



**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-13Nb-13Zr  
PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL**

**SANDRA GIACOMIN SCHNEIDER**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear - Aplicações.**

**Orientador:  
Dr. José Carlos Bressiani**

**São Paulo  
2001**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

**Autarquia Associada à Universidade de São Paulo**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-13Nb-13Zr  
PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL**

**SANDRA GIACOMIN SCHNEIDER**



Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de "Doutor em Ciências" na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações

Orientador:  
Dr. José Carlos Bressiani

**SÃO PAULO  
2001**

***“Para preizer o que vai acontecer  
é preciso entender  
o que aconteceu antes.”***

Nicolau Maquiavel

**Ao Sergio, meu marido, pelo carinho, incentivo e paciência.  
Aos meus filhos, Danilo e Murilo, que sempre me deram muito  
carinho.**

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Carlos Bressiani, por sua valiosa orientação e incentivo na realização deste trabalho, pela confiança e pela oportunidade proporcionada.

Ao Prof. Dr. Carlos Angelo Nunes, do Departamento de Engenharia de Materiais da Faculdade de Engenharia Química de Lorena - DEMAR/FAENQUIL, pelo incentivo e por sua valiosa contribuição em todas as etapas de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Bruno König Jr., do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - ICB/USP pela cooperação e concessão do Laboratório de Anatomia para a realização dos testes de biocompatibilidade "*in vivo*", e contribuições nas discussões dos resultados.

À Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Olga Zazuco Higa da Supervisão de Radiobiologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN pela coordenação e supervisão dos testes de citotoxicidade "*in vitro*", pelo aprendizado, pela ajuda e discussão dos resultados.

À Msc Sizue O. Rogero pela realização dos testes de citotoxicidade "*in vitro*", pelo aprendizado e discussão dos resultados.

À CAPES pela concessão da bolsa no Programa de Integração e Capacitação Docente – Técnico (PICDT).

Ao Departamento de Engenharia de Materiais da Faculdade de Engenharia Química de Lorena - DEMAR/FAENQUIL por financiar a produção da liga Ti-13Nb-13Zr, os processamentos térmicos e mecânicos e caracterização microestrutural.

Aos funcionários do DEMAR/FAENQUIL, em especial ao Bento, Sr Geraldo, Sr Lorival (Sr Covas), Rosiney (Ney), Gilbert e Ailton que auxiliaram nas etapas de fusão e caracterização microestrutural (preparação de amostras para microscopia óptica, eletrônica de varredura e difração de raios-X).

Aos funcionários do IPEN Rosa Maria R. Pasotti sempre pronta a colaborar, e Nildemar A. M. Messias - Laboratório de Caracterização pela realização das análises de microscopia de transmissão (MET).

Ao Prof. Dr. Carlos Reis Baptista do DEMAR/FAENQUIL pelas valiosas discussões no aspecto microestrutural e características mecânicas do material e redação da tese.

Aos amigos Maria da Rosa, Regina Horta, Patrícia, Antonio Clélio e Júlio Alberto pelo apoio incondicional naqueles momentos mais difíceis.

Aos meus pais, José Laurindo e Norma, por serem meu porto seguro onde sempre encontro o apoio necessário.

# OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-13Nb-13Zr PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL

Sandra Giacomini Schneider

## RESUMO

A seleção de metais para implantes baseia-se na análise de alguns fatores como: suas propriedades biomecânicas; experiências anteriores de processamento, tratamento térmico, usinagem e acabamento; e ainda ser adequado ao processo comum de esterilização. A utilização de ligas de titânio tem aumentado devido ao seu baixo módulo elástico, superior biocompatibilidade e resistência à corrosão quando comparadas aos materiais mais convencionais como aço inoxidável e ligas de cobalto. Essas propriedades atrativas são responsáveis pela introdução inicial do Ti- $\alpha$  e das ligas Ti- $\alpha$  +  $\beta$  (principalmente Ti-6Al-4V), além do recente desenvolvimento de ligas de Ti com novas composições e ligas Ti- $\beta$  metaestáveis para aplicações médicas. A Ti-13Nb-13Zr é uma nova liga, próximo de  $\beta$ , desenvolvida em 1992 visando aplicações ortopédicas sendo produzida por métodos convencionais de fusão (VAR- *Vacuum arc remelting* ou metalurgia do pó). Pesquisas mostram que suas propriedades podem ser controladas por meio de trabalho a quente, tratamento térmico e trabalho a frio. O presente estudo descreve as características físicas e biológicas da liga Ti-13Nb-13Zr, que foi produzida por um método alternativo de fusão. Os lingotes, cujos diâmetros são de aproximadamente 15mm cada um, foram fundidos em atmosfera inerte (argônio) empregando-se forno a arco com eletrodo não consumível utilizando como material de partida chapas de Ti e Nb puros (99,9%) e Zr contendo até 4,5% Hf. Após uma seqüência de trabalho a frio e tratamento térmico atingiu-se o diâmetro final de 2,8mm. A caracterização microestrutural foi feita empregando-se microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura (SEM), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), difração de raios X (XDS) e difração de elétrons de área selecionada (SAD) para identificar as fases presentes na liga solubilizada e envelhecida. Para a caracterização mecânica foram realizados ensaios de tração a temperatura ambiente e a resistência encontrada foi de 1270 MPa para a liga deformada a frio com 52% de redução em área, e de 860 MPa após tratamento térmico (52% de redução em área + 1000°C/1h + água). Os valores dos módulos elásticos medido foram de 52 GPa e 60 GPa respectivamente. A avaliação biológica ocorreu em duas etapas. Na primeira foram avaliados efeitos da liga sobre células por meio de um método quantitativo de supressão de colônias usando cultivo de células do ovário de hamster chinês (CHO) em contato com extratos diluídos dos biomateriais, denominado teste de citotoxicidade, mostrando que a liga produzida é não citotóxica. Na segunda etapa foram realizados implantes nas tíbias de coelhos para avaliação da osteointegração, denominado teste de biocompatibilidade "in vivo", e por meio da análise histológica verificou-se aspectos de osteocondução da liga implantada.

## PROCESSING AND CHARACTERIZATION OF THE Ti-13Nb-13Zr ALLOY FOR BIOMEDICAL APPLICATION

Sandra Giacomini Schneider

### ABSTRACT

Metals for implants have been selected based on a number of factors: their biomechanical properties; previous experience with processing, treating, machining, and finishing; and suitability for common sterilization procedures. An increasing use of titanium alloys as biomaterials is occurring due to their lower elastic modulus, superior biocompatibility and enhanced corrosion resistance when compared to the more conventional stainless steels and cobalt-based alloys. These attractive properties were responsible for the early introduction of  $\alpha$  (cp. Ti) and  $\alpha+\beta$  (Ti 6Al-4V) alloys as well as for the more recent development of new Ti-alloy compositions and medical metastable  $\beta$  titanium alloys. Ti-13Nb-13Zr is a new titanium alloy, originally developed (1992) for orthopedic implant applications, being produced by conventional methods like vacuum arc refusion (VAR) and powder metallurgy. This alloy combines a low elastic modulus, high strength, excellent hot and cold workability, and superior corrosion resistance. Research on this alloy has shown that the mechanical properties can be controlled over a significant range through hot working, heat treatment and cold-working. The present study describes the mechanical properties, cytotoxic and biocompatibility evaluations of the Ti-13Nb-13Zr alloy produced by the alternative method of argon arc melting. The elemental constituents were commercial-purity Ti, Nb and Zr sheets. The obtained ingots, which initial diameter were about 15 mm, have undergone sequences of cold-working and heat treatments in order to achieve a final diameter of 2,8 mm. Microstructural analyses were performed using light, scanning (SEM), and transmission electron microscopy (TEM). X-ray diffraction (XRD) and selected area electron diffraction (SAD) were used to identify the phases present in the as-quenched and aged materials. The tensile strength of Ti-13Nb-13Zr achieved 1270 MPa (cold-worked – 52% reduction in area) and 860 MPa after heat treatment (52% reduction in area + 1000° C/1h + water quenched). The values of the elastic modulus were 52 GPa and 60 GPa respectively. The biological evaluation was carried out in two steps. First, the toxic effect of this alloy on cells was evaluated by a cytotoxicity test, a quantitative method of colony suppression assay using Chinese Hamster Ovary (CHO) cultured cells in contact with diluted extracts of the biomaterials. The results showed that Ti-13Nb-13Zr alloy obtained by furnace arc melting isn't cytotoxic. The second step consisted of the biocompatibility *in vivo* tests. These were carried out in rabbits and the osseointegration was verified through histological analyses.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1- INTRODUÇÃO</b>	
.....	01
<b>2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	
<b>2.1 - Condições gerais na seleção de material para implante cirúrgico</b> .....	07
<b>2.2 - Materiais metálicos para uso em aplicações cirúrgicas</b> .....	12
<b>2.3 - Titânio e suas ligas como implante cirúrgico</b> .....	15
<b>2.3.1 - Classificação das ligas de titânio em função da sua microestrutura à temperatura ambiente</b> .....	20
<b>2.3.2 - Ligas de titânio desenvolvidas para aplicações cirúrgicas</b> .....	23
<b>2.3.3 - Liga Ti-13Nb-13Zr</b> .....	26
<b>2.4 - Tecido ósseo</b> .....	29
<b>2.5 - Avaliação Biológica</b> .....	36
<b>3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b>	
<b>3.1 - Obtenção da liga Ti-13Nb-13Zr</b> .....	39
<b>3.2 - Processamentos térmicos e mecânicos</b> .....	41
<b>3.2.1 - Trabalho a frio: Forjamento rotativo e Trefilação</b> .....	41
<b>3.2.2 - Tratamentos térmicos</b> .....	46
<b>3.3 - Caracterização microestrutural e mecânica da liga Ti-13Nb-13Zr</b> .....	47
<b>3.3.1 - Caracterização microestrutural da liga Ti-13Nb-13Zr</b> .....	48

