

ESTUDO COMPARATIVO EMPREGANDO-SE TORQUE REVERSO EM IMPLANTES DE TITÂNIO MODIFICADOS POR LASER E RECOBERTOS COM HIDROXIAPATITA PELO MÉTODO BIOMIMÉTICO

Braga FJC¹, Tavares H², Faeda R², Guastaldi FPS², Guastaldi AC³

¹ Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais - IPEN

² Faculdade de Odontologia, Departamento de Diagnostico e Cirurgia - Unesp - Araraquara

³ Instituto de Química - Grupo de Biomateriais - Unesp-Araraquara

RESUMO

As superfícies dos implantes vêm passando por uma grande evolução com relação aos processos de modificação tais como: processos mecânicos (usinagem e jateamento com abrasivos), químicos (ataque ácido e oxidação) e térmico (plasma-spray). Um novo processo de modificação de superfície via a irradiação por feixe de laser reúne as características competitivas como as vantagens pela não contaminação da superfície e pelo alto grau de reprodutibilidade. Este avanço supriu uma exigência em implantes odontológicos cujas superfícies modificadas por laser e recobertas por cerâmicas de fosfato de cálcio, viabiliza com mais confiabilidade o fenômeno da osseointegração. Neste trabalho, implantes foram submetidos à modificação da superfície por feixe de laser e parte deles receberam a deposição de HA pelo método biomimético. Após ensaio “in vivo” em coelhos, por um período de 8 semanas, os implantes com as respectivas estruturas ósseas aderidas sofreram o ensaio de torque reverso. Pelos resultados de resistência ao torque e pela análise por MEV as superfícies recobertas com HA apresentaram maior concentração do tecido ósseo formado na interface com o implante..

Palavras-chave: Titânio, Laser, Implante, Osso, Biomateriais.

INTRODUÇÃO.

As características microestruturais da superfície irradiada por laser do titânio e ligas têm sido foco importante de atenção da pesquisa. Um experimento utilizando laser pulsado de Nd-YAG com níveis de intensidade que não levassem à fusão superficial em amostras de titânio mostrou que após certo número de pulsos uma nova microestrutura se forma com a acentuação de rugosidade na superfície, e que a continuidade da emissão do feixe leva ao “alisamento” da mesma com formação microestrutural

dendrítica. Este fenômeno incomum está relacionado com o aumento da intensidade da irradiação efetivamente absorvida pela amostra devido ao número maior de pulsos recebidos e por decorrência a fusão com posterior cristalização formando dendritas ⁽¹⁾. A interação entre o meio biológico e a superfície do biomaterial titânio necessita apresentar diversas condições que favoreçam a proliferação, nutrição e bioadesão no meio celular, onde as células de fenótipo osteoblástico possam se diferenciar mantendo ou melhorando suas propriedades físicas, químicas e mecânicas⁽²⁾. Os implantes convivem com problemas relacionados às reações por parte do sistema reticular endotelial, aos efeitos de processos de corrosão dos materiais, embora a maior parte dos insucessos pode estar relacionado a qualidade óssea da área receptora. Desde então foram propostos por vários autores alterações no tipo de superfícies dos implantes de modo a promover um aumento da superfície de contato entre o implante e o leito ósseo.

Srivastava *et al.* ⁽³⁾ estudaram a relação entre a microestrutura e os parâmetros do laser de CO₂ para a deposição de partículas de Ti-48Al-2Mn-2Nb em Ti-6Al-4V utilizando microscopia ótica, eletrônica de varredura e de transmissão. Eles concluíram que a microestrutura da camada depositada depende da potência do feixe de laser e que é extremamente mais fina e heterogênea quando comparada com camadas aplicadas por processos convencionais. Posterior tratamento térmico melhora a homogeneidade da camada aplicada. Também a deposição de partículas de Ti-6Al-4V em substrato laminado de Ti-6Al-4V foi estudado quanto a microestrutura formada, onde observou-se a formação de microestrutura formada por grãos colunares e grãos finos e equiaxiais de fase α ⁽⁴⁾.

