livre de íons”). É importante o monitoramento do pH durante toda a dissolução dos constituintes, evitando assim precipitações prematuras. Um pHmetro calibrado foi usado. O pH até a dissolução do sulfato de sódio foi mantido em 1,25 e, após a adição lenta do reagente tris, o pH foi elevado para 7,65. A seguir fez-se o gotejamento de HCl para ajustar o pH em 7,4. O reagente (tris) também foi adicionado para o ajuste do pH. Um importante indicativo do sucesso da preparação da solução Kokubo é a manutenção da limpeza e ausência de cristais ou precipitados em suspensão após encubação em estufa à 37°C. A solução de SBF preparada foi armazenada em frascos de polietileno previamente limpos, de acordo com o padrão de lavagem para todo o material e sua conservação foi feita em geladeira. Para testar o desempenho da solução, um cilindro de titânio com a superfície tratada (por anodização) foi mantido imerso em SBF à 37°C, durante 21 dias. Após lavagem e secagem foi analisado no MEV para verificar a ocorrência de precipitação na sua superfície. Havendo precipitação, conclui-se que a solução preparada está apta a ser usada, como mostrado na FIG. 4.1. A

preparação da solução de SBF foi realizada no laboratório de cerâmica do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF-Rio de Janeiro).

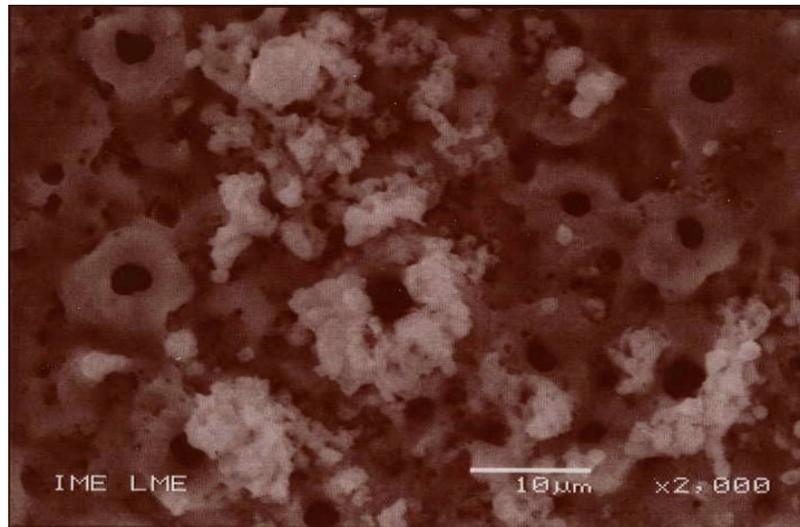


FIG. 4.1-Precipitado de SBF no cilindro de titânio anodizado.

4.2 PREPARAÇÃO DAS SUPERFÍCIES DOS IMPLANTES E PASTILHAS DE TITÂNIO

Foram usados 48 implantes, que foram divididos em quatro grupos:

- 12 usinados sem tratamento da superfície (usinada);
- 12 com ataque ácido convencional;
- 12 com tratamento de anodização e
- 12 tratados com Flúor (NaF).

Foram usadas 30 pastilhas com 2,0mm de espessura: 6 unidades sem tratamento (usinada) com a superfície semelhante ao implante dentário comercial (Conexão Sistema e Próteses, São Paulo); 9 tratadas com ataque ácido (Conexão Sistema e Prótese); 9 com tratamento obtido por anodização (Conexão Sistema e Prótese) e 6 tratadas com NaF.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA RUGOSIDADE, MORFOLOGIA E MOLHABILIDADE

Nesta etapa duas amostras de cada grupo foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura, Jeol JSM-5800 LV (IME-Rio de Janeiro). A rugosidade foi determinada na lateral das pastilhas, pois no centro existem marcas profundas das ferramentas de usinagem que podem fornecer valores dos parâmetros da rugosidade sem significância em relação ao corpo dos implantes. O rugosímetro usado foi Perthometer Concept com apalpador mecânico de capacidade de 50 μm e apalpador a laser com capacidade de 250 μm (UFF-Volta Redonda).

A rugosidade ou textura primária pode ser definida como o conjunto de desvios ou irregularidades na superfície do material. Os parâmetros determinados para a quantificação da rugosidade foram: Ra, Rq, Rz, Rmax, Rt, R_{3z}, Pt.

i) Ra representa a rugosidade média aritmética (μm), cuja medida é a média aritmética das áreas acima da linha média do perfil, dentro do percurso de medição l_m .

ii) Rq é a rugosidade média quadrática, cuja medida é a média quadrática das áreas acima da linha média do perfil, dentro do percurso de medição l_m .

iii) Rz é a rugosidade média total, a qual compreende a média aritmética das alturas das asperezas Z_i medidas em cada comprimento amostral do perfil. Corresponde à média aritmética dos 5 valores de rugosidade parcial, sendo que rugosidade parcial (Z_i) é a soma dos valores absolutos das ordenadas dos pontos de maior afastamento, acima e abaixo da linha média, existentes dentro de um comprimento de amostragem (cutoff).

iv) Rmax é a rugosidade máxima, a qual é a altura máxima dos picos, ou o maior valor das rugosidades parciais (Z_i) encontrada dentro do comprimento de avaliação (l_m).

v) Rt é a profundidade total da rugosidade, a qual corresponde à distância vertical entre o pico mais alto e o vale mais profundo dentro do comprimento de avaliação, independentemente dos valores de rugosidade parcial.

vi) R_{3z} é a rugosidade média do 3º pico e vale, define-se como a média aritmética dos valores de rugosidade parcial ($3Z_i$) correspondentes a cada um dos cinco módulos (cutoff).

vii) Pt é a fração de contato determinada na profundidade do vale, está definida como a porcentagem da área de contato gerada pelo truncamento dos picos para uma certa profundidade que também pode ser expressa em porcentagens considerando o valor de percurso (l_m) como sendo 100%.

Para determinar a molhabilidade das pastilhas e discos de titânio foi usado o goniômetro Ramé-Hart, Inc. modelo NRL A 100 (UFRJ-Rio de Janeiro). Fez-se o emprego de uma seringa para liberar volumes iguais (2,0 μ l) do líquido na superfície das amostras. Determinou-se o ângulo de contato da água destilada e da solução SBF com as amostras. As pastilhas de titânio possuíam 2,0 mm de espessura. Foram determinadas três medidas em cada amostra. Foram calculados os desvios padrões dos valores de ângulos de contato encontrados.

4.4 IMERSÃO EM SBF

Nesta fase as amostras foram imersas em solução SBF. As amostras foram colocadas em recipientes com tampas (tubos Falcon) contendo 30 ml de solução, em posições pré-determinadas pela literatura (inclinadas e encostadas na parede do tubo), depois foram fechados e colocados em banho-maria à temperatura de 37°C \pm 1°C, durante três tempos. Um grupo ficou imerso por 10 dias; o segundo permaneceu imerso por 20 dias e, o terceiro grupo ficou por 30 dias. Esses procedimentos foram realizados no laboratório de biomateriais do IME, com o equipamento da Quimis Q-215-1 de banho-maria para manter a temperatura estável. Com os períodos de imersão usados, houve a formação de um precipitado, o qual é indicativo de benefício para o crescimento ósseo sobre as amostras com superfície bioativa, isto é, formação de uma interface indutora de hidroxiapatita. Os dados obtidos foram comparados com os da literatura.

4.5 ANÁLISE POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X E OBSERVAÇÃO NO MEV

Após a imersão em solução SBF, os implantes e pastilhas foram caracterizados por difração de raios X e analisados no MEV acoplado com microsonda EDS. As amostras imersas durante 10 dias foram submetidas à difração de raio X na Companhia Siderúrgica Nacional (CSN), em Volta Redonda, com o equipamento da Siemens-modelo D5000. As amostras imersas em SBF durante 20 e 30 dias foram analisadas pela difração de Raios-X no CBPF (Rio de Janeiro) com o modelo X'Pert PRO-Panalytical. Os parâmetros utilizados para a difração foram: método de Bragg-Bretano; rotina de raio rasante (\pm 1°); varredura de 20 a

60°; passo de tempo de 1,0 segundo; anodo de cobre; voltagem de 40 kV; corrente de 30mA e filtro de Níquel, na CSN e, no CBPF foram utilizados os mesmos parâmetros, exceto a corrente que foi de 40mA, não havia filtro, mas sim um monocromador e a medida foi θ -2 θ . Com base nos difratogramas obtidos foi possível qualificar a presença de compostos e fases que foram adsorvidos pelo titânio. Este resultado é extremamente relevante porque é necessário conhecer a qualidade do precipitado formado para este induzir a formação óssea ao redor do material implantado, garantindo assim o sucesso da osseointegração.

5 RESULTADOS

5.1 RUGOSIDADE

O primeiro resultado obtido foi o de rugosidade realizado antes da imersão das amostras de pastilhas de titânio, em solução de SBF.