	<b>Página</b>
3.3.2- Propriedades mecânicas.....	50
<b>3.4 - Testes de avaliação biológica.....</b>	<b>52</b>
3.4.1 - Avaliação de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr.....	52
3.4.1.1 - Preparação dos extratos.....	53
3.4.1.2 - Preparação das placas de cultura.....	55
3.4.2 - Teste de biocompatibilidade " <i>in vivo</i> ".....	58
3.4.2.1 Preparação dos corpos de prova.....	59
3.4.2.2 - Procedimento cirúrgico.....	60
3.4.2.3 - Aplicação dos marcadores fluorescentes.	66
3.4.2.4 - Preparação das amostras para análise de fluorescência.....	67
3.4.2.5 - Procedimento para análise quantitativa do osso formado -Histomorfometria.....	69
<b>4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.</b>	
4.1 - Obtenção da liga Ti-13Nb-13Zr.....	71
4.2 - Caracterização microestrutural e mecânica da liga Ti-13Nb- 13Zr.....	74
4.2.1 - Caracterização microestrutural.....	74
4.2.1.1 - Estrutura bruta de fusão.....	75
4.2.1.2 - Amostra tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.....	84
4.2.1.3 - Amostra tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar.....	89
4.2.1.4- Amostra tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida a 500°C/6h.....	95
4.2.2 - Propriedades mecânicas.....	102
4.3 - Avaliação biológica.....	110
4.3.1 - Teste de citotoxicidade " <i>in vitro</i> ".....	110
4.3.2 - Teste de biocompatibilidade " <i>in vivo</i> ".....	113

	<b>Página</b>
<b>5 - CONCLUSÕES .....</b>	<b>123</b>
<b>6 - PROPOSTA DE TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>126</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>127</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>139</b>

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1 -</b> Paralelo entre as características de materiais metálicos para implantes ortopédicos (Long, 1998).....	14
<b>Tabela 2 -</b> Ligas de Ti desenvolvidas para aplicação como material de implante cirúrgico (Niinomi, 1998).....	25
<b>Tabela 3 -</b> Sumário das propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr comparadas as da Ti-6Al-4V (Davidson et al., 1994).....	27
<b>Tabela 4 -</b> Propriedades mecânicas do osso cortical.....	35
<b>Tabela 5 -</b> Dados do forjamento rotativo da liga Ti-13Nb-13Zr a partir do diâmetro inicial de 15,00 mm até o final de 2,80 mm.....	44
<b>Tabela 6 -</b> Seqüência de dosagens dos marcadores da apatita do tecido ósseo. ....	66
<b>Tabela 7 -</b> Dados da primeira etapa de trefilação do fio da liga Ti-13Nb-13Zr envolvido em tubo de cobre eletrolítico.....	72
<b>Tabela 8 -</b> Valores de $2\theta$ e respectivas distâncias interplanares $d$ (Å) das reflexões hkl das fases $\alpha$ ou $\alpha'$ (hcp) e $\beta$ (bcc).....	77
<b>Tabela 9 -</b> Características atômicas e estruturais do Ti, Nb e Zr.....	79

	<b>Página</b>
<b>Tabela 10</b> - Propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr na condição forjada (52% de redução de área); e forjada, tratada 1000°C/1h e resfriada em água.....	105
<b>Tabela 11</b> - Propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr nas condições envelhecida (500°C/6h); e tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar.....	107
<b>Tabela 12</b> - Resultados do ensaio de microdureza da liga Ti-13Nb-13Zr.....	109
<b>Tabela 13</b> - Teste de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr: percentual do número de colônias formadas nas várias concentração dos extratos.....	111
<b>Tabela 14</b> - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material forjado implantado longitudinalmente.....	119
<b>Tabela 15</b> - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material forjado implantado transversalmente.....	120
<b>Tabela 16</b> - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material trefilado implantado transversalmente.....	121
<b>Tabela 17</b> - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material trefilado implantado longitudinalmente.....	121

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1 -</b> Desenho representativo das estruturas cristalinas cúbica de corpo centrado (bcc) e hexagonal compacta (hcp), com os valores dos respectivos parâmetros de rede, do Ti puro.....	16
<b>Figura 2 -</b> Avaliação Biológica de Metais <b>(A)</b> : Citotoxicidade de metais puros e <b>(B)</b> : Relação entre resistência de polarização e biocompatibilidade de metais puros, ligas Co-Cr e aço inoxidável (Kuroda et al.,1998).....	19
<b>Figura 3 -</b> Diagrama de fases esquemático de um pseudo binário do titânio e um estabilizador da fase $\beta$ (Murakami, 1980).....	22
<b>Figura 4 -</b> Comparação entre os módulos de elasticidade das ligas de Ti utilizadas em aplicações biomédicas (Kuroda et al.,1998).....	26
<b>Figura 5 -</b> Diagrama de fases estimado do Nb-Ti para 13% em peso de Zr a partir do diagrama de fases ternário Ti-Nb-Zr (Davidson et al., 1994).....	28
<b>Figura 6 -</b> a) Esquema das diferentes etapas de mineralização do osteóide recém-formado. b) Micrografia eletrônica de varredura (MEV) mostrando o início da deposição mineral em uma zona de osteóide recentemente formado de osso fetal (Stevens and James, 1995).....	31

	<b>Página</b>
<b>Figura 7 -</b> Micrografia de luz polarizada do osso em processo de reparação mostrando o osso primário recentemente formado ( <b>P</b> ) no centro e o osso secundário original ( <b>S</b> ) (Stevens and James, 1995).....	33
<b>Figura 8 -</b> Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrando a arquitetura do osso – cortical ( <b>C</b> ) e trabecular ( <b>T</b> ) (Stevens and James, 1995).....	34
<b>Figura 9 -</b> Vista da câmara de fusão do forno a arco com eletrodo não consumível e cadinho refrigerado a água.....	39
<b>Figura 10 -</b> Lingote obtido por fusão a arco ( $\phi \approx 15,0$ mm e comprimento de 150,0mm).....	40
<b>Figura 11 -</b> Equipamento utilizado no forjamento rotativo a frio FENN modelo 3F.....	43
<b>Figura 12 -</b> Desenho esquemático dos corpos de prova para ensaio de tração.....	51
<b>Figura 13 -</b> Fluxograma das etapas de obtenção dos extratos da liga Ti-13Nb-13Zr, do Ti e solução fenol 0,02% para teste de biocompatibilidade “ <i>in vitro</i> ”.....	54
<b>Figura 14 -</b> Placas de Petri do teste de citotoxicidade contendo as colônias coradas com Giemsa para o controle CHO - K <sub>1</sub> e para os extratos.....	56

	<b>Página</b>
<b>Figura 15</b> - Fluxograma das etapas de preparação das placas de cultura.....	57
<b>Figura 16</b> - Exposição do local a ser operado após assepsia, anti-sepsia e tricotomia.....	63
<b>Figura 17</b> - Incisão (pele, fáscia e periósteo).....	63
<b>Figura 18</b> - Trepanação do osso para obtenção do leito.....	64
<b>Figura 19</b> - Preparo do leito longitudinal após a trepanação.....	64
<b>Figura 20</b> - Implantes longitudinal e transversal posicionados nos leitos.....	65
<b>Figura 21</b> - Incisão da pele suturado com categute.....	65
<b>Figura 22</b> - Desenho esquemático da região de contagem dos pontos nas fotos obtidas por microscopia de fluorescência.....	70
<b>Figura 23</b> - Fios obtidos por forjamento rotativo a frio com $\phi = 2,8$ mm e por trefilação com $\phi = 1,8$ mm.....	73
<b>Figura 24</b> - Seção transversal do lingote da liga Ti-13Nb-13Zr, mostrando a região de contato com o cadinho durante a fusão.....	75
<b>Figura 25</b> - Resultado de difração de raios-X da liga como fundida.....	76
<b>Figura 26</b> - Micrografias ópticas da estrutura bruta de fusão do lingote, apresentando a formação de grãos colunares e das dendritas, na região superior.....	80

<b>Figura 27</b> - Resultado de microanálise por EDS da amostra do lingote como fundido na região superior, fora das dendritas (região escura).....	81
<b>Figura 28</b> - Resultado de microanálise por EDS da amostra do lingote como fundido na região superior, dentro das dendritas (região clara).....	81
<b>Figura 29</b> - Micrografia óptica da estrutura bruta de fusão do lingote da liga, representando a morfologia da região central.....	82
<b>Figura 30</b> - Micrografias ópticas do lingote como fundido da liga, representando a morfologia da região inferior.....	82
<b>Figura 31</b> - Resultado de difração de raios-X da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água, mostrando $\alpha'$ matensítica (hcp).....	85
<b>Figura 32</b> - Micrografia óptica da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.....	86
<b>Figura 33</b> - Micrografia obtida por MEV, da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água. ....	86
<b>Figura 34</b> - (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase hcp ( $\alpha'$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.....	88

	<b>Página</b>
<b>Figura 35</b> - Resultado de difração de raios-X da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar, mostrando $\alpha'$ martensítica (hcp), $\alpha$ (hcp) e $\beta$ (bcc), possivelmente.....	90
<b>Figura 36</b> - Micrografia óptica da liga tratada 1000°C/1h e resfriada ao ar.....	91
<b>Figura 37</b> - Micrografia obtida por MEV, da liga tratada 1000°C/1h e resfriada ao ar.....	92
<b>Figura 38</b> - Micrografia obtida por MEV, da liga mostrando a região anterior, ampliada, contendo os pontos onde foram realizados microanálises por EDS.....	93
<b>Figura 39</b> - (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase bcc ( $\beta'$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar.....	94
<b>Figura 40</b> - Resultado de difração de raios-X da liga tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida a 500°C/6h, mostrando picos $\alpha'$ e $\alpha$ (hcp) e $\beta$ (bcc). .....	96
<b>Figura 41</b> - (a) Micrografia obtida por MEV, da liga tratada 1000°C/1h, resfriada ao ar e envelhecida 500°C/6h, mostrando os pontos onde foi realizado EDS; (b) A região ampliada mostra uma estrutura lamelar $\alpha+\beta$ , possivelmente.	97