Em 2002, Petö *et al.* ⁽⁵⁾, irradiaram a superfície de implantes de titânio jateados com Al₂O₃ com feixe de laser pulsado de Nd-glass, implantaram em coelhos e analisaram comparativamente o resultado com implantes com superfície somente usinada através de MEV e XPS. Concluíram que o tratamento com laser remove as impurezas da superfície, cria uma topografia isomórfica e o osso formado ao seu redor oferece uma resistência ao torque cerca de 20% maior que daquela obtida em implantes com superfície usinada.

Moritz *et al.*⁽⁶⁾ estudaram o efeito da aplicação de feixe de laser de CO₂ sobre camadas de TiO₂, previamente depositadas via sol-gel em substrato de vidro e de titânio, quanto às características de depósito posterior de HA sob imersão em solução SBF. Concluíram que porosidades e espessuras da camada podem ser adequadas através dos parâmetros do feixe de laser aplicado, que acima de 18 W de potência, o tratamento a laser oferece uma nucleação mais rápida de HA em SBF quando comparado com a superfície de TiO₂ termicamente tratada em forno. A aplicação do laser sobre a camada de TiO₂ também serve para a densificação da mesma.

Vários estudos demonstraram que os níveis de osseointegração estão relacionados com o grau de rugosidade da superfície sendo a esta atribuída alguns fatores como: físico-química da superfície aumentando a molhabilidade e aumento da área de contato osso/implante, propriedade que favorece a adesão e a proliferação celular, e melhora a interação biomecânica do implante com o osso⁽⁷⁾. Wennerberg *et al.*⁽⁸⁾ observaram que após 6 semanas de implantação o volume ósseo ao redor de implantes rugosos foi maior que para os implantes de superfície lisa, pelo fato destes apresentarem uma melhor atividade de remodelação na interface osso/implante resultado também encontrado por Zechner *et al.*⁽⁹⁾ após 6 , 8 e 12 semanas de cicatrização.

Cho e Jung⁽¹⁰⁾, avaliaram a significância da diferença na textura de implantes usinados e modificados por laser, 8 semanas após instalação em tíbia de coelhos. Um total de 14 implantes (3.75 mm x 5.0mm) foi instalado nas tíbias de 7 coelhos e avaliados após 8 semanas. A análise da topografia, foi realizada por microscopia eletrônica de varredura, para a comparação das superfícies usinadas e tratadas por laser. A análise por microscopia, revelou uma superfície com cavidades regulares, semelhantes a favo de mel, com padrão de pequenos poros, enquanto a superfície usinada se apresentou com sinais típicos da usinagem e relativamente lisa. Após o período de cicatrização proposto, os implantes foram removidos por torque reverso e as médias dos valores foram de 23.58 ± 3.71 Ncm para os implantes usinados e de 62.57 ± 10.44 Ncm para os implantes tratados por laser, sendo a diferença entre os valores estatisticamente significativa ($p = 0.00055$). Os autores concluíram que a modificação da superfície por feixe de laser proporcionou um maior torque de remoção e relação ao

implantes usinados, e que são necessários estudos que comparassem essa superfície com outras já existentes no mercado.

Misch ⁽¹¹⁾ descreve em detalhes as condições necessárias para o emprego de próteses submetidas à carga imediata. Este protocolo ficou conhecido como “carga imediata”.

MATERIAIS E MÉTODOS.

Foram utilizados implantes com 2 tipos de superfícies modificadas (Figura 1), definindo assim 2 grupos: os implantes com superfície modificada por laser somente e os implantes com superfície modificada por laser e recoberta com HA pelo processo biomimético.