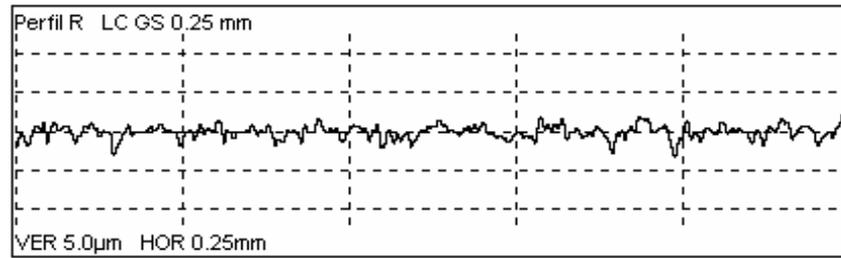
Mostra-se na FIG. 5.1 o perfil de rugosidade da superfície da pastilha. Na TAB. 5.1 são mostrados os resultados obtidos na quantificação dos parâmetros de rugosidade determinados nas amostras polida, com tratamento superficial com ácido, com tratamento NaF e com a superfície anodizada.

TAB. 5.1-Valores dos parâmetros de rugosidade e desvio padrão calculado.

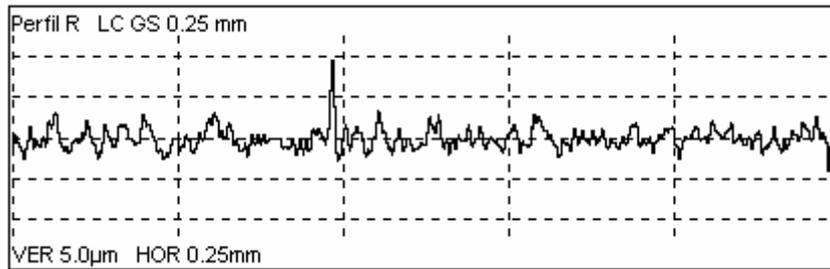
| Parâmetros: (μm) | Pastilhas Usinadas | Pastilhas com Ácido | Pastilhas NaF | Pastilhas Anodizadas |
|----------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------|-------------------------|
| Ra | $0,73 \pm 0,03$ | $1,03 \pm 0,07$ | $0,80 \pm 0,03$ | $0,83 \pm 0,03$ |
| Rq | $0,93 \pm 0,04$ | $1,32 \pm 0,10$ | $1,06 \pm 0,05$ | $1,09 \pm 0,06$ |
| Rz | $4,63 \pm 0,37$ | $6,45 \pm 0,79$ | $6,04 \pm 0,56$ | $5,18 \pm 0,26$ |
| Rmax. | $5,64 \pm 0,94$ | $9,27 \pm 2,48$ | $7,13 \pm 0,68$ | $7,48 \pm 1,21$ |
| Rt | $5,81 \pm 0,82$ | $9,59 \pm 2,86$ | $7,77 \pm 0,87$ | $7,53 \pm 1,14$ |
| Pt | $6,73 \pm 0,50$ | $19,79 \pm 2,54$ | $13,29 \pm 3,33$ | $14,85 \pm 1,14$ |
| R _{3Z} | $2,93 \pm 0,16$ | $4,25 \pm 0,11$ | $3,66 \pm 0,16$ | $3,25 \pm 0,14$ |

Mostram-se na FIG. 5.1 os perfis das morfologias das amostras submetidas aos diferentes tratamentos superficiais. Através das morfologias pode-se qualificar que os maiores níveis de rugosidade, apresentadas acima na TAB. 5.1, são os correspondentes aos tratamentos com ácido e anodização. Esta constatação pode ser comprovada pelos valores apresentados na TAB. 5.1. Por outro lado, as amostras com o tratamento com NaF e a pastilha polida, apresentaram níveis de rugosidade menores. Neste trabalho, esperava-se encontrar medidas de rugosidade altas nas superfícies anodizadas e inferiores nas amostras apenas polidas (usinadas).

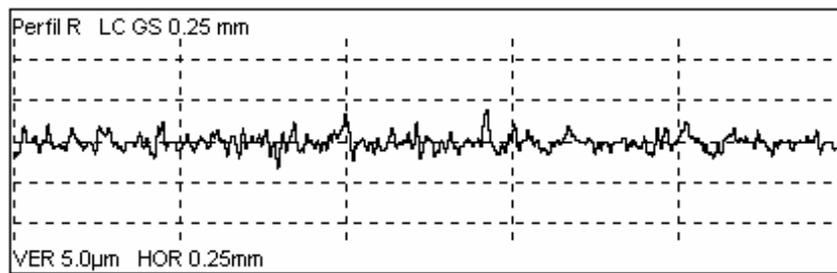
A)



B)



C)



D)

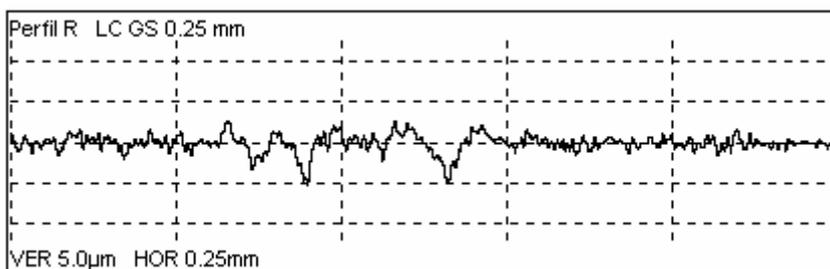


FIG. 5.1-Perfis de rugosidade das amostras. A) Superfície usinada; B) Superfície com ácido ; C) Superfície NaF e D) Superfície anodizada.

5.2 MOLHABILIDADE

Para caracterizar a molhabilidade das amostras determinou-se o ângulo de contato das superfícies com água destilada e com a solução SBF das amostras polidas e submetidas aos tratamentos superficiais com ácido, anodizado e com solução NaF. Foram usadas amostras das pastilhas antes da imersão na solução SBF. Os resultados obtidos são mostrados na TAB. 5.2. De acordo com esses resultados verifica-se que as superfícies com ácido e tratadas com solução NaF indicaram ser menos hidrofílicas que as amostras polidas e anodizadas, ou seja, possuem menor molhabilidade. O contrário é observado nas amostras polidas e anodizadas, onde há baixo ângulo de contato, alta molhabilidade. Dentre os valores encontrados usando a solução SBF, a superfície com maior índice de molhabilidade foi a anodizada.

A maior molhabilidade da superfície Vulcano pode ser associada à presença das porosidades que absorveram líquido.

TAB. 5.2-Valores de ângulos de contato.

| Pastilhas | Água Destilada | SBF |
|-----------|----------------|-------------|
| Usinada | 91,6 ± 7,9 | 91,9 ± 0,5 |
| Ácido | 110,9 ± 2,0 | 102,2 ± 0,7 |
| NaF | 85,7 ± 8,8 | 120,7 ± 1,3 |
| Anodizada | 72,6 ± 14,8 | 67,9 ± 4,2 |

5.3 DIFRAÇÃO DE RAIOX

Os resultados da difração de raio X dos discos de titânio foram separados em dois grupos. O primeiro grupo compreende as amostras de titânio que não foram imersas no SBF e o segundo grupo é formado por pastilhas que foram imersas no SBF durante 20 e 30 dias. As amostras possuíam as morfologias superficiais semelhantes aos implantes. As pastilhas imersas por 10 dias não apresentaram indícios de depósito iônico, por isso não foram realizadas suas difrações de raioX.

Grupo 1-amostras não imersas em solução SBF (FIG. 5.3)

As amostras com superfícies anodizada e com flúor apresentaram fases significativas de Rutilo (TiO_2) e hidreto de titânio (TiH). Além disso, a superfície anodizada também apresentou picos de nitreto de titânio (TiN) e óxido de cálcio (CaO). Esses resultados favorecem a osseointegração independentemente da imersão em solução SBF. Pois, existe a presença do Rutilo, principal óxido de titânio que apresenta características biocompatíveis. Por outro lado, a pastilha como usinada não apresentou qualquer fase diferente do que se esperava. Através do difratograma verifica-se que a osseointegração deve ser mais lenta devido à ausência de fases bioativas.