- Figura 42-** (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase bcc ( $\beta$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida (500°C/6h)..... 98
- Figura 43 -** (a) Campo claro, mostrando a região de análise ; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase bcc ( $\beta$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida (500°C/6h)..... 99
- Figura 44 -** (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase hcp ( $\alpha'$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida (500°C/6h)..... 100
- Figura 45 -** Micrografia eletrônica de transmissão (MET) da liga envelhecida mostrando a martensita geminada  $\alpha'$  (hcp)..... 101
- Figura 46 -** Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr com 52% de redução em área por forjamento rotativo a frio..... 103
- Figura 47 -** Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr com 52% de redução em área por forjamento rotativo a frio, tratados a 1000°C/1h e resfriada em água..... 104
- Figura 48 -** Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida a 500°C/6 h..... 106

	<b>Página</b>
<b>Figura 49</b> - Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h resfriada ao ar. ....	107
<b>Figura 50</b> - Ensaio de supressão de colônias no teste de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr.....	112
<b>Figura 51</b> - Micrografia da interface do implante e osso após 8 semanas através de luz ultravioleta, mostrando as áreas de osso compacto ( <b>C</b> ) com sinais de remodelação ( <b>R</b> ) e áreas de diferentes intensidades de radiação indicando diferentes períodos de deposição óssea. Seção transversa do implante em leito da camada compacta da tibia. O perióstio íntegro ( <b>P</b> ) garantiu a neoformação óssea ( <b>N</b> ) mesmo na superfície exposta do implante ( <b>I</b> ).....	115
<b>Figura 52</b> - Micrografia da interface do implante e osso após 8 semanas através de microscopia de fluorescência, mesma região da FIGURA 50 com fluorescência. Áreas com deposição óssea na época de aplicação da Alizarina (marrom terra), da Calceína (verde) e da tetraciclina (amarela), mostrando as diferentes etapas, tanto nas zonas de neoformação como de remodelação do tecido ósseo.....	116
<b>Figura 53</b> - Micrografia de fluorescência do implante inserido transversalmente na camada compacta da tibia. A área escura corresponde ao osso da camada compacta preexistente. Na interface observa-se áreas de deposição de tecido ósseo em diferentes etapas e na área antiga do osso, áreas de remodelação óssea também em diferentes etapas....	117

**Figura 54 -** Micrografia de fluorescência do implante inserido transversalmente na camada compacta da tíbia. A área escura corresponde ao osso preexistente com área de neoformação óssea. Observa-se que nesta lâmina foi detectada uma área em que houve grande deposição de tecido neoformado na época da Alizarina, próximo ao osso compacto e da Tetraciclina na área da interface implante/osso e regiões protegidas por perióstio (N).....

## 1 - INTRODUÇÃO

Durante as duas grandes guerras mundiais, na tentativa de evitar a amputação de membros que haviam perdido suas funções, foi empregado como implantes todo tipo de material disponível, com resultados desastrosos. Em busca de materiais que não fossem nocivos e que não sofressem rejeição pelo corpo humano chegou-se, em 1947, a um consenso quanto à utilização de aços autênticos a base de Ni-Cr (Boschi, 1996). As pesquisas, a partir de então, foram intensificadas na procura de materiais alternativos para as mais variadas funções. A esses materiais dá-se o nome de biomateriais.

Os biomateriais abrangem uma classe ampla de substâncias, naturais ou sintéticas, com propriedades mecânicas, físicas e químicas adequadas à recuperação das funções originais do tecido, órgão ou sistema perdido na forma de implantes, próteses ou dispositivos extracorpóreo, sem lhes causar efeito nocivo (Willians, 1993).

O campo de aplicação dos biomateriais é diversificado compreendendo dispositivos médicos desde coração artificial e válvulas cardíacas até implantes

ortopédicos (quadril, joelho, perna, braço e mão), odontológicos (raízes de dentes) e inúmeras outras aplicações. Estima-se que exista aproximadamente 2700 diferentes tipos de dispositivos médicos (Rupp, et al., 1996).

Biomateriais podem ser definidos como materiais não vivos utilizados em um dispositivo médico, com o objetivo de interagir com o sistema biológico (Williams, 1993). Ou, biomateriais são todos os materiais que, de modo contínuo ou intermitente, entram em contato com fluidos corpóreos, mesmo que sejam localizados fora do corpo (Park, 1980). No entanto, pela abrangência do campo de aplicação, não existe um consenso, entre os pesquisadores, a respeito de uma única definição de biomaterial.

Os materiais metálicos são usados como implante desde o século XVI e o fracasso inicial dessa utilização foi devido à falta de conhecimentos de assepsia e anti-sepsia o que levava à infecção (Gotman, 1997).

A descoberta que muitas doenças, contagiosas ou infecciosas, que se originam da invasão do corpo por organismos especiais e sua multiplicação foram publicadas por Pasteur em 1870. Em 1880, com a introdução de técnicas anti-sépticas cirúrgicas desenvolvidas por Joseph Lister foi possível distinguir a reação do tecido devido ao implante e devido às contaminações. Isto, acompanhado do desenvolvimento da ciência de patologia celular iniciada por Virchow, em 1850, impulsionaram a revolução na cirurgia. A partir de então houve um rápido desenvolvimento dos metais e ligas para uso médico, e mais recentemente novos

materiais cerâmicos, poliméricos e compósitos surgiram também com este objetivo (Gotman, 1997) e (Hoeppner and Chandrasekaran, 1994).

O aumento significativo, nos últimos anos, do uso de implantes ortopédicos, tem acompanhado o aumento da população mundial com idade acima de 65 anos. Dentre os vários materiais empregados com essa finalidade, como aço inox AISI 316L e ligas Co-Cr, o uso de ligas à base de Ti vem aumentando significativamente (Vallet-Regi, 1997). O titânio e suas ligas, por apresentarem excelente relação resistência/massa específica, estão entre os materiais mais adequados ao emprego estrutural, especialmente em situações em que a redução de peso de um componente é um fator crítico. Além disso, suas notáveis características de biocompatibilidade e excelente resistência à corrosão favorecem seu emprego em diversos setores da indústria química e em implantes cirúrgicos (Hoeppner and Chandrasekaran, 1994).

A liga de titânio de maior destaque em aplicações ortopédicas é a liga Ti-6Al-4V ELI (*Extra Low Intersticial*) (Okazaki et al., 1998), isto está associado à questões econômicas uma vez que esta liga é utilizada na indústria aeroespacial, para a qual foi desenvolvida, gerando retalhos os quais podem ser aproveitados inclusive para aplicações ortopédicas. Contudo, a dissolução de Al e V observada em ensaios de desgaste em meio fisiológico traz alguma restrição ao uso extensivo desta liga (Khan et al., 1999). Tendo em vista que os íons de Al e V apresentam citotoxicidade a partir de uma concentração igual ou superior a

0,2ppm (parte por milhão), e que a ocorrência do mau de Alzheimer tem sido associada à presença do Al, novas ligas de Ti sem adição desses elementos vêm sendo desenvolvidas para aplicação como implantes médicos (Zardiackas et al., 1996).

Na área da Odontologia, a implantologia é uma das mais recentes especialidades e veio ao encontro das necessidades de inúmeros pacientes edêntulos, por exemplo, idosos e desportistas. Os idosos após vários anos de uso de próteses totais, apresentam redução no volume do osso alveolar, tendo como consequência o comprometimento da mastigação, da dicção e da estética. Nos desportistas o uso de prótese total ou parcial apresenta o mesmo comprometimento dos idosos, além de apresentar também risco de vida quando em atividade competitiva, onde aumenta a probabilidade de aspirar a prótese e conseqüentemente asfixiar (Ruano et al., 1996). Os materiais de implante odontológico são metálicos, sendo que os utilizados comercialmente são aço inox e Ti comercialmente puro (CP). Estudos desenvolvidos recentemente por Valereto I. C. L. (Valereto et al., 2001) apresentam características favoráveis à utilização da liga Ti-6Al-7Nb para aplicações dentais.

Os implantes odontológicos possuem a peculiaridade de não ficarem apenas em contato com o tecido ósseo, ou seja, em meio assético. Parte deles ficam expostos ao meio bucal, isto é, não ficam totalmente isolados do meio externo o que facilita a infiltração de bactérias aumentando o risco de processo inflamatório comprometendo a prótese (Moraes, 1989).

O desenvolvimento de novos materiais para aplicação cirúrgica, os quais mantenham suas propriedades de resistência mecânica, biocompatibilidade, fadiga e corrosão e além disso baixo módulo de elasticidade, isto é, mais próximo ao do osso (17 a 35 GPa), continua sendo objetivo de muitos estudos.

Dentre esses novos materiais desenvolvidos, a liga Ti-13Nb-13Zr, rica em fase  $\beta$  (Mishra, 1996), destaca-se por apresentar em sua formulação três dos quatro (somando-se o Ta) elementos metálicos que atendem a todos os critérios de excelente biocompatibilidade (Seligson et al., 1997), além de apresentar excelente resistência à corrosão e baixo módulo de elasticidade, mais próximo do osso (Song et al, 1999).