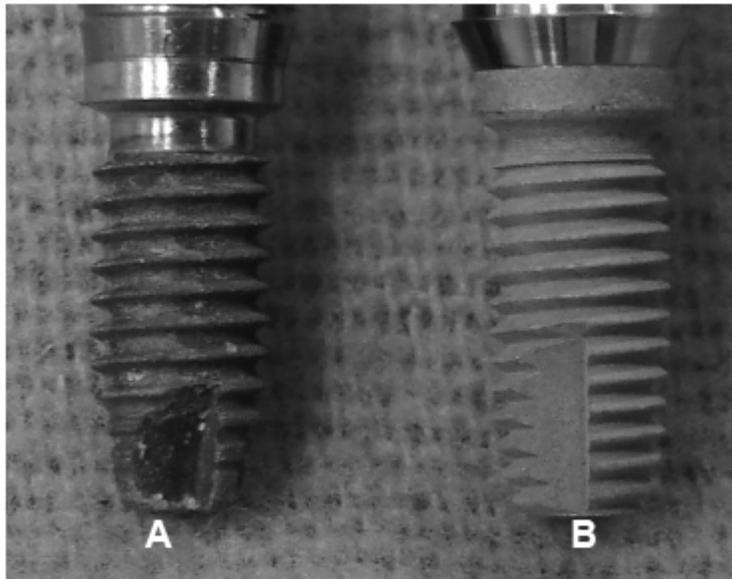


Fig. 1. Implantes com superfície modificada (A) por laser e (B) por laser e recoberto com HA pelo método biomimético.

Os corpos de prova foram preparados pelo Grupo de Biomateriais do Instituto de Química – UNESP – Araraquara. No total, foram utilizados 32 implantes para o período de sacrifício de 8 semanas.

Os parâmetros do feixe de laser aplicado na superfície dos implantes foram:

- Velocidade de varredura=100mm/s;
- Freqüência de pulso=35kHz; e

- Potência =80% (8W)

O processo biomimético de recobrimento das superfícies dos implantes com HA seguiu o protocolo utilizado e descrito por Vercik⁽¹²⁾.

CIRURGIA DE INSTALAÇÃO DOS IMPLANTES.

Uma vez obtida a aprovação do comitê de ética em pesquisa, os animais permaneceram em quarentena para aclimação e em seguida foram anestesiados com uma combinação de quetamina (Quetamina Agener[®]; Agener União S.A. -0,35mg/kg) e xilazina (Dopaser[®] Laboratórios Calier S.A. Barcelona, Espanha- 0.5mg/kg). Após a anestesia, os animais sofreram tricotomia em ambas as pernas, anestesia local e por meio de uma incisão de aproximadamente 3cm as metáfises tibiais foram expostas para a instalação dos implantes.

O procedimento de instalação do implante obedeceu a uma seqüência progressiva de fresas, com velocidade do motor reduzida a 20 rpm . A sutura do tecido muscular foi feita com fio reabsorvível e a da pele com fio de nylon (Mononylon 4-0). Após a cirurgia os animais receberam uma dose única de antibiótico e de analgésico Tylenol[®] (15 mg/Kg).

ENSAIO BIOMECÂNICO.

Os animais foram sacrificados e o local onde os implantes foram instalados foi acessado para realizar-se o teste biomecânico. Utilizou-se um torquímetro manual (15-BTG, Tonich, Japan.), para a remoção dos implantes com giro reverso ao de implantação (movimento anti-horário). O pico máximo de torque necessário para o rompimento da interface osso/implante foi registrado.

CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).

Os implantes foram acondicionados e preparados para metalização e caracterizados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e pelo Sistema de Energia Dispersiva (EDS).

As amostras foram metalizadas e analisadas por MEV em um aparelho LEO 440. As superfícies dos implantes foram caracterizados antes e após a instalação em tíbia de coelhos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

ENSAIO BIOMECÂNICO.

O teste biomecânico utilizado demonstrou diferenças na remoção dos implantes recobertos com hidroxiapatita (HA) e laser no mesmo animal, onde a força necessária para o rompimento da união osso e superfície ficou evidente conforme Tabela 1. Em 2 implantes submetidos ao recobrimento com HA não foi possível mensurar o torque pois as plataformas dos hexágonos sofreram deformação e os implantes não puderam ser removidos, o que indicou uma alta adesão do tecido ósseo a esta superfície. Para o grupo de implantes submetidos a irradiação Laser, os resultados indicaram valores numericamente menores para o grupo Laser, embora este resultado observado isoladamente não apresente indícios de maior quantidade de osso aderido entre esta superfície.