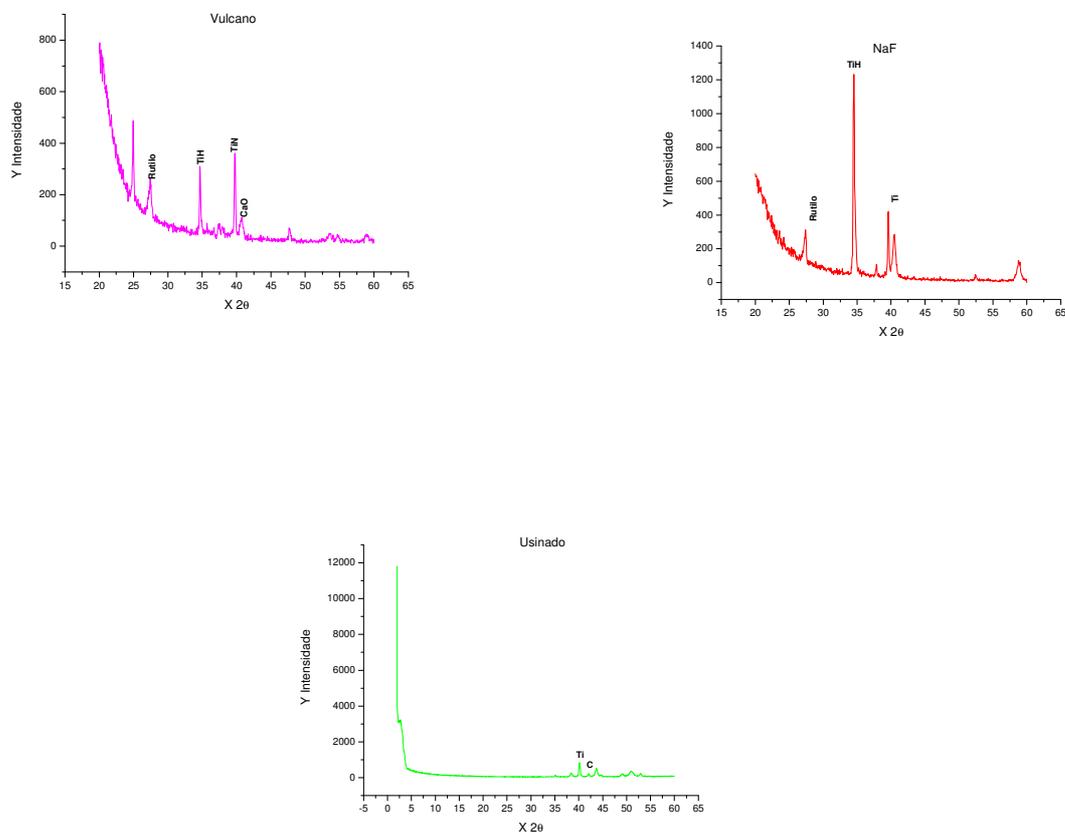


FIG. 5.3 - Difratograma das pastilhas de titânio com tratamentos superficiais antes da imersão em SBF.

Grupo 2-amostras imersas no SBF por 20 e 30 dias.

Nas FIG. 5.3.1 e FIG. 5.3.2 são mostrados os espectros de difração de raioX das amostras tratadas com ácido, flúor e anodizada e as não tratadas (usinadas) após a imersão em solução SBF. Determinados picos que eram esperados não foram identificados. Não foi encontrado nenhum vestígio de deposição iônica, principalmente, nas superfícies das amostras tratadas com ácido e com flúor imersas por 20 e 30 dias no fluido corpóreo simulado. Além disso, o pico correspondente a $2\theta=50^\circ$, aproximadamente, também não foi determinado nas amostras imersas por 20 e 30 dias em SBF. Deve-se enfatizar que a espessura da camada formada com o tratamento superficial e com a suposta deposição iônica é da ordem de micrometros, ou seja, é muito fina, podendo assim não ser excitada pelo raio X.

Comparando os espectros, observa-se que não existe diferença significativa entre as fases encontradas nos diversos tratamentos e entre as intensidades dos picos. Apenas na amostra com tratamento de anodização foi detectada a fase de anatásio (TiO_2). Na superfície polida não se esperava encontrar nenhuma fase além do rutilo, no entanto foram detectadas outras fases, como cloreto de magnésio (MgCl_2) e óxido de magnésio (MgO). A superfície que apresentou maior número de fases de deposição iônica foi a com ácido, com significativa intensidade de MgCl_2 , MgO e NaOH (hidróxido de sódio). Logo após, aparecem a superfície anodizada com a fase anatásio e a amostra com flúor.

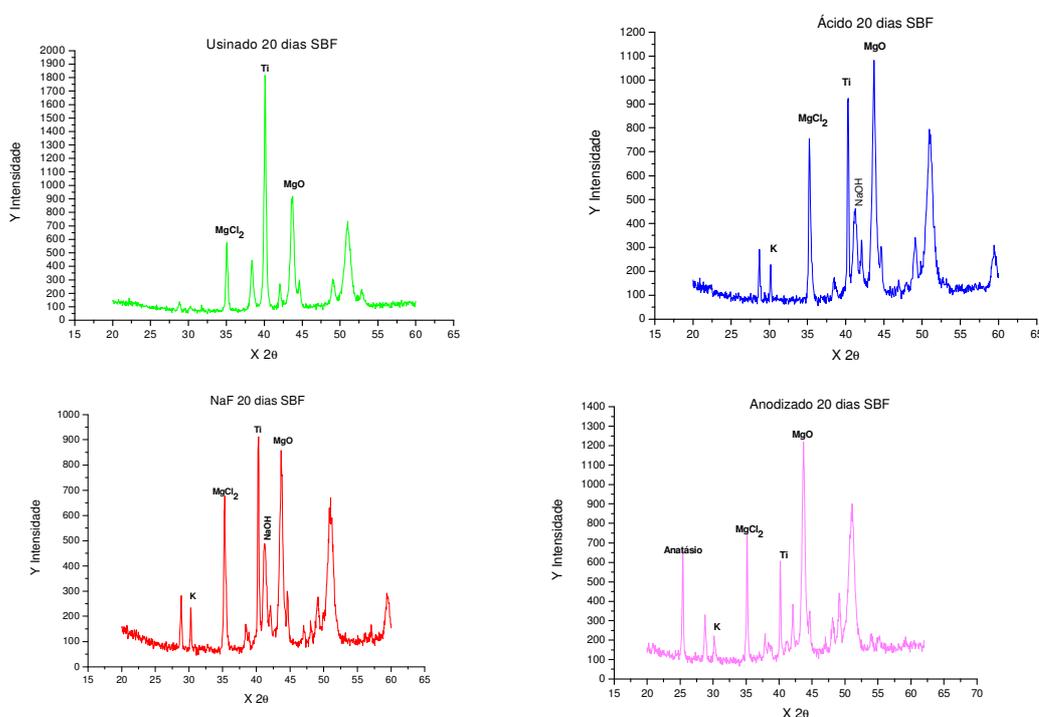


FIG. 5.3.1-Difratograma das pastilhas de titânio com tratamentos superficiais e imersas por 20 dias em solução SBF.

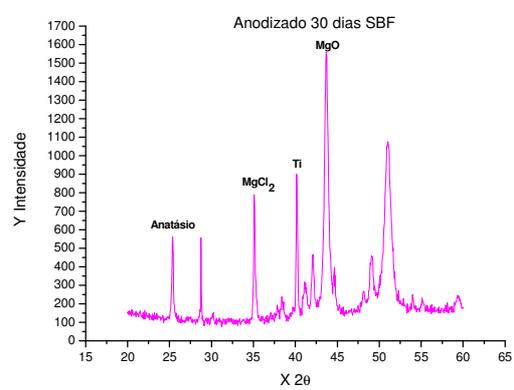
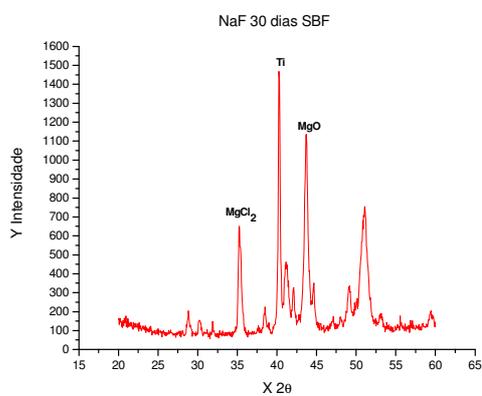
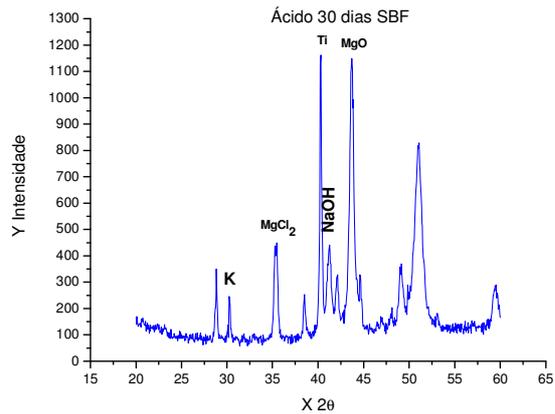
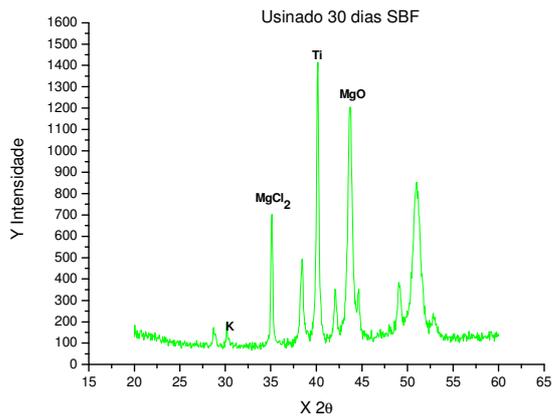


FIG. 5.3.2 -Difratograma das pastilhas de titânio com tratamentos superficiais e imersas por 30 dias em solução SBF.

5.4 ANÁLISE NO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA

Na FIG. 5.4 encontram-se as morfologias das superfícies como recebidas de implantes e pastilhas.