Neste trabalho será apresentado um processo alternativo de obtenção para a liga Ti-13Nb-13Zr e uma caracterização física e biológica visando a sua aplicação como material para implante cirúrgico. Considerando tratar-se de uma liga nova muito estudo ainda se faz necessário no sentido de caracterizá-la completamente para aplicação não apenas ortopédica, mas também odontológica.

A importância desse trabalho do ponto de vista científico encontra-se fundamentada nas considerações apresentadas anteriormente, na utilização do processo de fusão com eletrodo não consumível para obtenção da liga de Ti, em escala laboratorial, por fusão a arco em atmosfera de argônio, empregando

chapas dos elementos Ti e Nb puros e Zr contendo até 4,5% Hf, enquanto os processos encontrados na literatura são VAR (*vacuum arc remelting*) e metalurgia do pó onde são empregados esponja de Ti e pós dos elementos puros, e na sua avaliação para utilização como material de aplicação na área odontológica.

A originalidade deste trabalho de doutorado não está apenas no processo alternativo de obtenção da liga, mas também no estudo de biocompatibilidade "*in vivo*" utilizando marcadores fluorescentes para identificação da quantidade de tecido ósseo novo formado nos diferentes períodos durante 8 (oito) semanas (Rhan, 1976). Os cilindros da liga produzida, implantados na tíbia dos coelhos seguiu além da localização convencional (transversal), também a longitudinal, isto é, paralelo ao eixo longo da tíbia que é uma região de menor atividade metabólica.

O objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento do processo de obtenção da liga Ti-13Nb-13Zr, em escala laboratorial, na conformação e caracterização mecânicas, e na avaliação biológica visando obter o maior número de informações para que esta liga torne-se viável comercialmente para aplicações ortopédicas e também para a área odontológica.

## **2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1– Considerações gerais na seleção de material para implante cirúrgico**

Alguns materiais apresentam características físicas, químicas e biológicas apropriadas à reposição de partes do corpo humano em substituição a ossos e dentes, ou em próteses e implantes que restaurem total ou parcialmente as funções originais do corpo humano.

Implantes metálicos são amplamente usados no corpo humano e assim como outros componentes estruturais, estão sujeitos à fratura mecânica, ao desgaste e à corrosão, ou mais importante, à combinação desses fatores. Muitos implantes são expostos a cargas e desgastes intensos como consequência do movimento do paciente e que são repetidos inúmeras vezes (Hoeppner and Chandrasekaran, 1994).

Sabe-se que as próteses das extremidades inferiores do corpo humano, como por exemplo a prótese total de quadril, estão sujeitas a esforços mecânicos cíclicos da ordem de três ou mais vezes o peso do indivíduo. Considerando que uma prótese pode estar sujeita a mais de um milhão de ciclos por ano (dependendo de sua função), conclui-se que resistência à fadiga é um aspecto importante do componente implantado ( Margolin, 1980), (Lopez, 1993), (Giordani et al., 2000).

Na área da Odontologia, as variações das intensidades das forças de mastigação dependem do indivíduo, isto é, a mordida dos homens é maior que das mulheres e dos jovens é maior que das crianças. Além disso, a intensidade da força de mastigação varia conforme a localização. Na região molar pode variar de 41 a 91 kgf (1kgf = 9,806 N), na área pré-molar de 23 a 46 kgf, por isso considera-se, como critério de projeto, um valor médio de 77 kgf (Black, 1992).

A substituição e recuperação de partes do corpo humano por materiais, sejam do tipo metálico, polimérico, cerâmico ou compósito, englobam alguns aspectos como (Willians, 1994):

- reação do tecido ao implante,
- corrosão do implante,
- capacidade funcional e de projeto,
- propriedades mecânicas e
- implicações cirúrgicas.

Os estudos mostram que não existe um único material, ou um conjunto pequeno deles, que satisfaça a todas as condições. Portanto, deve-se considerar os requisitos necessários e identificar os elementos importantes na sua seleção.

A seleção e avaliação de um material ou dispositivo para implante envolve um estudo detalhado das propriedades físicas e biológicas do mesmo. A avaliação biológica encontra-se descrita na norma ISO 10993-1 (1993), onde os testes são classificados como iniciais e complementares. Dentre os testes de avaliação biológica inicial encontram-se:

- **citotoxicidade:** um dos testes *“in vitro”*, que utiliza técnicas de cultura de células, esse teste determina a morte, crescimento e outros efeitos, sobre as células, devido à presença do implante ou seu extrato;

- **biocompatibilidade:** teste *“in vivo”*, esse teste avalia efeitos patológicos locais sobre o tecido vivo, tanto no nível macro como microscópico, da amostra ou produto final que é implantado cirurgicamente ou introduzido no tecido ou região de interesse.

Entretanto, todos os aspectos considerados na seleção de qualquer material para ser utilizado no corpo humano podem ser resumidos na necessidade que ele seja compatível com o meio no qual será implantado e que permita a recuperação da função perdida. É do cumprimento de cada um desses requisitos que se tem o conceito de biocompatibilidade e de biofuncionalidade (Boschi, 1996).

Biocompatibilidade é a capacidade de um material, que quando em contato com o meio biológico deve ter um desempenho satisfatório em uma aplicação específica (Willians, 1981). A biocompatibilidade refere-se à situação criada quando o biomaterial é implantado num organismo vivo, no qual não deve exercer nenhuma influência negativa e nem ser influenciado pelo meio que o cerca. É grande o número de variáveis que afetam a compatibilidade entre um determinado material e o meio biológico no qual está inserido, dificultando a sua definição e mensuração (Boschi, 1996).

Biofuncionalidade é um conjunto de propriedades que deve estar presente em um dispositivo para que esse possa desenvolver a função desejada. Está relacionada com as propriedades mecânicas, físicas, químicas e biológicas que permitem ao implante o desempenho de sua função (Boschi, 1996) e (Black, 1992).

Os materiais são considerados biocompatíveis quando não causam a rejeição do meio biológico vivo e podem ser classificados, quanto à interface implante/tecido, como (Bose, 1993), (Zitter et al., 1990) e (Schroeder et al., 1994):

- **bioinertes ou biotoleráveis e**
- **bioativos.**

Os materiais bioinertes ou biotoleráveis são aqueles que não interagem com o meio biológico, isto é, não sofrem rejeição e durante toda a vida do

implante e mantêm suas propriedades físicas e mecânicas, por exemplo (Willians, 1992):

- metais puros (ouro, titânio e platina);
- ligas metálica (Ti-6Al-4V, Co-Cr-Mo, Co-Cr-Ni, Pt-Rh);
- cerâmicas (Alumina, porcelanas, carbono vítreo, grafite pirolítico);
- termoplásticos (polietileno, polipropileno, polimetil metacrilato);
- elastômetos (silicones);
- e compósitos (dimetacrilato, quartzo).

Os materiais bioativos são aqueles que interagem com os tecidos adjacentes de forma semelhante à da parte natural que eles substituem, ou seja, desenvolvem ligações químicas com o tecido adjacente auxiliando no processo de união e fixação do implante. Exemplo: hidroxiapatita, fluorapatita e tricalciofosfato (reabsorvíveis); biovidros e hidroxiapatita de altíssima densidade (não reabsorvíveis) (Bochi, 1996).

Segundo Hench e Wilson (1993), a biocompatibilidade de um material é considerada ótima quando promove a formação de tecido normal na sua superfície e também estabelece com o meio biológico adjacente uma interface contínua capaz de suportar os esforços a que o local do implante está submetido. Nessa nova visão de biocompatibilidade a interação tecido/implante é um requisito necessário e foi a partir desse enfoque que surgiram os dois novos conceitos: bioinércia e bioatividade.

Portanto, pode-se dizer que um material ideal para confecção de dispositivos cirúrgicos seria aquele que fosse ao mesmo tempo biocompatível, bioativo e apresentasse a biofuncionalidade necessária. No entanto, infelizmente ainda hoje essa combinação não é facilmente alcançada (Hench, 1997).

## **2.2 – Materiais metálicos para uso em aplicações cirúrgicas**

Desde o século XVI os materiais metálicos têm sido investigados visando a sua aplicação como implante. Metais nobres como o ouro, a prata e a platina foram testados inicialmente e logo descartados em função de suas propriedades mecânicas não serem adequadas, assim como alguns vidros (Bannon and Mild, 1983).

A sofisticação dos implantes e próteses, nos últimos anos, impõe uma crescente demanda de materiais que reünam ao mesmo tempo exigências de compatibilidade entre o material e o ambiente da vizinhança; propriedades físicas e químicas necessárias para desempenhar a função; e fabricação e substituição relativamente fácil do componente, como esquematizadas a seguir, onde observa-se uma área de interface relativamente pequena que representa a dificuldade de reunir todas as características em um só material: (Hoepfner and Chandrasekaran, 1994).



Muitas das 200.000 próteses de quadril produzidas atualmente nos EUA utilizam dispositivos feitos das ligas Co-Cr-Mo e Ti-6Al-4V. O número de procedimentos cirúrgicos, envolvendo tais próteses, continua aumentando por causa da maior expectativa de vida da população e devido ao sucesso em restaurar as funções originais e promover o alívio da dor (Davidson, 1994) .

Os materiais metálicos de uso comum na atualidade abrangem três grupos (Hoeppner and Chandrasekaran, 1994):

- Aço inoxidável austenítico (especialmente 316 e 316L): onde o baixo teor de carbono confere maior resistência à corrosão,
- Ligas a base de cobalto: com menor módulo de elasticidade, resistência à corrosão e ao desgaste que o aço inoxidável, e
- Ligas a base de titânio (particularmente Ti-6Al-4V): possuem uma boa combinação entre propriedades mecânicas e resistência à corrosão, além de menor densidade.

A TABELA 1 mostra um paralelo entre algumas características dos materiais metálicos mais utilizados para implantes ortopédicos.

