

# BIOCOMPATIBILITATEA TI ALIAT UTILIZAT ÎN RESTAURĂRI ORALE COMPLEXE

*The biocompatibility of titanium-alloy utilized in complex oral rehabilitations*

Dr. Monica Oprea, Dr. Simona Constantin, Asist. Univ. Dr. Claudiu Călin, Prof. Dr. Ion Pătrașcu  
Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“, București

## REZUMAT

Întrucât aliajul de titan reprezintă unul dintre cele mai răspândite biomateriale utilizate în tehnologia de fabricare a implanturilor dentare, scopul acestui studiu este de a testa interacțiunea dintre implant și țesutul osos la nivelul interfeței acestora pe un model animal (iepure). Probele de material au constat în aliajul pe bază de titan aliat cu niobiu acoperit cu hidroxiapatită (TiNb1/HA4E4). Consecutiv inserării, probele au fost evaluate cu microscopul electronic de baleiaj (SEM) și analiza EDAX.

**Cuvinte cheie:** titan, defect osos, SEM, EDAX

## ABSTRACT

Since titanium-alloy represents one of the most frequently used biomaterial in the fabrication process of dental implants, the aim of this study is to evaluate the interaction between an implant and the surrounding bone tissue in an animal model (rabbit). The test material was a niobium-allied titanium covered with hydroxyapatite (TiNb1/HA4E4). Following implantation, the test material was evaluated by electronic microscopy and EDAX analysis.

**Keywords:** titanium, osseous defect, SEM, EDAX

## INTRODUCERE

Menținerea implanturilor a reprezentat un câmp major de interes atât în chirurgia orală, cât și în ortopedie. Cu toate acestea, menținerea directă în os fără formarea țesutului moale nu a fost acceptată ca fiind o caracteristică a bioingineriei până în momentul în care nu au fost descrise succesele implantării titanului în protetica dentară, folosind conceptul de osteointegrare. Osteointegrarea este definită, în linii mari, ca fiind încorporarea permanentă a unui component ne-biologic cu funcția de a înlocui, endoprotetic sau exoprotetic, structuri biologice și care să fie capabil să suporte sarcini funcționale nelimitate. Definiția nu face referire la procedurile chirurgicale sau la știința biomaterialelor (1,2).

Implanturile trebuie să fie biocompatibile chiar dacă sunt obținute din materiale de bază organice, anorganice, hibride sau metalice (3,4). Interfața care se stabilește între biomaterial și țesuturile biologice trebuie optimizată astfel încât răspunsul să

fie cel dorit. În mod cert, dezvoltarea noilor biomateriale destinate dispozitivelor biomedicale vor necesita abordări multidisciplinare pentru înțelegerea deplină a fenomenelor care apar în urma interacțiunilor țesut-biomaterial (5,6,7).

Pentru a studia fenomenele biologice complexe ale procesului de biointegrare, singurul tip de studiu viabil și veridic este cel „in vivo“ pe animale (8,9).

Această lucrare își propune să descrie modul în care biointegrarea implanturilor metalice osoase într-un model animal este influențată de compoziția chimică și rugozitatea suprafeței acestora.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Biomaterialele testate „in vivo“ pe animale (iepure) pentru a studia interacțiunea implant-țesut osos au fost titanul aliat cu niobiu și acoperit cu hidroxiapatită (TiNb1/HA4E4).

Autor corespondent:

Oprea Monica, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila“, B-dul Eroilor Sanitari nr. 8, București  
E-mail: monikoprea@yahoo.com

După metodele descrise în referatele anterioare s-au pregătit probele cilindrice cu dimensiunile 3,5x7mm (d/h). Suprafața probelor din aliaj TiNb1/HA4E4 cu depunere de hidroxiapatită a fost pregătită prin sablare și s-a identificat prin măsurători specifice o rugozitate de suprafață de 50μm; probele au fost acoperite circumferențial prin metoda hidrodermal-electrochimică de un film de HA, fiind apoi tratate termic 5 min la 60°C. Probele astfel pregătite au fost sterilizate cu radiații γ pentru a fi evaluate biologic.

Toate probele au fost inserate la același exemplar (iepure), tibial bilateral pentru a minimaliza total numărul subiecților de studiu.