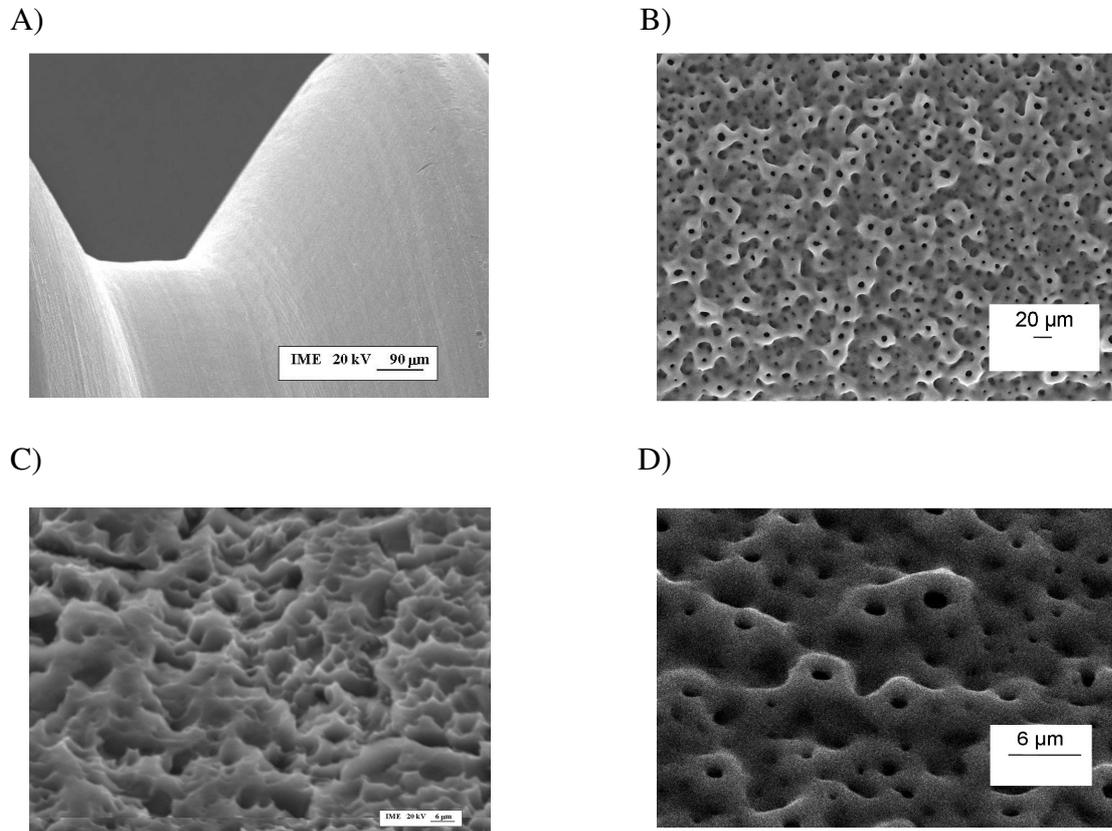


FIG. 5.4 – Morfologia das superfícies como recebidas de : A) Implante usinado; B) Implante anodizado; C) Pastilha tratada com ácido e D) Pastilha anodizada.

A) Primeiramente, utilizaram-se implantes comerciais sem tratamento superficial (usinada) e com tratados com ácido, anodização e implantes não comerciais tratados com flúor. Esses implantes foram observados no MEV (FIG. 5.4.1), acoplado a microsonda EDS, após a imersão por 10, 20 e 30 dias em SBF.

Não foi possível identificar na superfície dos implantes a presença significativa de precipitados após a imersão em solução SBF, exceto na superfície anodizada imersa por 20 dias em SBF. Nesta superfície, houve elevada concentração de precipitados, inclusive com a morfologia de cristais, como observado na FIG. 5.4.1 G.

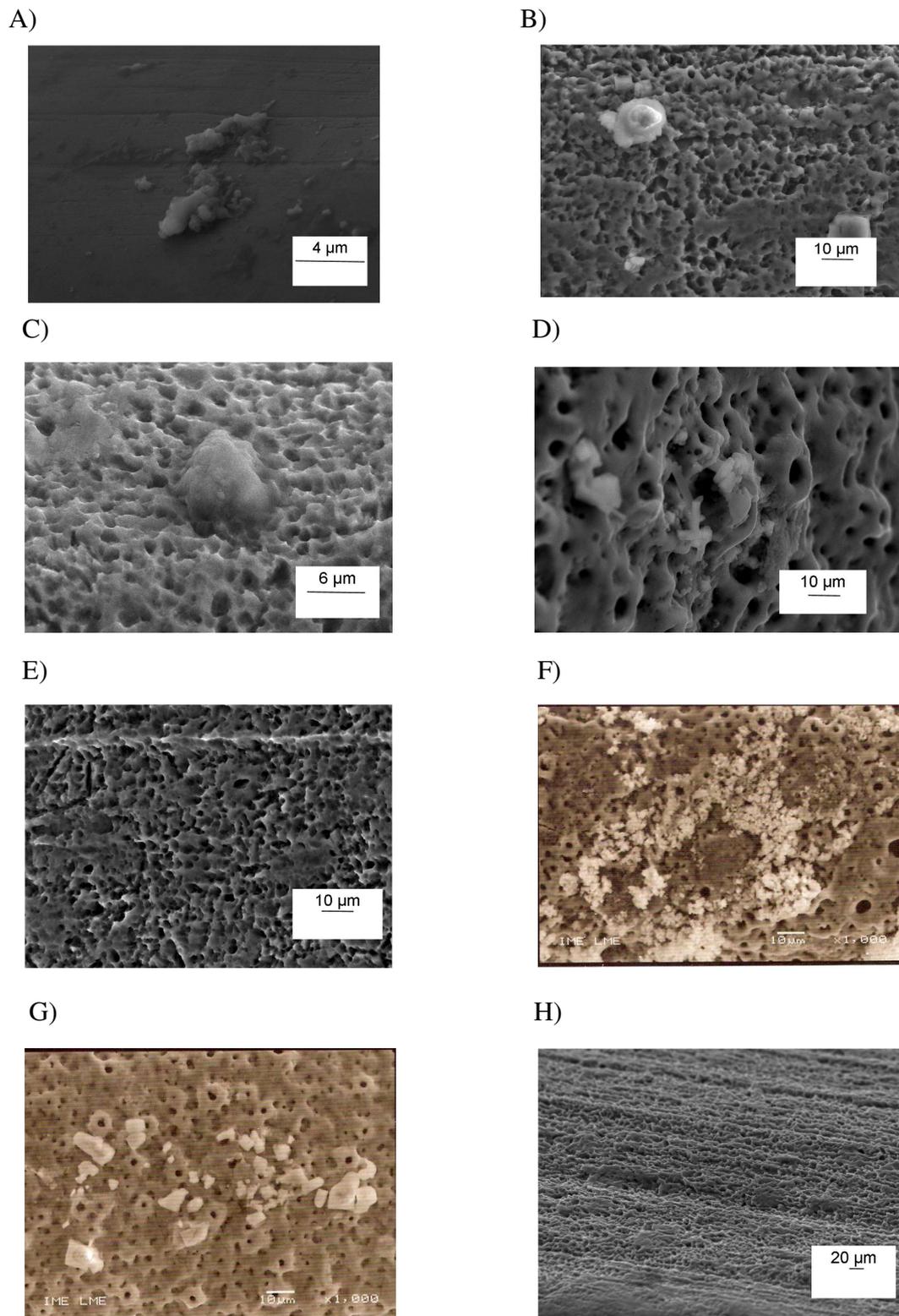
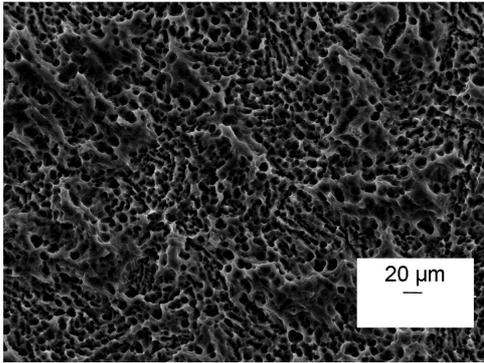


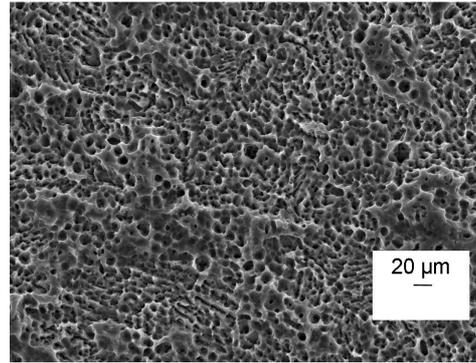
FIG. 5.4.1-Morfologia das superfícies dos implantes de titânio com tratamentos superficiais: A) Usinado 10 dias imerso em SBF (aumento 5000x); B) Ácido 10 dias imerso em SBF (aumento 2000x); C) NaF 10 dias imerso em SBF (aumento 4000x); D) Anodizado 10 dias imerso em SBF (aumento 2000x); E) NaF 20 dias imerso em SBF (aumento 2000x); F) Anodizado 20 dias imerso em SBF (aumento 1000x); G) Anodizado 20 dias imerso em SBF (aumento 1000x) e H) Ácido 30 dias imerso em SBF (aumento 1000x) .

B) Na segunda etapa, foram analisadas pastilhas submetidas aos mesmos tratamentos superficiais dos implantes e usinadas. As amostras foram imersas em SBF. As pastilhas analisadas por difração de raioX não foram as mesmas observadas no MEV. Mostra-se na FIG. 5.4.2 as morfologias das superfícies das pastilhas imersas em SBF durante diferentes tempos. Observa-se baixa deposição nas superfícies tratadas com flúor, ácido e anodizadas após a imersão por 10 dias em SBF e na superfície NaF imersa por 20 dias. Por outro lado, as amostras com superfícies ácidas e anodizadas imersas por 30 dias apresentaram significativa deposição de íons. Na FIG. 5.4.3 encontram-se os resultados do EDS realizado nas pastilhas anodizadas imersas por 10 e 30 dias em solução SBF. Na amostra imersa por 10 dias observa-se elevada quantidade de oxigênio, fósforo e cálcio, o que pode ser atribuída ao tratamento superficial previamente realizado, já que não ocorreu precipitação significativa. A ausência de oxigênio e fósforo e a presença de cálcio na pastilha imersa por 30 dias, podem comprovar o depósito de íons na superfície dessa amostra.