**Tabela 1** – Paralelo entre as características de materiais metálicos para implantes ortopédicos (Long,1998).

	<b>Aço inoxidável</b>	<b>Ligas de Co</b>	<b>Ti e Ligas de Ti</b>
<b>Denominação</b>	ASTM F-138 (‘316 LDVM’)	ASTM F-75 ASTM F-799 ASTM F-1537 (Fundido e trabalhado)	ASTM F-67 (ISO 5832/II) ASTM F-136 (ISO 5832/II) ASTM F-1295 (Fundido e trabalhado)
<b>Principais elementos de liga (% em peso)</b>	Fe (bal.) Cr (17-20) Ni (12-14) Mo (2-4)	Co (bal.) Cr (19-30) Mo (0-10) Ni (0-37)	Ti (bal.) Al (6) V (4) ou Nb (7)
<b>Vantagens</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• custo</li> <li>• disponibilidade</li> <li>• beneficiamento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• resistência ao desgaste</li> <li>• resistência à corrosão</li> <li>• resistência à fadiga</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• biocompatibilidade</li> <li>• resistência à corrosão</li> <li>• resistência à fadiga</li> <li>• menor módulo de elasticidade</li> </ul>
<b>Desvantagens</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• comportamento durante longo tempo de aplicação</li> <li>• alto módulo de elasticidade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alto módulo de elasticidade</li> <li>• problemas de biocompatibilidade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• baixa resistência ao desgaste</li> <li>• baixa resistência ao cisalhamento</li> </ul>
<b>Utilizações</b>	Dispositivos temporários (placas, parafusos e pinos)	Fundições dentais, e próteses externas	Dispositivos de longo tempo ou permanentes como haste femural, marcapassos e pinos

Embora a liga Ti-6Al-4V venha sendo usada com sucesso nos últimos anos, dois problemas são objeto de estudos intensos:

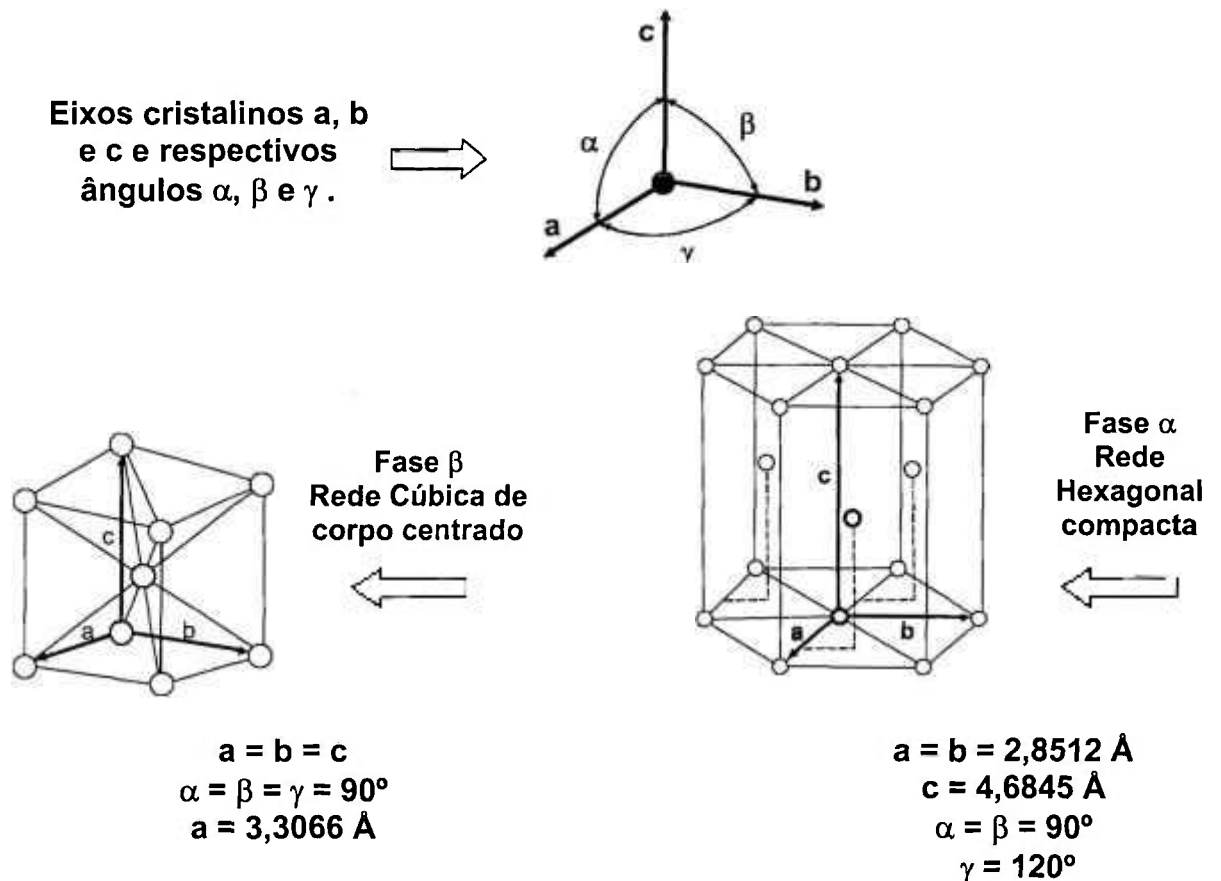
- o seu módulo de elasticidade relativamente alto (110 GPa) comparado ao do osso (17 – 35 GPa). Esta diferença promove uma barreira de tensão, ou seja, a transferência de tensão é insuficiente, comprometendo a fixação do implante e podendo levar à perda do dispositivo exigindo uma revisão cirúrgica;

- e efeitos adversos devido a liberação de íons de elementos considerados tóxicos (Al e V).

### **2.3 – Titânio e suas ligas como implante cirúrgico**

O titânio e suas ligas, por apresentarem excelente relação resistência/massa específica, estão entre os materiais mais adequados ao emprego estrutural, especialmente em situações em que a redução de peso de um componente é um fator crítico. O titânio puro possui peso específico de 4,51 g/cm<sup>3</sup> que é aproximadamente metade daqueles dos demais metais de implante. Além disso, suas notáveis características de biocompatibilidade e excelente resistência à corrosão favorecem seu emprego em diversos setores da indústria química e em implantes cirúrgicos (Seagle et al., 1996).

Na temperatura ambiente, o Ti puro apresenta-se na fase  $\alpha$  com estrutura cristalina hexagonal compacta - hcp, a qual se transforma alotropicamente na fase  $\beta$ , cúbica de corpo centrado – bcc, a 882°C. A FIGURA 1 apresenta esquematicamente a estrutura cristalina e os respectivos parâmetros de rede para o Ti puro (Cullity, 1978) e (Seagle et al., 1996).



**Figura 1** – Desenho representativo das estruturas cristalinas cúbica de corpo centrado (bcc) e hexagonal compacta (hcp), com os valores dos respectivos parâmetros de rede do Ti puro.

A adição de elementos de liga visa basicamente a manutenção da fase  $\alpha$  ou  $\beta$ . A manipulação microestrutural das ligas de titânio por meio de tratamentos térmicos baseia-se na nucleação e crescimento da fase  $\alpha$  a partir de  $\beta$  ao se resfriar o material (Murakami, 1980). A transformação martensítica é possível quando a fase  $\beta$  é resfriada rapidamente. Dois tipos de martensita podem ser formadas:  $\alpha'$  (hexagonal compacta) e  $\alpha''$  (ortorrômbica) (Donachie, 1988).

O ano de 1940 marca o início do desenvolvimento do titânio para utilização comercial e, quase que simultaneamente, a sua evolução como material

para implante cirúrgico. Os primeiros experimentos utilizando o titânio como material de implante em animais foram realizados por Bothe et al e Leventhal, com resultados de compatibilidade com o tecido bastante favoráveis (Wang, 1996). Em 1950 foi utilizado nos EUA como material de fixação em pequenas fraturas, de forma pouco expressiva. Enquanto que na Inglaterra, em 1960, as ligas de titânio foram empregadas, mais extensivamente, como material de implante (Collings, 1984).

O uso do titânio e suas ligas para aplicações como material de implante começou a ser difundido no início de 1970 (Okasaki et al., 1993).

O Ti comercialmente puro (Ti-CP), a liga Ti-6Al-4V e a liga Ti-6Al-4V ELI (*Extra Low Intersticial*) foram desenvolvidas originalmente como materiais estruturais para aplicação na indústria aeroespacial mas passaram a ser os principais materiais para aplicações como implantes cirúrgicos.