Por se tratarem de dados não dependentes, a análise foi feita pelo teste não-paramétrico de Mann Whitney. O critério para rejeição ou não da hipótese nula (H_0) foi definido ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), de forma que se o valor da probabilidade (p) encontrado fosse menor que 0,05 ($p < 0,05$), a hipótese nula seria rejeitada, optando-se pela hipótese alternativa (H_1) de que o tratamento de superfície realizado tem efeito sobre o valor de torque de remoção dos implantes.

Tabela 1-Teste biomecânico valores de torque de remoção

Implantes	Torque Médio	DP
Laser	40(N.cm)	± 10
Laser HA	64(N.cm)	± 15

CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).

GRUPO DE SUPERFÍCIES EXPERIMENTAIS.

A figura 2 ilustra as imagens por microscopia eletrônica prévias à cirurgia de instalação dos implantes. Nos grupos experimentais superfície Laser e superfície Laser com HA foram observadas a formação de uma camada de tecido calcificado em toda a extensão do implante, no grupo Laser a quantidade de tecido calcificado aderido foi menor do que a superfície tratada com Laser e recoberta com HA, que é ilustrado pelas imagens por MEV na figura 3.

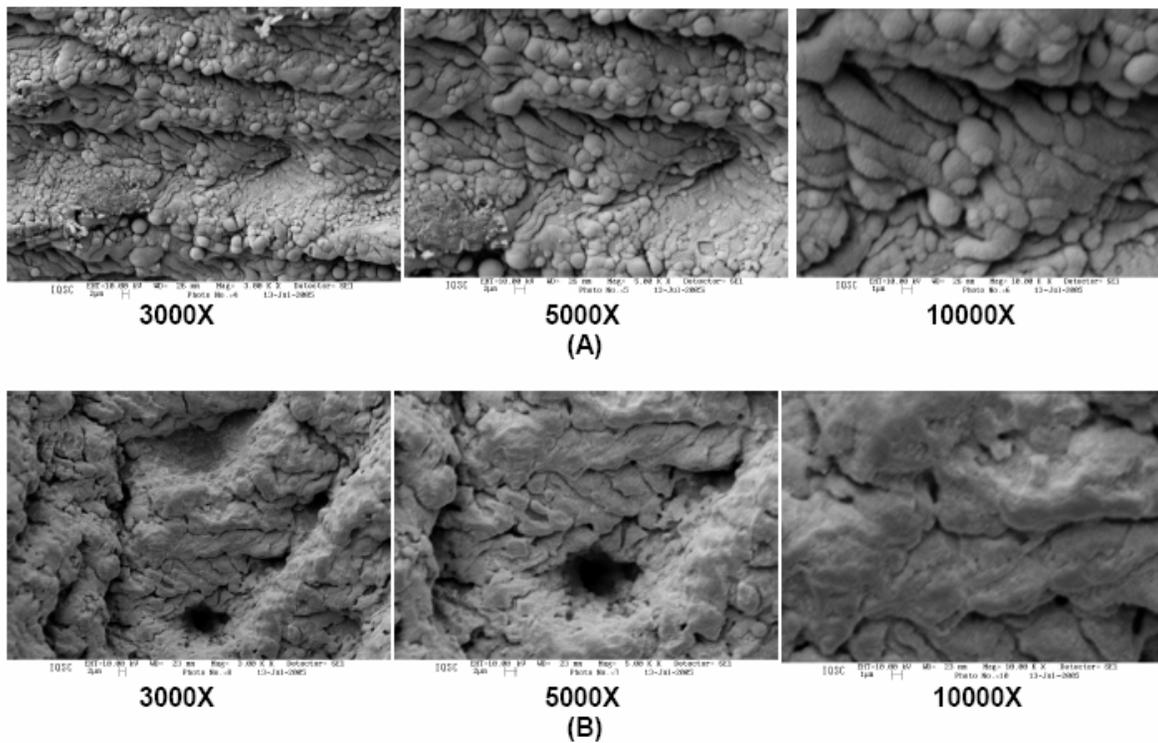


Fig.2. Superfície dos implantes antes da implantação: (A) laser e (B) laser recoberta com HA.