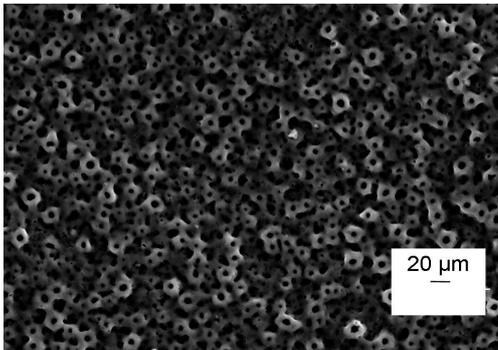
A)



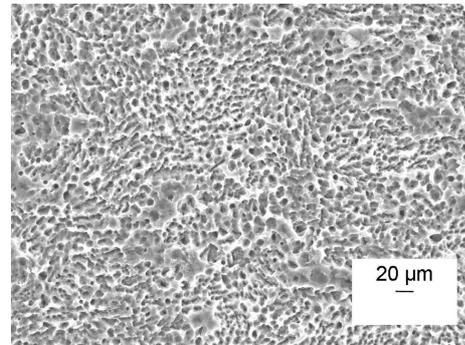
B)



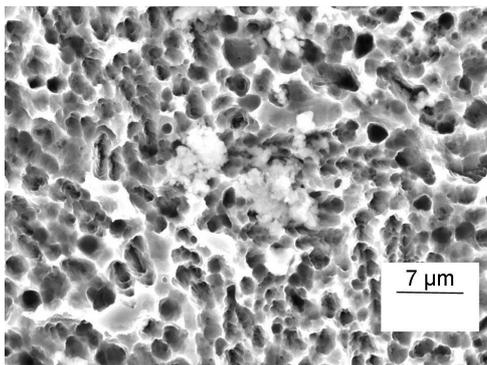
C)



D)



E)



F)

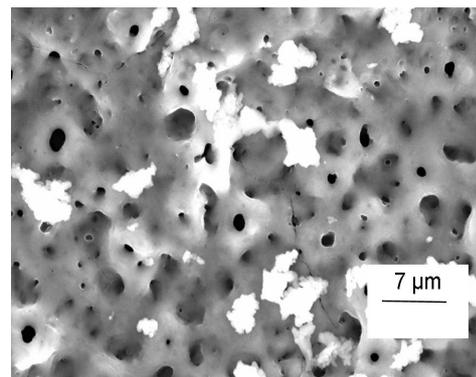
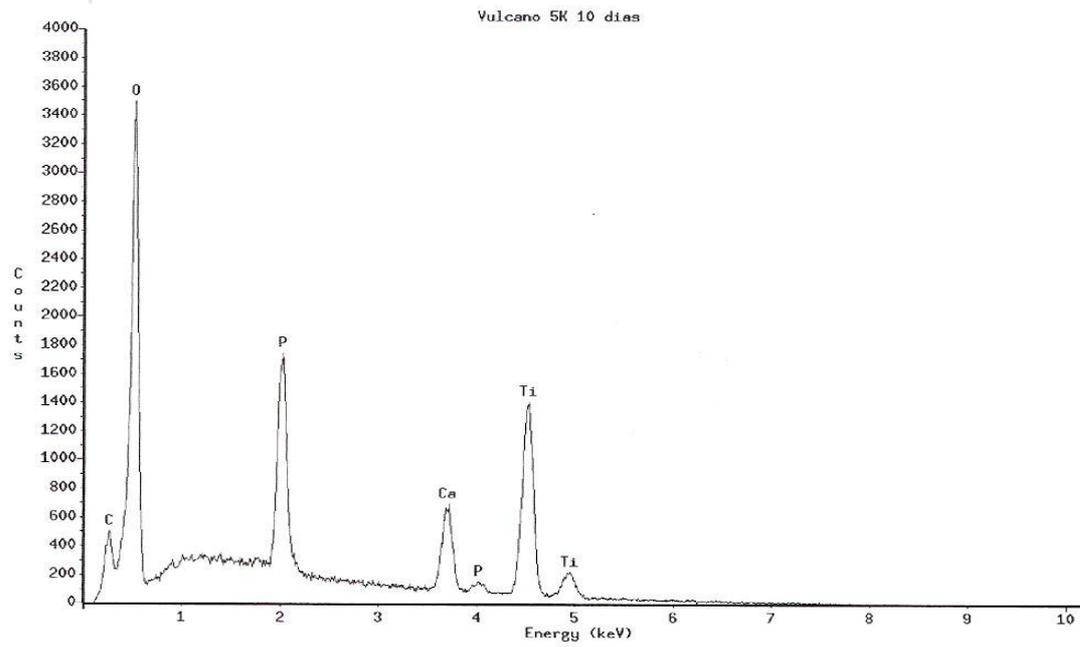


FIG. 5.4.2 - Morfologia das superfícies das pastilhas de titânio com tratamentos superficiais: A) NaF 10 dias imersa em SBF (aumento 1000 x); B) Ácido 10 dias imersa em SBF (aumento 1000 x); C) Anodizado 10 dias imersa em SBF (aumento 1000 x); D) NaF 20 dias imersa em SBF (aumento 1000 x); E) Ácido 30 dias imersa em SBF (aumento 3000 x) e F) Anodizado 30 dias imersa em SBF (aumento 3000 x).

A)



B)

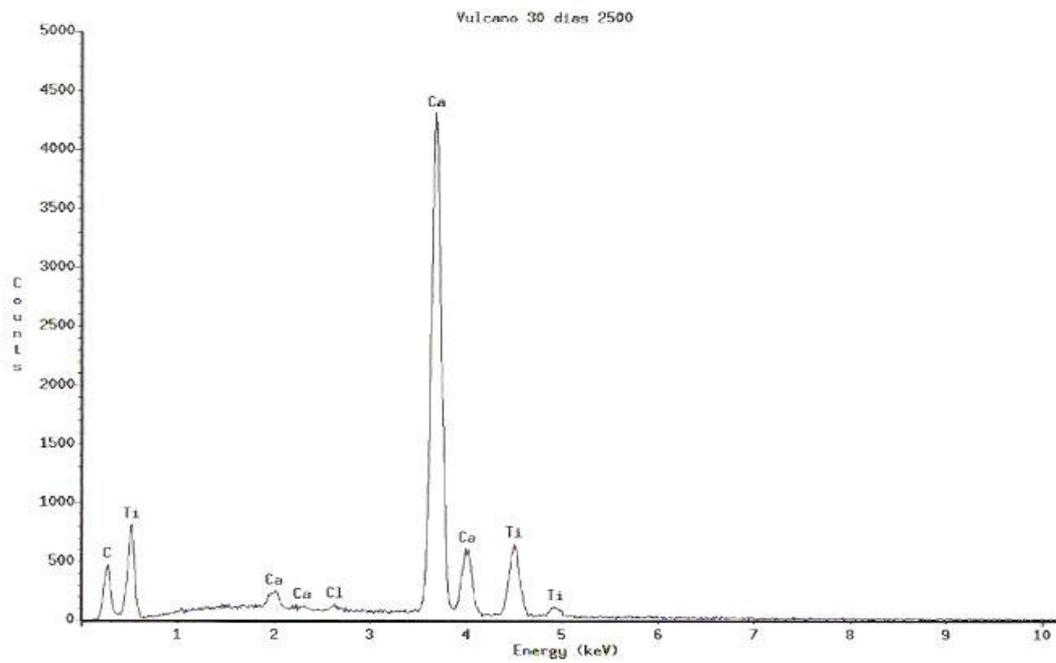


FIG. 5.4.3-EDS das superfícies das pastilhas de titânio com tratamento de anodização: A) imersa por 10 dias em SBF; B) imersa por 30 dias em SBF.

6 DISCUSSÃO

Comparando-se os dados das TAB. 6.1 e TAB. 6.2 referentes aos resultados deste trabalho e de outro mencionado na revisão bibliográfica (ELIAS et al., 2004), pode-se observar que, enquanto os resultados apresentados na TAB. 6.2 referentes às superfícies tratadas com ácido mostraram uma maior homogeneidade e menor nível de rugosidade e, as superfícies tratadas por anodização apresentaram maior rugosidade, o contrário foi observado no presente trabalho. As amostras com tratamento superficial com ácido mostraram menor homogeneidade e maior rugosidade e, as superfícies tratadas por anodização não apresentaram uma significativa homogeneidade e rugosidade (TAB. 6.1). Essa diferença nos resultados das amostras com ácido deste trabalho e ataque ácido é devido às diferenças nos ácidos utilizados, na concentração desses ácidos e nos tempos usados para cada tratamento superficial. Enquanto, no estudo de Elias et al. (2004), os ácidos escolhidos para realizar o tratamento da superfície da amostra foi $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$, neste trabalho o tratamento com ácido recebeu os seguintes: $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{SO}_4$.