Pentru realizarea intervenției chirurgicale s-a recurs la tranchilizarea iepurilor cu Vetranquil 1%, urmată de anestezia generală intramusculară prin administrarea a 5 mg/kg corp de Ketamină. Această administrare s-a realizat înainte de pregătirea câmpului operator și cu aproximativ 15 minute înainte de intervenție pentru fiecare caz.

### **Pregătirea instrumentarului pentru intervenție**

Instrumentarul folosit pentru realizarea operației de implantare a fost cel clasic utilizat pentru o astfel de intervenție chirurgicală, compus din: bisturiu cu lamă 15, foarfecă, pensă chirurgicală, pense Pean, decolator, micromotor cu turație reglabilă, freze sferice de diametru 2 mm și 3 mm, freză cilindrică de diametru 1,5 mm, seringă cu ser fiziologic, ciocan chirurgical, pensă Pean fără zimți, portac, ace și fire de sutură, comprese.

### **Descrierea intervenției**

După antisepsizarea și izolarea câmpului operator s-a practicat o incizie longitudinală de-a lungul feței antero-mediale a gambei de aproximativ 4,5 cm. Cu pensa Pean s-a decolat tegumentul până la nivelul planului muscular obținând două lambouri „plic“ de o parte și de alta a liniei de incizie.

După descoperirea și incizia longitudinală a fasciei mușchiului tibial cranial, se pătrunde cu o pensă Pean perpendicular pe planul muscular până la planul osos, printre fibrele acestui mușchi. Prin desfacerea brațelor pensei și retragerea acesteia se creează accesul spre fața antero-medială a tibiei. După dezinserția fibrelor musculare de la acest nivel de decolează periostul expunând tabla osoasă diafizară până la nivelul epifizei craniene.

La acest nivel se creează cu ajutorul instrumentarului rotativ la o turație de 5000/min și sub irigație continuă cu ser fiziologic o geodă, de diametru aproximativ 3,5-3,7 mm în care se introduc

perpendicular, prin percuție, implanturile. După hemostază, plaga se suturează în planuri cu fire de catgut planurile profunde și fire sintetice planul tegumentar.

Antibioprofilaxia s-a realizat conform normelor standard, în doză unică, cu cefazolină (cefalosporină de generația I) - Lyzolin, care s-a administrat intramuscular 50 mg/kg corp cu 30 minute înainte de intervenție și la 6 ore după intervenție. La 10 zile după intervenția chirurgicală au fost suprimate firele de sutură.

### **Prelevarea probelor**

După 2 luni, probele au fost recoltate prin sacrificarea subiectului. Au fost prelevate prin secționare cu instrumentar rotativ, piesele anatomice (probele biologice) conținând întreg fragmentul tibial cu cele două implanturi care a fost păstrat inițial pentru 6 ore în ser fiziologic, iar apoi fixat în vederea investigării ESEM cu soluție glutaraldehidă 30%.

### **Analiza de microscopie electronică ESEM și EDS-EDAX**

Pentru efectuarea cercetărilor experimentale privind determinarea comportării *in vivo* a biomaterialelor testate, a fost utilizată ca metodă de investigare microscopia electronică de baleiaj în mediu de vapori de apă (ESEM).

Partenerul UMF Carol Davila din București a furnizat UPB pentru investigare cele 4 probe (cupluri biomaterial – țesut biologic). După efectuarea operației chirurgicale de explantare, probele au fost spălate cu ser fiziologic și apă deionizată ultrapură în scopul îndepărtării particulelor biologice rezultate în urma secționării țesuturilor moi și dure. Prin utilizarea unui spray cu aer comprimat curat și uscat a fost îndepărtată măduva din canalul intramedular, urmărindu-se crearea unui spațiu lipsit de elemente care ar fi putut conduce la obturarea vizibilității elementelor de interes în cazul studierii osteointegrării biomaterialelor implantate.

Datorită faptului că pentru analiza imagistică a fenomenelor de la interfață a fost utilizat un microscop electronic foarte performant, în camera probei fiind posibilă introducerea unui mediu de vapori de apă la presiuni variabile în scopul deionizării suprafețelor investigate, nu a mai fost necesară pregătirea probelor prin deshidratare, fixare și acoperire cu elemente conductoare.