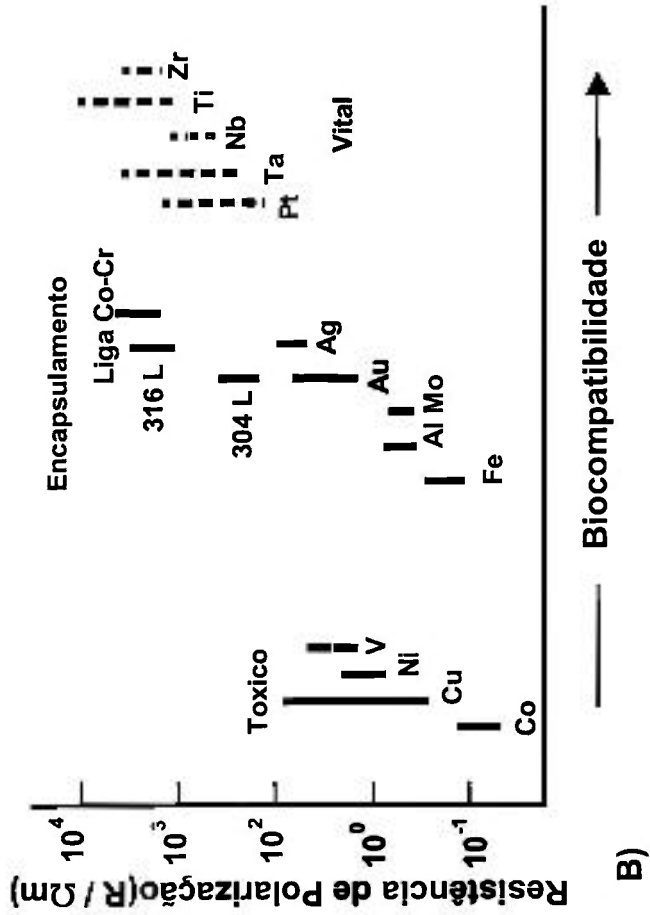
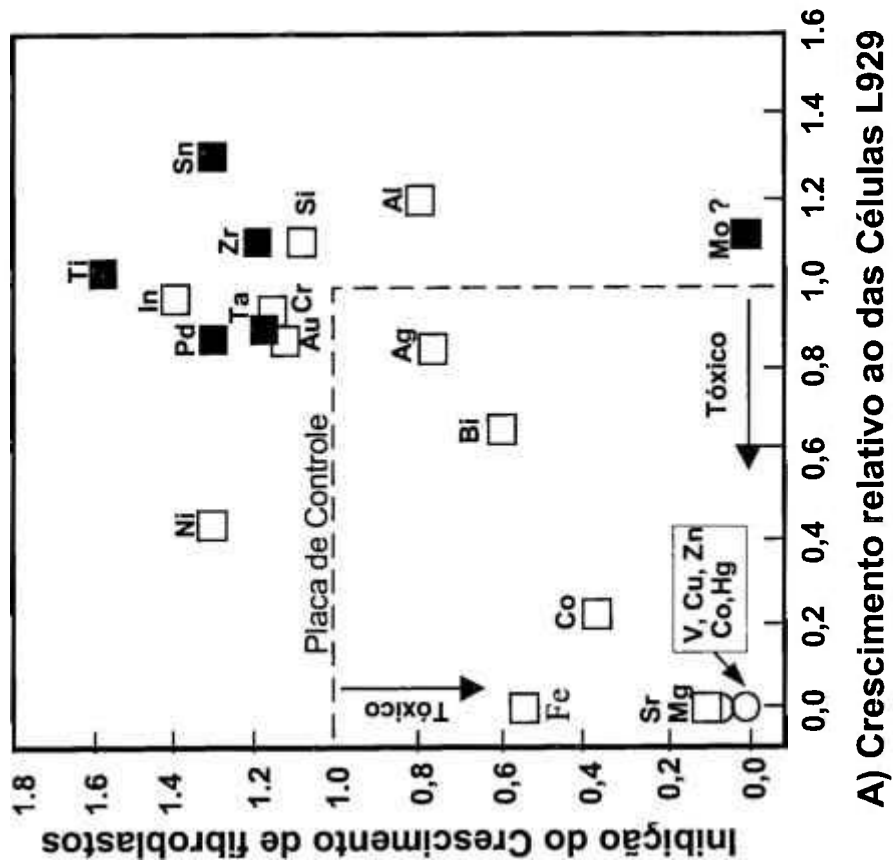
O Ti-CP possui maior resistência à corrosão e tolerância do tecido que o aço inoxidável, tradicionalmente utilizado nos implantes. A liga de Ti de maior interesse, até o momento, para próteses de reposição total é a Ti-6Al-4V por causa de sua alta resistência mecânica, baixo módulo de elasticidade, excelente resistência à corrosão e boa tolerância do tecido. Tais aplicações incluem próteses de quadril e joelho, peças de fixação (chapas, parafusos, fios), instrumentos e implantes dentais (Marc Long, 1998) e (Zitter and Plenk, 1987).

Entretanto, altos níveis de Ti, V e Al foram detectados no tecido próximo à região do implante, da liga Ti-6Al-4V, principalmente quando submetido a grande esforço de impacto e atrito (joelho e cabeça do fêmur) (Okasaki et al.,

1993) e (Bianco et al., 1997). Por causa de sua baixa resistência ao desgaste a liga Ti-6Al-4V não é aconselhada para essas aplicações sem um revestimento ou tratamento superficial (Kuroda et al., 1998) e (Niinomi et al., 1999).

Torna-se importante uma avaliação da citotoxicidade e a relação entre biocompatibilidade e resistência de polarização de metais puros e materiais de implante cirúrgico, como parâmetros de projeto. Estudos realizados por Kawahara (1963) e Steimemann (1980) sobre este enfoque demonstraram a alta toxicidade do V e a resposta do tecido tipo encapsulado (cicatriz) devido ao Al, enquanto Ti, Nb, Ta e Zr exibiram excelente biocompatibilidade e pertencem ao grupo cuja reação do tecido é classificada como conjuntivo frouxo vascularizado (vital). Os resultados publicados por Steimemann e Kawahara são mostrados na FIGURA 2 (a) e (b). Os projetos de novas ligas de Ti tipo  $\beta$  com baixo módulo de elasticidade, maior resistência mecânica e maior resistência à corrosão passaram a conter elementos não citotóxicos que foram selecionados a partir desses resultados, tais como Nb, Ta, Zr, Mo e Sn (Kuroda et al., 1998) e (Khan et al., 1996).

Em meados dos anos 80 as pesquisas tinham como objetivo a obtenção de ligas de Ti sem os elementos Al e V, visando aplicações ortopédicas, devido aos resultados de biocompatibilidade (Okasaki et al., 1998) e (Pypen et al., 1998). A nova meta a ser alcançada era a obtenção de uma liga que reunisse as seguintes propriedades: baixo módulo de elasticidade, excelente resistência mecânica, boa resistência à corrosão, de fácil conformabilidade e sem a presença de elementos tóxicos (Okasaki et al., 1996), (Niinomi, 1998) e (Song et al., 1999).



**Figura 2 – Avaliação Biológica de Metais (A): Citotoxicidade de metais puros e (B): Relação entre resistência de polarização e biocompatibilidade de metais puros, ligas Co-Cr e aço inoxidável (Kuroda et al., 1998).**

### **2.3.1 – Classificação das ligas de titânio em função da sua microestrutura à temperatura ambiente**

As ligas de titânio podem ser classificadas em  $\alpha$ , próximo  $\alpha$ ,  $\alpha+\beta$ ,  $\beta$  metaestável e  $\beta$  estável, dependendo da sua composição e processamentos térmico e mecânico. As composições  $\alpha/\beta$  ricas em  $\beta$  também são comumente designadas como ligas Ti- $\beta$  (Margolin et al., 1980) e (Seagle et al., 1999).

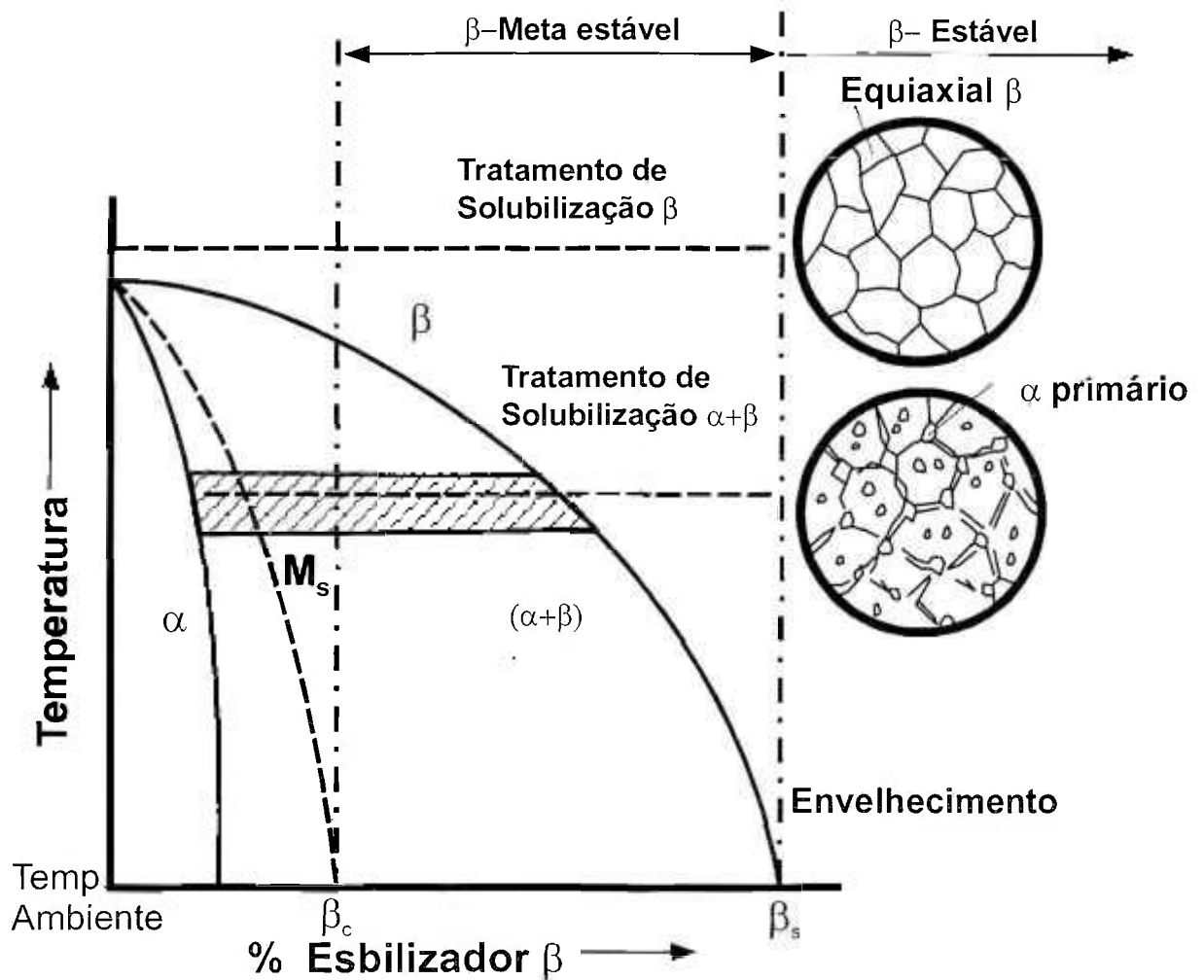
Os elementos de liga conhecidos como estabilizadores da fase  $\alpha$  são Al, O, N, C; os estabilizadores da fase  $\beta$  classificam-se como isomorfos e eutetóides. Os isomorfos são Mo, V, Nb, Ta e W e os eutetóides são Fe, Cr, Si, Ni, Co, Cu e Mn. E existem ainda os neutros tais como o Zr (Bania, 1994).