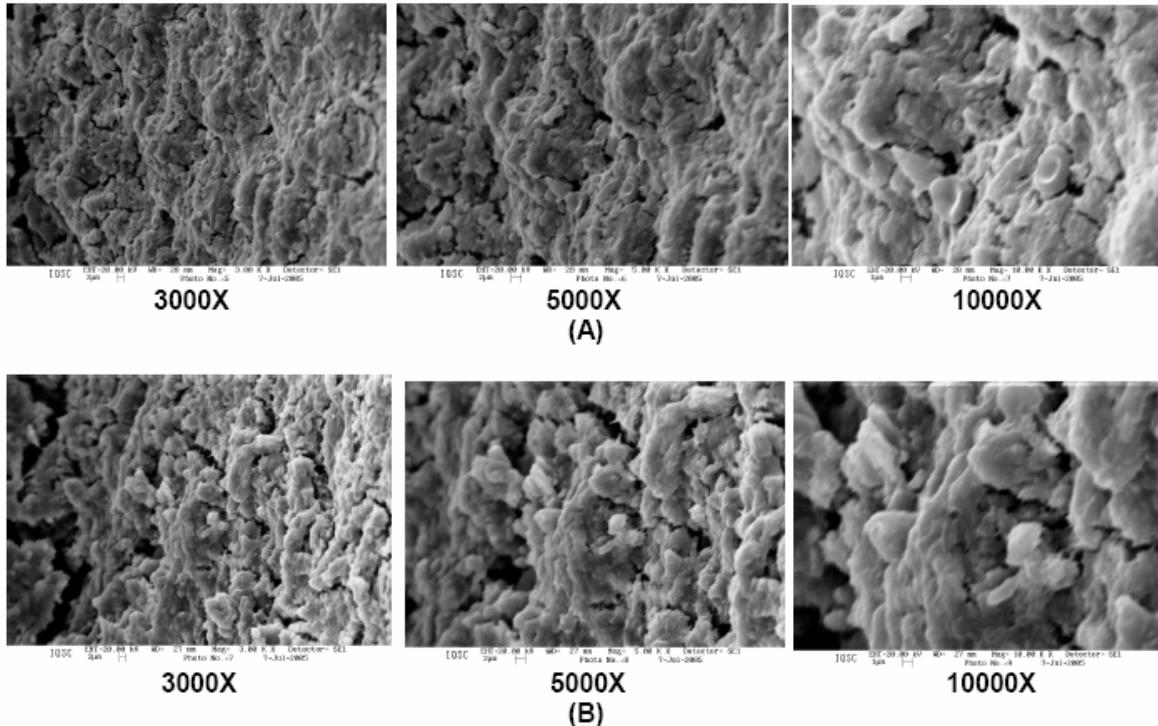


Fig. 3. Superfície dos implantes após 8 semanas da implantação: (A) laser e (B) laser recoberta com HA.

Na figura 4 são apresentados os espectros EDS em aumento de 1000X após a retirada por torque reverso.

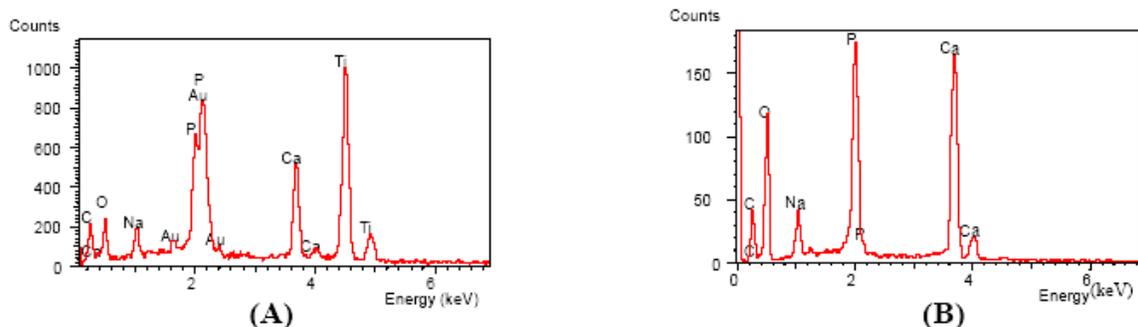


Fig.4. Espectros EDS das superfícies dos implantes após ensaio de torque: (A) laser e (B) laser recoberta com HA.