Probele au fost montate pe suporturi din aluminiu prin lipire cu bandă dublu-adezivă și au fost intro-

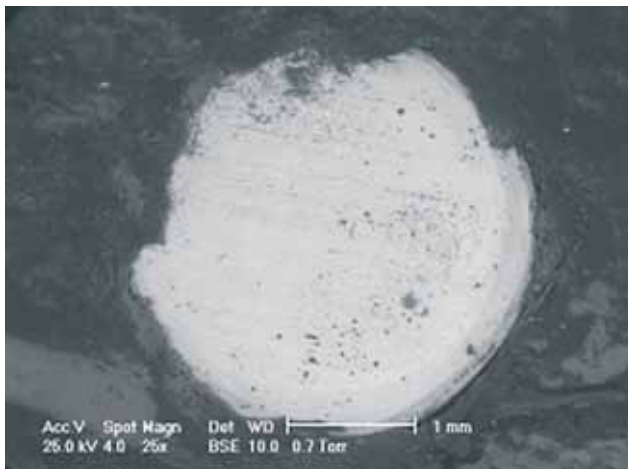
duși în camera de lucru a microscopului. Parametrii de lucru utilizați au fost: tensiune de accelerare a fasciculului de electroni 20-25 kV, mărirea spotului egală cu 4 și presiunea vaporilor de apă mai mică de 1 Torr.

Prin utilizarea parametrilor optimi de lucru, au fost obținute imagini de electroni secundari (morfo) și de electroni retroîmprăștiați (compo) la mărimi cuprinse între 25X și 10.000X. Pentru identificarea compoziției chimice a implanturilor și a țesutului adiacent a fost utilizat un spectrometru EDS-EDAX cu o rezoluție de 128 eV. Inițial, după decolarea fasciilor care acoperă în mod natural suprafața osului, au fost identificate probele inserate în masa osoasă și au fost obținute imagini macroscopice. Ulterior, după observarea aspectelor morfologice de interes, au fost analizate în detaliu, la mărimi mari, zonele care denotau prezența fenomenului de osteointegrare. În imaginile de electroni retroîmprăștiați pot fi observate prin diferența dintre nuanțele de gri, diferențele din compoziția probelor, dar și aspectele morfologice importante. În acest tip de imagini pot fi distinse suprafețele implanturilor (de culoare gri deschis), țesutul osos de neoformație aflat în contact intim cu suprafața implanturilor (cu nuanțe de gri ușor mai închise) și țesutul fibros format inițial pentru încapsularea biomaterialelor (de culoare gri închis) – care ulterior va fi transformat urmând succesiunea normală a proceselor biologice, în țesut osos de neoformație.