Sabe-se que as propriedades mecânicas estão associadas à microestrutura do material, sendo assim, as ligas Ti- $\alpha$  e próximo de  $\alpha$  exibem superior resistência a corrosão, mas sua aplicação como biomaterial é limitada por sua resistência mecânica relativamente baixa em temperatura ambiente. Por outro lado as ligas Ti- $\alpha+\beta$  possuem valores de resistência mecânica mais elevados e suas propriedade dependem , além da proporção  $\alpha/\beta$ , das condições

de tratamentos térmicos ou processamentos termo-mecânicos (Long, 1998), (Weiss and Semiatin, 1998) e (Murthy and Sundaresan, 1998).

Segundo Bania (1994), denomina-se liga Ti- $\beta$  qualquer liga que possua estabilizador  $\beta$  suficiente para reter 100% desta fase quando resfriada rapidamente a partir da temperatura de transição  $\beta$  (limite entre a região  $\beta$  e  $\alpha+\beta$ ). A FIGURA 3 mostra um diagrama pseudo binário esquemático do titânio e um estabilizador da fase  $\beta$  (Murakami, 1980). Observa-se que existe uma quantidade de estabilizador da fase  $\beta$  suficiente para evitar a transformação martensítica ( $M_s$ ) após resfriamento rápido, impedindo a formação martensítica. As ligas que estão entre o nível crítico mínimo de quantidade  $\beta$  ( $\beta_c$ ) e o ponto estável  $\beta_s$  estão dentro da região de duas fases  $\alpha+\beta$ . Mas, embora essas ligas possam reter 100%  $\beta$  após resfriamento rápido, a fase  $\beta$  é metaestável e precipitará a fase  $\alpha$  após envelhecimento. As ligas à direita de  $\beta_s$  são consideradas estáveis e teoricamente não ocorrem precipitações.

O controle do crescimento de grão equiaxiais e de partículas  $\alpha$  ocorre por meio de tratamento de solubilização em temperaturas acima ou abaixo da temperatura de solubilização  $\beta$  que são denominados tratamento de solubilização  $\beta$  e tratamento de solubilização  $\alpha+\beta$ , respectivamente. Os tratamentos de solubilização quando seguidos de envelhecimento em temperaturas mais baixas causam um aumento de resistência devido à formação de precipitados submicroscópicos  $\alpha$  secundário ( $\alpha''$ ) (Donachie, 1998).



**Figura 3** – Diagrama de fases esquemático de um pseudo binário do titânio e um estabilizador da fase  $\beta$  (Murakami, 1980).

As ligas Ti- $\beta$  apresentam as maiores relações resistência/peso dentre todas as ligas de titânio, embora possuam também densidades ligeiramente superiores às demais ligas. Elas tendem também a apresentar menores valores do módulo elástico, o que é desejável no caso de aplicações biomédicas (Ankem; Greene, 1999). Apesar de possuírem mais vantagens que desvantagens, as ligas Ti- $\beta$  ainda têm uma participação inexpressiva no mercado

de ligas de titânio, do qual a liga  $\alpha+\beta$  (Ti-6Al-4V) responde por 65%. As razões para isso são diversas, mas provavelmente incluem o custo relativamente mais elevado e a insuficiência de dados para projeto das liga Ti- $\beta$  (Bania, 1994). É de grande interesse, portanto, o estudo do comportamento mecânico desses materiais, relacionando-o à microestrutura e ao processamento térmico e mecânico.

As ligas Ti- $\beta$  podem ser obtidas com maiores níveis de resistência mecânica, melhor usinabilidade e tenacidade à fratura do que as ligas  $\alpha+\beta$ . Estas ligas foram projetadas contendo elementos de liga tais como molibdênio, zircônio, nióbio, tântalo e ferro podendo exibir módulo elástico menor que o da liga Ti-6Al-4V e, portanto, mais próximo ao do osso (Eylon et al., 1994) e (Wang, 1996).

### **2.3.2 – Ligas de titânio desenvolvidas para aplicações cirúrgicas**

Devido ao problema de toxicidade dos elementos de liga V e Al (McKay et al., 1996) e (Sanchez et al., 1998) foram desenvolvidas novas ligas Ti- $\alpha+\beta$ , primeiramente sem V, como por exemplo Ti-6Al-7Nb e Ti-5Al-2,5Fe, cujos módulos de elasticidade são 114 e 112 GPa, respectivamente. Posteriormente

outras ligas do tipo Ti- $\alpha$ + $\beta$ , mas sem os elementos Al e V, como Ti-15Sn-4Nb-2Ta-0,2Pd (módulo de elasticidade 105 GPa) e Ti-15Zr-4Nb-4Ta-0,2Pd (módulo de elasticidade 100 GPa), apareceram. Ligas com módulos elásticos mais próximos ao do osso (17 a 35 GPa) são consideradas, por alguns pesquisadores, como uma vantagem por ajudar a suavizar a incompatibilidade mecânica do implante com o osso (Newman, 1980) e (Willians, 1981). Visando melhorar a compatibilidade mecânica e citotóxica, recentemente as ligas Ti- $\beta$  estão sendo desenvolvidas utilizando elementos não tóxicos, como Nb, Ta, Zr e outros, apresentando melhor biocompatibilidade e menor módulo de elasticidade, além de uma maior resistência comparada às ligas Ti- $\alpha$ + $\beta$  (Kuroda, 1998) e (Niinomi, 1998).

As ligas de Ti utilizadas para aplicação como material de implante cirúrgico e suas propriedades mecânicas são apresentadas na TABELA 2, onde destacam-se aquelas desenvolvidas especificamente com este objetivo (Niinomi, 1998).

Observa-se dos resultados das propriedades mecânicas destas ligas de Ti ( $\alpha$ ,  $\alpha$ + $\beta$  e  $\beta$ ) que a resistência encontra-se entre 500 e 1000 MPa e o alongamento entre 10 e 20%, estando dentro de valores considerados satisfatórios para aplicações cirúrgicas (Niinomi, 1998).

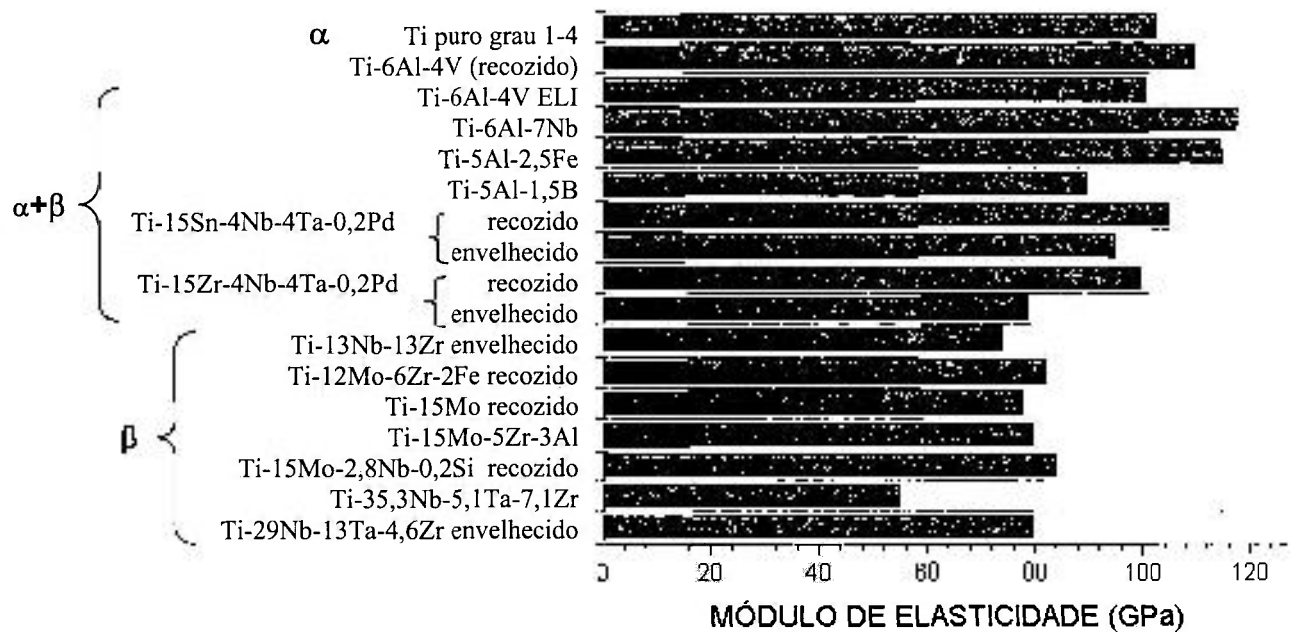
**Tabela 2** - Ligas de Ti desenvolvidas para aplicação como material de implante cirúrgico (Niinomi, 1998).