A análise dos parâmetros de rugosidade foi enfocada no valor de Rz, o qual é considerado o mais relevante por estar representando a rugosidade média (Ra) e quadrática (Rq). As elevadas medidas de rugosidade encontradas nas pastilhas com ácido facilitam as aderências dos íons dissolvidos na solução SBF sobre a superfície da amostra e, principalmente de fibronectina. Atualmente, o valor de Ra das amostras de implantes comerciais após os tratamentos com ácidos varia de 0,5 a 1 μm . Quanto ao tratamento de anodização observam-se valores de rugosidade muito semelhantes entre os estudos de Elias e este. Os valores da rugosidade obtidos com o tratamento de anodização, associados à presença de cálcio e fósforo na superfície facilitam a osseointegração do titânio. A significativa quantidade de cálcio e fósforo foi comprovada no EDS mostrado na FIG. 5.4.3 Assim como, encontrado nos estudos de Serro e Saramago (2003), na FIG. 3.4.5.1 Além disso, pode-se verificar que as amostras que não receberam qualquer tratamento (usinadas) tiveram os valores de rugosidades aritmética e quadrática menores comparados aos outros tratamentos.

TAB. 6.1-Parâmetros de rugosidade.

| Rugosidade (μm) | Usinado | Ácido | NaF | Anodizado |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Ra | $0,73 \pm 0,03$ | $1,03 \pm 0,07$ | $0,80 \pm 0,03$ | $0,83 \pm 0,03$ |
| Rq | $0,93 \pm 0,04$ | $1,32 \pm 0,10$ | $1,06 \pm 0,05$ | $1,09 \pm 0,06$ |
| Rz | $4,63 \pm 0,37$ | $6,45 \pm 0,79$ | $6,04 \pm 0,56$ | $5,18 \pm 0,26$ |

TAB. 6.2-Parâmetros de rugosidade.

| Rugosidade (μm) | Usinado | Ataque Ácido | Jateamento | Eletroquímico |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Ra | $0,65 \pm 0,11$ | $0,51 \pm 0,03$ | $0,75 \pm 0,05$ | $0,87 \pm 0,14$ |
| Rq | $0,81 \pm 0,17$ | $0,71 \pm 0,05$ | $0,98 \pm 0,08$ | $1,12 \pm 0,18$ |
| Rz | $6,09 \pm 0,37$ | $5,09 \pm 0,26$ | $5,55 \pm 0,31$ | $5,14 \pm 0,69$ |

ELIAS et al., 2004

O comportamento dessas amostras pode ser comprovado através das análises dos perfis de rugosidade mostrados nas FIG. 6.1 e FIG. 6.2 e com a análise das micrografias obtidas no pelo microscópio eletrônico de varredura. Na FIG. 5.4.2 E e F é possível observar que as morfologias das superfícies das pastilhas tratadas com ácido e oxidadas imersas por 30 dias em SBF apresentaram depósitos. Na FIG. 3.11.4, segundo Lee et al. (2006), as análises de EDS sugerem que os precipitados são compostos ricos em cálcio. Por outro lado, as amostras imersas por 10 dias (B e C) não revelaram a presença desses precipitados da mesma forma ocorrendo no estudo de Serro e Saramago (2003) conforme mostrado na FIG. 3.4.5.

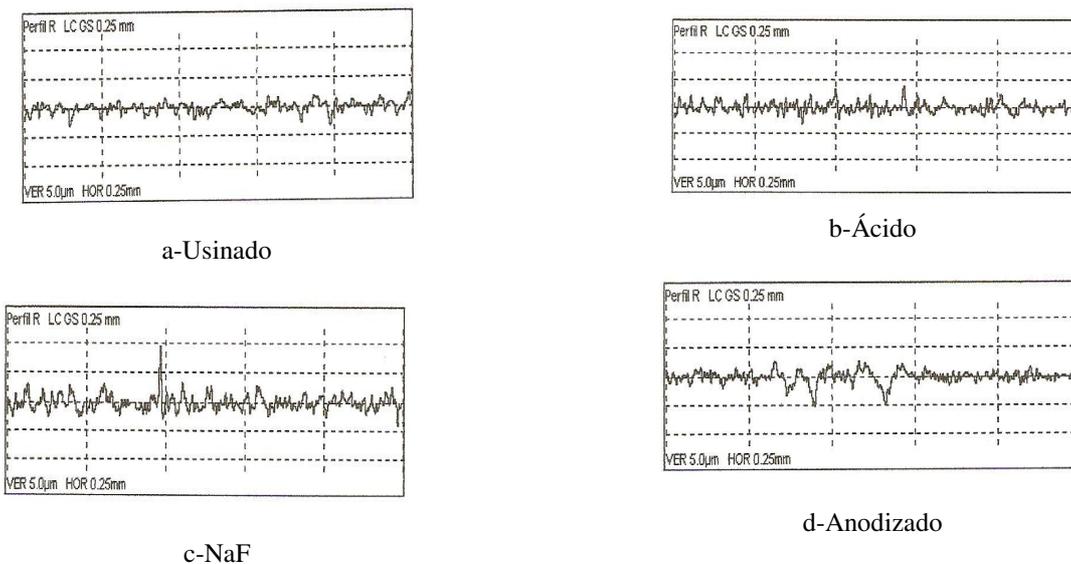


FIG. 6.1-Perfil da rugosidade das amostras analisadas.

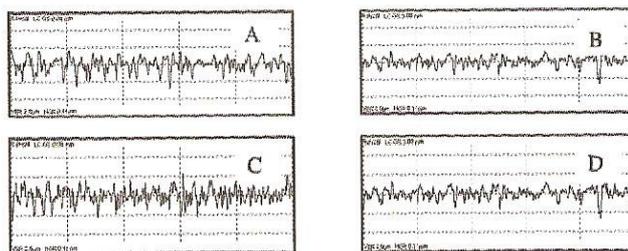


FIG. 6.2-Perfil da superfície de discos de titânio. A) Usinado, B) Ataque Ácido, C) Jateada e com ataque ácido e D) Após tratamento eletroquímico. Elias et al., 2004

De acordo com a FIG. 3.11.4 pode-se observar uma significativa semelhança entre os resultados encontrados naquele estudo e neste trabalho em relação às micrografias e os perfis da superfície anodizada e imersa por 30 dias em SBF. As partículas precipitadas da FIG. 3.11.4 possuem morfologia muito similar à encontrada neste trabalho, como observado na FIG. 5.4.1B. Além disso, as imagens de MEV, na FIG. 3.11.3a mostraram que amostras imersas em SBF por 20 dias e após ataque ácido também apresentaram morfologias semelhantes às verificadas neste trabalho, como visto na FIG. 5.4.2E. Assim como observado na FIG. 3.11.3c, onde nota-se uma similaridade com a FIG. 5.4.2F.

Com relação à molhabilidade pode-se observar que os ângulos de contato das amostras analisadas com água destilada tiveram valores maiores do que os obtidos em trabalhos anteriores (Elias et al. 2005). As TAB. 5.2 e TAB.6.3 mostram os valores encontrados neste trabalho e em trabalho anteriormente citado, respectivamente. Comparando os valores de molhabilidade (TAB. 5.2) das superfícies tratadas com ácido, com flúor, anodizadas e não tratadas verifica-se que as superfícies tratadas com flúor e ácido são menos hidrofílicas que as superfícies não tratadas e as anodizadas, as quais possuem baixos ângulos de contato. O mesmo ocorrendo com as medidas de ângulos de contato usando a solução SBF como líquido.

No entanto, de acordo com o estudo de Elias et al. (2005), pode-se observar que as superfícies oxidadas em contato com água destilada ou solução salina são mais hidrofílicas do que as superfícies tratadas com ácido ou jateada (TAB. 6.3). Ao comparar as duas Tabelas percebe-se que não ocorre uma uniformidade nos valores, principalmente nos obtidos pelas superfícies anodizadas. A diferença no comportamento passa a ser menor quando analisadas as medidas do ângulo de contato da superfície com sangue humano.

TAB. 6.3-Valores de ângulos de contato.

| Superfícies | Água Destilada | NaCl | DMSO | Sangue |
|-------------|----------------|------------|------------|------------|
| Ácido | 71,0 ± 1,3 | 68,7 ± 2,5 | 44,4 ± 1,6 | 61,6 ± 0,7 |
| Jateamento | 65,0 ± 4,3 | 52,5 ± 2,6 | 34,0 ± 0,9 | 61,8 ± 0,1 |
| Oxidação | 36,7 ± 3,7 | 38,3 ± 2,1 | 25,3 ± 1,3 | 55,6 ± 0,3 |

Elias et al., 2005

As pastilhas de titânio com tratamentos superficiais e usinadas foram submetidas à difração de raio X. Os resultados mostraram que apenas a superfície anodizada apresentou anatásio (TiO₂) em um dos picos. No estudo de Sul et al. (2005), utilizando implante oxidado em ácido acético e outro implante oxidado em uma mistura eletrolítica contendo íons de magnésio (MgTiO), observou-se a presença das fases de anatásio e de rutilo, como mostrado FIG. 6.3. No ensaio de difração de baixo ângulo, Sul e colaboradores utilizaram o difratômetro X'Pert PRO-MRD, Philips Ltda., Holanda, com intervalo de 0,02° e medidas entre 20° e 60°, usando fonte de radiação de Cu-K α , aceleração de voltagem de 35kV e corrente de 25mA. O equipamento usado e as condições de ensaio foram semelhantes ao do presente trabalho.