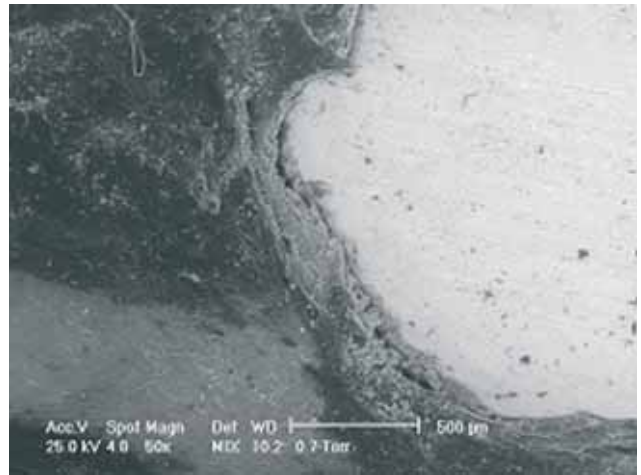
## REZULTATE

### Simbolizare Tibie Dreaptă Proximal – TiNb1/HA4E4

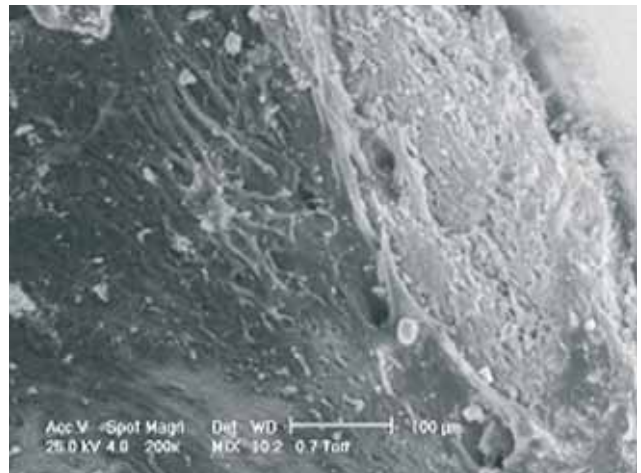
**FIGURA 1.** Proba implantului cilindric TiNb1/HA4E4 inserat în tibia de iepure



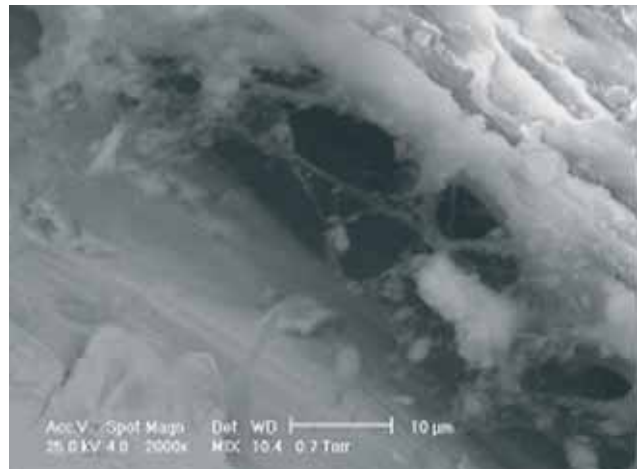
**FIGURA 2.** Detaliu privind interfața TiNb1/HA4E4 – țesut osos; se observă acolarea osoasă pe structura poroasă a probei test



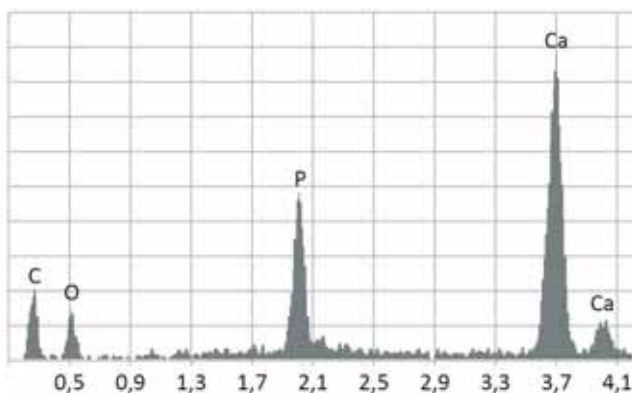
**FIGURA 3.** Detaliu privind interfața TiNb1/HA4E4 – țesut osos; se observă formarea țesutului osos nou în partea stângă a imaginii (interior) intricată cu zone de țesut fibros în partea dreaptă (exterior)



**FIGURA 4.** Detaliu privind interfața TiNb1/HA4E4 – țesut osos; se observă țesutul biologic osos în etapa de remodelare structurală, morfologică și funcțională în contact cu proba test



**FIGURA 5.** Spectru de emisie a radiațiilor X obținut prin investigarea compozițională a osului nou format la interfața cu proba TiNb1/HA4E4



**TABELUL 1.** Rezultatele compoziționale cantitative corespunzătoare spectrului de emisie a radiațiilor X

Tinb1/Ha4e4						
Kv: 25.00	Tilt: 0.00	Take-off: 35.00	Tc: 100.0			
Detector Type: UTW-Sapphire	Resolution: 128.10	Lsec: 29				
EDAX ZAF Quantification	Standardless					
Element Normalized						
SEC Table: Default						
Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
C K	45.11	61.61	0.1413	1.0264	0.305	1.0003
O K	24.2	24.82	0.0294	1.0107	0.1202	1.0001
P K	8.42	4.46	0.0687	0.941	0.86	1.0088
CaK	22.27	9.11	0.2106	0.9435	1.0025	1
Total	100	100				
Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B		
C K	7.44	0.2	6.89	37		
O K	4.66	0.2	8.84	23.17		
P K	24.82	1.51	3.89	16.47		
CaK	59.72	0.8	2.4	74.29		