Os implantes experimentais, todos irradiados com feixe de laser em sua superfície, formaram dois grupos: sem e com recobrimento de HA pelo método biomimético. O objetivo do recobrimento é melhorar o processo de reparo na interface osso/implante, proporcionado pela modificação físico-química e morfológica superficial e cujos resultados do ensaio de torque confirmaram a superioridade na osseointegração para os implantes recobertos com HA.

Os implantes com tratamentos de superfície comparados nesta pesquisa foram estudados clinicamente no mesmo animal. A superfície irradiada com feixe de laser apresentou vantagem quanto à padronização e facilidade do tratamento de superfície, além de ser um processo limpo, reproduzível e de baixo custo. A superfície laser com recobrimento de apatitas apresentou maior adesão ao tecido ósseo demonstrado pelos valores de torque obtidos e MEV. Após a retirada completa dos implantes da tíbia, as superfícies foram analisadas por MEV constatando-se que havia tecido ósseo aderido à superfície em maior quantidade nos implantes do grupo laser com recobrimento de HA, porém ambos os grupos apresentaram rupturas fora da interface osso/implante. Pelos espectros de EDS das amostras foi verificada a presença de picos de cálcio e fósforo compatíveis com estrutura óssea mineralizada na superfície experimental tratada com laser e na superfície experimental tratada com laser e HA.

A aplicação clínica das modificações de superfície do titânio, objetiva melhorar ou acelerar o processo de reparo ósseo, com indicação para utilização “in vivo” em áreas de baixa densidade e qualidade óssea. A reatividade da mistura de óxidos presentes na superfície metálica em contato com organismo vivo parecem apresentar, associada à condições de micro morfologia e molhabilidade superficial, condições adequadas para o desenvolvimento de uma interface osseointegrada.

Os índices de sucesso para o uso de implantes com aplicação de carga imediata são acima de 95% para a mandíbula e 90% para maxilar ⁽¹¹⁾. Com a evolução da implantodontia no decorrer das últimas duas décadas foi possível desenvolver uma técnica para aplicação clínica que utiliza implantes com morfologia específica para receber cargas mastigatórias, distribuídas equilibradamente sobre o osso mandibular ou maxilar sem aguardar o período e remodelação óssea (aproximadamente de 3 a 6 meses), esta aplicação foi denominada “carga imediata”. As recomendações básicas para a indicação de um implante para uso em carga imediata são: disponibilidade óssea para inserção do implante com posicionamento ideal; uso do implante com superfície tratada, estabilidade primária com aumento do torque no momento da inserção no tecido ósseo e microscopicamente o aumento da área de contato osso / implante, e outros fatores morfológicos responsáveis pelo tempo necessário para haver a osseointegração.

Nos implantes submetidos ao processo de recobrimento de apatitas pelo método biomimético foi possível verificar que a osseointegração ocorreu de um modo precoce e com forte interação mecânica. Neste estudo um dos implantes não pode ser removido, pois no momento de aplicação do teste de torque reverso houve deformação do hexágono do implante. O recobrimento bioativo utilizado favoreceu o reparo ósseo nesta região precocemente quando comparado às outras superfícies, o que leva a investigar as possíveis aplicações clínicas em carga com função imediata. Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com aqueles obtidos por Cho e Jung⁽¹⁰⁾.

CONCLUSÃO.

Pela a análise empregando-se MEV e EDS, realizadas nas superfícies dos implantes após a remoção por torque reverso, os quais contendo tecido ósseo aderido, constatou-se que o rompimento, em ambos os casos, ocorreu fora da área de interface osso/superfície.

Os implantes de superfície tratada com laser e recobrimento de apatitas tiveram melhor interação com o tecido ósseo, quando comparados ao grupo de implantes submetidos somente à irradiação com feixe de laser.

A modificação de superfícies de implantes por irradiação laser apresenta vantagens como: ser um processo limpo, rápido, de baixo custo e reproduzível.