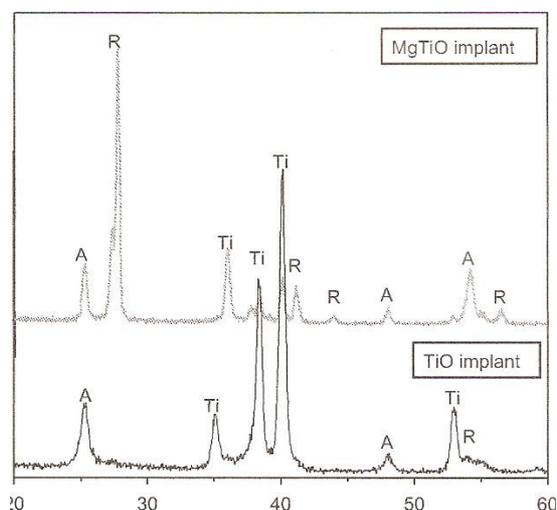


FIG. 6.3-Difratograma da superfície dos implantes tratados com ácido acético (TiO) e tratado com solução contendo magnésio (MgTiO). A=fase anatásio e R=fase rutilo. Sul et al., 2005.

Segundo Lee et al. (2006), o espectro de difração de raio X mostrou picos relativos às fases de anatásio e do substrato de titânio (FIG. 3.11.2). O filme anódico formado em mistura de H₂SO₄/H₃PO₄ apresenta a redução gradativa dos picos de difração de anatásio e do titânio

com concentração de ácido fosfórico. A fase de anatásio também pode ser observada neste trabalho, conforme as Figs. 5.3.2 e 5.3.3.

Ao se observar os difratogramas (FIG. 5.3.2) das pastilhas imersas em SBF, pode-se verificar a presença constante das fases de MgO, MgCl₂ e NaOH nas amostras tratadas e usinada. Com isso, comprova-se que houve deposição iônica na superfície dessas amostras após a imersão em SBF.

Os espectros de difração de raio X obtidos no presente trabalho foram realizados com o objetivo de verificar a adsorção ou deposição de íons nas superfícies de titânio tratadas de diferentes formas (usinada, com ácido, flúor e anodizada). Mesmo sendo a camada de deposição extremamente fina, esperava-se encontrar alguma fase, exceto nas pastilhas usinadas, as quais não possuem rugosidade capaz de facilitar a aderência dos íons da solução.

Em relação às micrografias, pode-se afirmar que houve uma semelhança significativa entre as morfologias encontradas neste trabalho e nos estudos apresentados na revisão bibliográfica, principalmente naquelas referentes aos tratamentos de anodização e com ácido imersos por 20 e 30 dias em solução SBF. Já, em relação aos resultados das morfologias de amostras imersas por 10 dias em SBF, foi encontrada pequena semelhança com resultados da literatura, pois neste trabalho não houve significativa presença de precipitados na superfície dos implantes e das pastilhas. O contrário pode ser verificado no estudo de Takemoto e cols., onde observa-se a formação de apatita no implante de Ti após imersão em SBF por 3 dias (FIG. 3.7C). Da mesma forma, no estudo de Yang e cols. encontram-se indícios de precipitação na superfície de amostras de Ti imersas por 6 dias em SBF (FIG. 3.8.2).

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente pode-se concluir:

a) Entre os três tratamentos superficiais estudados e da amostra não tratada, as superfícies com melhor resultado de deposição de íons da solução SBF foram a anodizada e a com ácido;

b) Apesar dos tempos de imersão (10, 20 e 30 dias) terem sido relativamente baixos, obteve-se um resultado significativamente positivo no que se refere aos tratamentos de anodização, com ácido e com NaF, as quais apresentaram indícios de deposição de íons após a imersão em SBF;

c) Os resultados das amostras imersas por 10 dias em solução SBF não foram positivos no que se refere à presença de precipitados;

d) Faz-se necessária a busca de outros métodos, como de XPS, para se comprovar a qualidade do precipitado encontrado na superfície das amostras imersas em SBF.

e) Não se pôde determinar todos os picos apresentados na difração de raioX das pastilhas imersas por 20 e 30 dias em SBF. Além disso, as pastilhas imersas por 10 dias não apresentaram indícios de depósito iônico, por isso não foi realizada a difração de raioX, já que é semelhante aos resultados encontrados nas pastilhas não imersas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASEN, S.M. OXMAN, J.D. UBEL, A. **Organic fluoride sources.** US Patent, 4,871,786, 1989. In: GLASSPOOLE, E.A. ERICKSON, R.L. DAVIDSON, C.L., 2001.
- ALEXANDER, J.W. **Bone grafting.** Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice. v.17, n.4, p.811-819. 1987.
- AYERS, R. et al. **Osteoblast-like cell mineralization induced by multiphasic calcium phosphate ceramic.** Materials Science and Engineering. v.26. p.1333-1337. 2006.
- BARRERE, F. et al. **Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFx5 solution.** Biomaterials. v. 23. p. 1921-1930. 2002.
- BOSKER, H. **The transmandibular implant.** PhD. Thesis, University of Utrecht, The Netherlands, p.1-146. 1986. In: Huang, H. H. 2003.
- BRANEMARK , P. L. **Intra-osseous anchorage of dental prostheses.** L. Experimental studies. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. v.3 p.81-100, 1969.
- CHANG, E. LEE, T.M. **Effect of surface chemistries and characteristics of Ti6Al4V on the Ca and P adsorption and ion dissolution in Hank's ethylene diamine tetra-acetic acid solution.** Biomaterials. v.23. p.2917-2925. 2002.
- CHANG, Y. L. STANFORD, C.M. KELLER, J. C. J. Biomed. Mater. Res. v.52 p.270. 2000. In: AYERS, R., et al.
- COOK, S.D. et al. **Fretting corrosion in orthopedic alloys.** Biomaterials Med Dev Artif Organs. v.11. p.281-92. 1983-84.
- COOPER, L. F. et al. **Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO₂ grit-blasted c.p. titanium endosseous implants.** Biomaterials. v. 27. p. 926-936. 2006.
- DECLERCQ, H.A. et al. **Calcification as an indicator of osteoinductive capacity of biomaterials in osteoblastic cell cultures.** Biomaterials. v.26. p.4964-4974. 2005.
- DELIGIANI, D.D. et al., **Effect of surface roughness of titanium alloy Ti6Al4V on human bone marrow cell response and protein adsorption.** Biomaterials. v.22. p. 1241-1251. 2001.
- DI CARLO, F. et al. **The influence of fluorides on the electrochemical interaction between titanium and amalgam couples.** J. Dental Res. v.80 (abstract no.10960) p.663. 2001.
- ELIAS, C.N. et al. **Surface modification titanium dental implants by micro-arc oxidation in Surface engineering in materials.** Ed: A. Agarwal, S. Seal, N.B. Dahotre, J.J. Moore and C. Blue, p.177-184, 2005.

- ELIAS, C.N. et al. **Interações de células com diferentes superfícies de implantes dentários.** Revista Brasileira de Odontologia. v.62. n.1 e 2. p.119-124. 2005.
- ELIAS, C.N. LIMA, J.H.C. FIGUEIRA, D.C. **Implantes dentários com superfícies anisotrópicas e isotrópicas.** Revista Brasileira de Implantodontia. p.09-12. 2005.
- ELIAS, C. N. et al. **Diferentes superfícies dos implantes dentários.** III Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Campinas-SP. 27/30 julho de 2004.
- FENG, B. et al. **Characterization of titanium surfaces with calcium and phosphate and osteoblast adhesion.** Biomaterials. v.25. p.3421-3428. 2004.
- FERDJANI, S. et al. **Phosphorus implantation in titanium: application to calibration analysis.** J. Alloys Compounds. v.177. p.265-72. 1991.
- FUJIBAYASHI, S. et al. **Osteoinduction of porous bioactive titanium metal.** Biomaterials. v.25. p.443-450. 2004.
- GEORGI, A. GRINNEL, F. GROTH, T. **Studies on biocompatibility of materials. Fibroblast reorganization.** J. Biomed. Mater. Res., n.30. p. 385-391. 1996.
- GIORDANO, P.P. ALMEIDA, A.J.P. **Enxertos ósseos. Revisão de literatura.** Disponível em: <<http://www.pucpcaldas.br/revista/doxo/Volume1/numero1/art10.pdf>>. Acesso em 20 maio de 2006.
- GLASSPOOLE, E.A. ERICKSON, R.L. DAVIDSON, C.L. **A fluoride-releasing composite for dental applications.** Dental Materials. v.17. p.127-133. 2001.
- GROSS, K.A. BHADANG, K.A. **Sintered hydroxyfluorapatites. Part. III: Sintering and resultant mechanical properties of sintered blends of hydroxyapatite and fluorapatita.** Biomaterials. v.25. p.1395-1405. 2004.
- GROSS, K.A. RODRIGUEZ-LORENZO, L.M. **Sintered hydroxyfluorapatites. Part. II: Mechanical properties of solid solutions determined by microindentation.** Biomaterials. v.25 p.1384-85. 2004.
- HAMADA, K. et al. **Hydrothermal modification of titanium surface in calcium solutions.** Biomaterials. v.23. p.2265-2272. 2002.
- HAMER, M. SUH, B.I. **Fluoride release agent copolymer prepared using morpholinoethyl methacrylate comonomer.** US Patent, 5,037,638, 1991. In: GLASSPOOLE, E.A. ERICKSON, R.L. DAVIDSON, C.L., 2001.
- HANAWA, T. ASOAKA K. UKAI H. MURAKAMI K. **Calcium phosphate precipitation on titanium in eletrolyte and its acceleration by calcium-ion-implantation.** Proceedings of the symposium on compatibility of medical implants. San Francisco. p. 126-37. 1994. In: KRUPA, D. et al. 2005.
- HANAWA, T. MURAKAMI K. UKAI H. ASOAKA K. **Structure of surface-modified layers of calcium-ion-implanted Ti-6Al-4V and Ti-56 Ni.** Mater. Trans. JIM. v.36. p.438-44. 1995.