## DISCUȚIE. CONCLUZII

- Indiferent de tipul probelor, s-a constatat bio-integrarea probei test *TiNb1/HA4E4*;
- Viteza de transformare a țesutului fibros peri-implantar în țesut osos neodiferențiat, respectiv „calcificarea” țesutului fibros periimplantar a fost semnificativ mai mare din punct de vedere calitativ și cantitativ pentru probele pe care s-a depus hidroxiapatită;
- Metoda de depunere hidrodermal-electrochimică a hidroxiapatitei pe suprafața implantului este eficientă oferind stabilitate biomecanică la inserție, neexistând zone de defect

- prin pierdere de masă de placat rezultate ac-tului mecanic de inserție prin percuție;
- Elementele imagistice observate și descrise permit apreciere reală a influenței modului de pregătire a suprafeței metalice asupra procesului complex de biointegrare a probei *TiNb1/HA4E4*;
- Pentru nici una dintre probe nu au fost observate procese de osteoliză periimplantară sau zone de necroză tisulară osoasă, ceea ce dovedește existența unei interacțiuni favorabile între biomaterialul implantat și structura biologică (țesutul osos).

## BIBLIOGRAFIE

1. **Frosch K.H., Sondergeld I., Dresing K., Rudy T., Lohmann C.H., Rabba J., Schild D., Breme J., Stuermer K.M.** Autologous osteoblasts enhance osseointegration of porous titanium implants. *Journal of Orthopaedic Research*. 21(2):213-23, 2003 Mar.
2. **Piattelli M., Scarano A., Paolantonio M., Iezzi G., Petrone G., Piattelli A.** Bone response to machined and resorbable blast material titanium implants: an experimental study in rabbits. *Journal of Oral Implantology*. 28(1):2-8, 2002.
3. **Manzanares M.C., Franch J., Carvalho P., Belmonte A.M., Tusell J., Franch B., Fernandez J.M., Cleries L., Morenza J.L.** BS-SEM evaluation of the tissular interactions between cortical bone and calcium-phosphate covered titanium implants. *Bulletin du Groupement International Pour la Recherche Scientifique en Stomatologie et Odontologie*. 43(3):100-8, 2001 Sep-Dec.
4. **Hallgren C., Sawase T., Ortengren U., Wennerberg A.** Histomorphometric and mechanical evaluation of the bone-tissue response to implants prepared with different orientation of surface topography. *Clinical Implant Dentistry & Related Research*. 3(4):194-203, 2001.
5. **Jonas L., Fulda G., Radeck C., Henkel K.O., Holzhuter G., Mathieu H.J.** Biodegradation of titanium implants after long-time insertion used for the treatment of fractured upper and lower jaws through osteosynthesis: element analysis by electron microscopy and EDX or EELS. *Ultrastructural Pathology*. 25(5):375-83, 2001 Sep-Oct.
6. **Sanz A., Oyarzun A., Farias D., Diaz I.** Experimental study of bone response to a new surface treatment of endosseous titanium implants. *Implant Dentistry*. 10(2):126-31, 2001
7. **Abbron A., Hopfensperger M., Thompson J., Cooper L.F.** Evaluation of a predictive model for implant surface topography effects on early - osseointegration in the rat tibia model. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 85(1):40-6, 2001 Jan.
8. **De Benedittis A., Mattioli-Belmonte M., Krajewski A., Fini M., Ravaglioli A., Giardino R., Biagini G.** In vitro and in vivo assessment of bone-implant interface: a comparative study. *International Journal of Artificial Organs*. 22(7):516-21, 1999 Jul.
9. **Simmons C.A., Valiquette N., Pilliar R.M.** Osseointegration of sintered porous-surfaced and plasma spray-coated implants - An animal model study of early postimplantation healing response and mechanical stability. *Journal of Biomedical Materials Research*. 47(2):127-38, 1999 Nov.