REFERÊNCIAS.

1. GYÖRGY, E.; MIHAILESCU, I.N.; SERRA, P.; PÉREZ DEL PINO, A.; MORENZA, J.L.; Single pulse Nd:YAG laser irradiation of titanium: influence of laser intensity on surface morphology; *Surface and Coating Tech.*, 154, 63, 2002.
2. ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A.; Oral Implant Surface: Part 2 – Review Focusing on Clinical Knowledge of Different Surfaces, *The Int. Journal of Prosthodontics*, vol. 17, n.5, 545, 2004b.
3. SRIVASTAVA, D.; CHANG, I.T.H.; LORETTO, M.H.; The effect of process parameters and heat treatment on the microstructure of direct laser fabricated TiAl alloy samples; *Intermetallics*, 9, 1003, 2001.
4. KOBRYN, P.A.; MOORE, E.H.; SEMIATIN, S.L.; The effect of laser power and traverse speed on microstructure, porosity, and build height in laser-deposited Ti-6Al-4V; *Scripta Mater.*, 43, 299, 2000.

5. PETÖ, G.; KARACS, A.; PÁSZTI, Z.; GUCZI, L.; DIVINYI, T.; JOÓB, A.; Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity laser pulses; Appl. Surface Sci., 186, 7, 2002.
6. MORITZ N, JOKINEN M, PELTOLA T, AREVA S, YLI-URPO. Local induction of calcium phosphate formation on TiO₂ coatings on titanium via surface treatment with a CO₂ laser. J Biomed Mater Res. 2003 Apr 1;65A(1):9-16.
7. HALLGREN, C.; REIMERS, H.; CHAKAROV, D.; GOLD, J.; WENNERBERG, A.; An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining; Biomaterials, 24, 701, 2003
8. WENNERBERG A, ALBREKTSSON T, ANDERSSON B, KROL JJ. A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. Clin Oral Implants Res. v.6, n.1, p.24-30, 1995.
9. ZECHNER W, TANGL S, FURST G, TEPPER G, THAMS U, MAILATH G, WATZEK G. Osseous healing characteristics of three different implant types. Clin Oral Implants Res. v.14, n.2, p.150-157, 2003.
10. CHO S, JUNG S.K. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. Biomaterials 2003, Sept (24);26; p. 4859-63.
11. MISCH C. E. , Dental Implant Prosthetics. Mosby-Year Book 2006.
12. VERCIK, L. C. O. Estudo da deposição de hidroxiapatita sobre superfícies de Ti cp e liga Ti-6Al-4V, sem e com modificação por plasma-spray, empregados como biomateriais para implantes. 2004. 127p. (Tese de Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.

AGRADECIMENTOS .

1-ADITEK Pela irradiação com feixe de laser de todas as amostras experimentais.

2-TITANIUM FIX Pelo fornecimento de todas as amostras estudadas.

COMPARATIVE STUDY EMPLOYING REVERSE TORQUE TEST IN TITANIUM IMPLANTS MODIFIED BY LASER BEAM AND IMPLANTS RECOVERED WITH HYDROXYAPATITE BY BIOMIMETIC METHOD

Braga FJC¹, Tavares H², Faeda R², Guastaldi FPS², Guastaldi AC³

¹Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais - IPEN

²Faculdade de Odontologia, Departamento de Diagnostico e Cirurgia - Unesp - Araraquara

³Instituto de Química - Grupo de Biomateriais - Unesp-Araraquara

The purpose of this study was to evaluate titanium implants (cp-Ti) irradiated by laser beam treatment and implants irradiated by laser followed by apatite recover through biomimetic method. The samples were initially characterized and sterilized to be

surgically inserted into rabbit tibiae. After the period of eight weeks of cicatrisation, the implants were taken out employing reverse torque test. The results showed greater bone formation for the HA group than for the Laser group. During removal by reverse torque test it was needed higher force for HA implants when compared to the Laser group. After MEV evaluation, the surface recovered by HA showed higher bone formation when compared to the group by Laser.

Key words: Titanium , Laser, Implant, Bone, Biomaterials