- HE, G. HAGIWARA, M. **Ti alloy design strategy for biomedical applications.** Materials Science and Engineering. v.26. p.14-19. 2006.
- HEALY, K.E. DUCHEYNE P. **Oxidation kinetics of titanium thin films in model physiological environments.** J Colloid Interface Sci . v.150. p.404-17. 1992.
- HENCH, L.L. OGINO, M. OHUCHI, F. **Compositional dependence of the formation of calcium phosphate films on bioglass.** J Biomed. Materials Res. v.14. p.55-64, 1980.
- HORASAWA, N. MAREK, M. **Effect of fluoride from glass ionomer on discoloration and corrosion of titanium.** J. Dental Res. v.80 (abstract no.0153). p.546. 2001.
- HUANG, H.H. **Effect of fluoride and albumin concentration on the corrosion behavior of Ti-6Al-4V alloy.** Biomaterials. v.24. p.275-282. 2003.
- JARCHO, M. et al. J. Mater. Sci. v.11. p. 2027. 1976. In: QU, H. WEI, 2006.
- KADOMA, Y. MASUHARA, E. ANDERSON, J. **Controlled release of fluoride ions from methacryloyl fluoride-methyl methacrylate copolymers. 2. Solution hydrolysis and release of fluoride ions.** Macromolecules. v.15. p.1119-23. 1982.
- KAMEI, M. MITSUHASHI, T. **Hydrophobic drawings on hydrophilic surfaces of single crystalline titanium dioxide: surface wettability control by mechanochemical treatment.** Surface Science. v.463. p.609-612. 2000.
- KITSUGI, T. et al. **SEM-EPMA observation of three types of apatite-containing glass ceramics implanted in bone: the variance of a Ca, P-rich layer,** J. Biomed. Mater. Res. v. 21 p.1255-71, 1987.
- KOKUBO, T. TAKADAMA, H. **How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?** Biomaterials. v. 27. p. 2907-2915. 2006.
- KRUPA, D. et al. **Effect of dual ion implantation of calcium and phosphorous on the properties of titanium.** Biomaterials. v.26. p.2847-2856. 2005.
- KRUPA, D. et al. **Effect of phosphorous-ion implantation on the corrosion resistance and biocompatibility of titanium.** Biomaterials. v.23. p.3329-3340. 2002.
- LEE, J. et al. **Effects of microstructure of anodic titania on the formation of bioactive compounds.** Materials Chemistry and Physics. v.98. p.39-43. 2006.
- LIN, C. YEN, S. **Biomimetic growth of apatite on electrolytic TiO₂ coatings in simulated body fluid.** Materials Science and Engineering. v. 26. p.54-64. 2006.
- MARTINEZ, S.A. **Bone Grafts.** Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice. v.29, n.5, p.1207-1219, 1999.
- MÜLLER, L. MÜLLER, F. A. **Preparation of SBF with different HCO₃⁻ content and its influence on the composition of biomimetic apatites.** Acta Biomaterialia. v.2. p.181-189. 2006.

- NAKAGAWA, M. et al. **Effect of fluoride concentration and pH on corrosion behavior of titanium for dental use.** J. Dental Res. v.78. p.1568-72. 1999.
- NAYAB, S. N. JONES, F. H. OLSEN, I. **Effects of calcium ion implantation on human bone cell interaction with titanium.** Biomaterials. v. 26. p.4717-4727. 2005.
- OSHIDA, Y. LIM, Y.J. **Initial contact angle measurements on variously treated dental/medical titanium materials.** Bio-Medical Materials and Engineering p.1-17, 2001.
- OYANE, A. et al. **Preparations and assessment of revised simulated body fluids.** J. Biomed. Mater. Res. v.65A. p.188-195. 2003.
- QU, H. WEI, M. **Effect of fluorine content on mechanical properties of sintered fluoridated hydroxyapatite.** Materials Science and Engineering. v.26. p.46-53. 2006.
- RACK, H. J. QAZI, J. I. **Titanium alloys for biomedical applications.** Materials Science and Engineering. v.26. p.1269-1277. 2006.
- RAWLS, H.R. ZIMMERMAN, B.F. **Fluoride interpolymeric resin.** US Patent, 4,572,920, 1986. In: GLASSPOOLE, E.A. ERICKSON, R.L. DAVIDSON, C.L. 2001.
- RUYS, A.J. et al. **Sintering effects on the strength of hydroxyapatite.** Biomaterials. v.16. p.409-15. 1995.
- SENNERBY, L. ERICSON, L.E. **Early tissue response to titanium implants inserted in rabbit cortical bone.** J. Mater. Sci.: Mater. Med. v.4. p.494-502. 1993.
- SERRO, A. P. SARAMAGO, B. **Influence of sterilization on the mineralization of titanium implants induced by incubation in various biological model fluids.** Biomaterials. v.24. p.4749-4760. 2003.
- SICCA, C. M. et al. **Avaliação microscópica e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula.** Revista da Faculdade de Odontologia Brasileira-USP. v. 8. n. 1 e 2. p. 1-10. 2000.
- SOUZA, F. **Coloração de titânio para próteses dentárias.** Tese de Mestrado-Escola de Engenharia Metalúrgica-UFF. Volta Redonda, 2003.
- STEVENSON, S. **Enxertos Ósseos.** In: SLATTER, D. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais. Ed.2, v.2. São Paulo: Manole, 1998, p.2006-2016 In: GIORDANO, P.P. ALMEIDA, A.J.P.
- STRNAD, Z. et al. **Effect of plasma-sprayed hydroxyapatite coating on the osteoconductivity of commercially pure titanium implants.** The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. p. 483-490. 2000.
- SUL, Y. **On the bone response to oxidized titanium implants.** Tese de Doutorado, Gotenborg University, 2002 In: ELIAS, LIMA e FIGUEIRA, 2005.

- SUL, Y. T. et al. **The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants.** *Biomaterials.* v.26. p.6720-6730. 2005.
- SUN, R. et al. **Effect of titanium and titania on chemical characteristics of hydroxyapatite plasma-sprayed into water.** *Materials Science and Engineering.* v.26. p.28-33. 2006.
- TAKADAMA, H. et al. **Round-robin test of SBF for in vitro measurement of apatite-forming ability of synthetic materials.** *Phos. Res. Bull.* v.17. p.119-25. 2004.
- TAKEMOTO, M. et al. **Osteoinductive porous titanium implants: Effect of sodium removal by dilute HCl treatment.** *Biomaterials.* v.27. p.2682-2691. 2006.
- TAKEMOTO, M. et al. **Mechanical properties and osteoconductivity of porous bioactive titanium.** *Biomaterials.* v.26. p.6014-6023. 2005.
- TAS, A. C. **Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37°C in synthetic body fluids.** *Biomaterials.* v.21. p.1429-1438. 2000.
- TURPIN, Y. L. et al. **Corrosion susceptibility of titanium covered by dental.** *Dental Materials.* v.16. p.57-61. 2000.
- VANZILLOTTA, P. S. et al. **Improvement of in vitro titanium bioactivity by three different surface treatments.** *Dental Materials.* v. 22. p. 275-282. 2006.
- WANG, C. DUAN, Y. et al. **Phenotypic expression of bone-related genes in osteoblasts grown on calcium phosphate ceramics with different phase composition.** *Biomaterials.* v.25. p.2507-14. 2004.
- WEBB, K. HLADY, V. TRESKO, P.A. **Relative importance of surface wettability and changed functional groups on NH3T3 fibroblasts attachment.** *J. Biomed. Mater. Res.* n.24. p.422-430. 1998.
- WEIGEL, J.P. **Enxerto Ósseo.** In: BORJAB, M.J. *Mecanismos da Moléstia na Cirurgia de Pequenos Animais.* Ed.2. São Paulo: Manole, 1996, p.791-798 In: GIORDANO, P.P. ALMEIDA, A.J.P.
- WENNERBERG, A. ALBREKTSSON, T. **Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces.** *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* n.15. p.331-334. 2000.
- WIESER, E. et al. **Modification of titanium by ion implantation of calcium and/or phosphorus.** *Surf Coat. Technol.* v. 111. p. 103-9. 1999.
- WILLIAMS, D. F. **The Williams dictionary of biomaterials.** Liverpool University Press. 1999.
- YANG, B. et al. **Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment.** *Biomaterials.* v.25. p.1003-1010. 2004.

YAO, C. et al. **Improved bone cell adhesion on ultra-fine grained titanium and Ti-6Al-4V**. Ceramic Nanomaterials and Nanotechnology III, 106th Acers Transactions, 159. 2004 In: RACK e QAZI, 2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)