DENOMINAÇÃO	TIPO	Limite de Resistência (MPa)	Limite de Escoamento (MPa)	Alongamento (%)	Módulo de Elasticidade (GPa)
Ti puro grau 1	$\alpha$	240	170	24	102,7
Ti puro grau 2	$\alpha$	345	275	20	102,7
Ti puro grau 3	$\alpha$	450	380	18	103,4
Ti puro grau 4	$\alpha$	550	485	15	104,1
Ti-6Al-4V ELI	$\alpha+\beta$	860-965	795-875	10-15	101-110
Ti-6Al-4V	$\alpha+\beta$	895-930	825-869	6-10	110-114
Ti-6Al-7Nb <sup>a</sup>	$\alpha+\beta$	900-1050	880-950	8,1-15	114
Ti-5Al-2,5Fe <sup>a</sup>	$\alpha+\beta$ rica em $\beta$	102	895	15	112
Ti-5Al-3Mo-4Zr <sup>a</sup>	$\alpha+\beta$	925-1080	820-930	15-17	110
Ti-15Sn-4Nb-2Ta-0,2Pd <sup>a</sup>	$\alpha+\beta$	860-1109	790	21-10	89-103
Ti-15Zr-4Nb-2Ta-0,2Pd <sup>a</sup>	$\alpha+\beta$	715-919	1020	28-18	94-99
Ti-13Nb-13Zr <sup>a</sup>	próximo $\beta$	973-1037	693-806	10-16	79-84
Ti-12Mo-6Zr-2Fe <sup>a</sup>	$\beta$	1060- 1100	836-908	18-22	74-85
Ti-15Mo <sup>a</sup>	$\beta$	874	1000-1060	21	78
Ti-16Nb-10Hf <sup>a</sup>	$\beta$	851	544-736	10	81
Ti-15Mo-5Zr-3Al	$\beta$	852-1100	838-1060	25-22	80
Ti-15Mo-2,8Nb-0,2Si <sup>a</sup>	$\beta$	979-999	945-987	16-18	83
Ti-35,3Nb-5,1Ta-7,1Zr <sup>a</sup>	$\beta$	596,5	547,1	19	55,0
Ti-29Nb-4,6Zr <sup>a</sup>	$\beta$	911	864	13,2	80

Onde <sup>a</sup> refere-se as ligas desenvolvidas para aplicação biomédica.

Os módulos de elasticidade dos biomateriais mais usados como o aço inoxidável e as liga de Co são 206 e 240 GPa, respectivamente. As ligas de Ti

possuem módulo de elasticidade muito menores, como mostra a FIGURA 4, destacando as ligas Ti- $\beta$  cujos módulos encontram-se entre 55 e 80 GPa (Kuroda, 1998). Porém todos eles ainda estão muito longe do valor do módulo de elasticidade do osso, obtido por meio do ensaio de tração, que se encontra entre 17 a 35 GPa (Zavaglia, 1993).



**Figura 4** – Comparação entre os módulos de elasticidade das ligas de Ti utilizadas em aplicações biomédicas (Kuroda et al., 1998).

### 2.3.3 – Liga Ti-13Nb-13Zr

A liga Ti-13Nb-13Zr foi desenvolvida por Smith e Nephew Richards para aplicações ortopédicas. Em 1992 começou a ser comercializada pela

companhia Smith & Neph (USA) conforme citado por Wang (1996) e Weiss and Semiatin (1998).

Pesquisas sobre a liga Ti-13Nb-13Zr mostram que suas propriedades podem ser controladas por meio da deformação a quente, tratamentos térmicos e deformação a frio, conforme mostra a TABELA 3. O seu módulo de elasticidade, por exemplo, pode variar entre 41 e 83 GPa aproximadamente (módulo de elasticidade do osso é 17 a 35 GPa) e valores de resistência tão altos quanto 1330 MPa podem ser obtidos (Davidson et al., 1994); (Mishra et al., 1993) e (Niinomi, 1998). Além do fato de possuir resistência à corrosão superior à das ligas Ti-6Al-4V e Ti-6Al-7Nb utilizadas como implante cirúrgico (Khan et al., 1996) e (Yu; Scully, 1997).

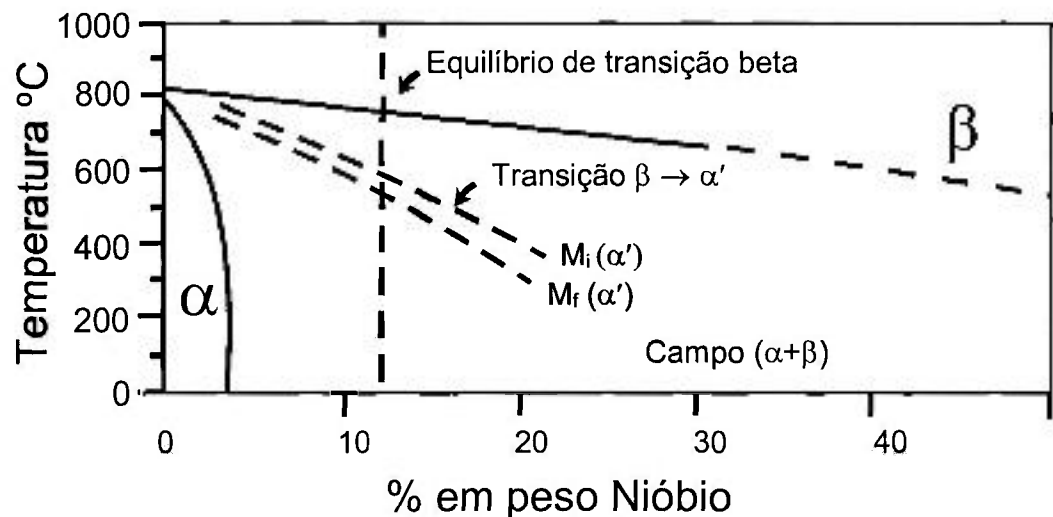
**Tabela 3** – Sumário das propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr comparadas as da Ti-6Al-4V (Davidson et al., 1994).

Propriedades	Ti-6Al-4V (recozido)	Ti-13Nb-13Zr	
		Temperado em água/envelhecido	50-70% Trabalhado a frio
Limite de Resistência (MPa)	985	1030	1050-1100
Limite de Escoamento (MPa)	860	900	950-1050
Módulo de elasticidade (GPa)	115	79	45-50
Alongamento (%)	12	15	10-15

**Observação:** O módulo de elasticidade do osso é 17 a 35 GPa.

A FIGURA 5, mostra o diagrama de fases estimado do sistema Ti-Nb-Zr para 13% em peso de Zr. Observa-se que a temperatura de equilíbrio (i.e., resfriamento lento no forno) da transição  $\beta \rightarrow \alpha$  é de 735°C para a liga Ti-13Nb-

13Zr. Para condições de resfriamento mais rápida, ao ar, a temperatura de transição decresce para 575°C. Quando o resfriamento é ainda mais rápido, em água, ocorre a transformação  $\beta \rightarrow \alpha$  que se inicia em 550°C ( $M_i$ ) e termina em 485°C ( $M_f$ ), ficando mais próximas uma da outra, ocorrendo a transformação de Ti- $\beta$  para a estrutura não estabilizada  $\alpha'$  martensítica (hcp) (Davidson et al., 1994).



**Figura 5** – Diagrama de fases estimado do Nb-Ti para 13% em peso de Zr a partir do diagrama de fases ternário Ti-Nb-Zr (Davidson et al., 1994).

Os resultados apresentados na literatura mostram que a microestrutura da liga Ti-13Nb-13Zr resfriada em água é martensítica  $\alpha'$  (hcp). A liga tratada termicamente (temperada + envelhecida) é martensítica  $\alpha'$  (hcp) com uma fina dispersão de precipitados  $\beta$ . O tratamento de envelhecimento tende a aumentar desnecessariamente a forma acicular  $\alpha'$  não alterando o tamanho de grão  $\beta$ . Os precipitados  $\beta$  endurecem o material por dispersão (Wang, 1996).

Normalmente o tratamento de envelhecimento resulta na conversão da martensita  $\alpha'$  (hcp) em uma mistura  $\alpha+\beta$  para ligas Ti- $\beta$  (ligas  $\beta$ -estável e  $\beta$ -

metaestável) (Duerig and Williams, 1980). Mas como a fase  $\alpha$  é também hcp não é possível diferenciá-la da  $\alpha'$ . Porém, é possível que a fase  $\alpha$  precipite durante o envelhecimento sendo, também, responsável pelo endurecimento da liga por dispersão juntamente com a fase  $\beta$ . Ambas as microestruturas martensíticas da liga, estabilizada e não estabilizada, têm forma acicular. A transformação martensítica de  $\beta$  para  $\alpha'$  causa tensões internas que são, em parte, acomodadas pelo processo de maclação. Embora os metais hcp apresentem menor possibilidade de deslizamento, estes são suficientes para uma considerável acomodação da tensão. Ainda assim, a maclação é um fenômeno comum nestes metais (Davidson et al., 1994). A presença da martensita na liga Ti-13Nb-13Zr indica que ela é semelhante à uma liga  $\alpha$ - $\beta$  ao invés de próximo- $\beta$  (Wang, 1996).

A liga Ti-13Nb-13Zr, na condição envelhecida, apresenta maior limite de resistência, menor módulo elástico e maior tenacidade que a liga Ti-6Al-4V recozida (Wang, 1996).

## 2.4 - Tecido Ósseo\*

O osso é um tecido de sustentação altamente especializado, o qual é caracterizado por sua rigidez e dureza. Suas quatro funções principais são:

---

\*Todas as informações conceituais foram retiradas da referência Stevens e Lowe (1983).

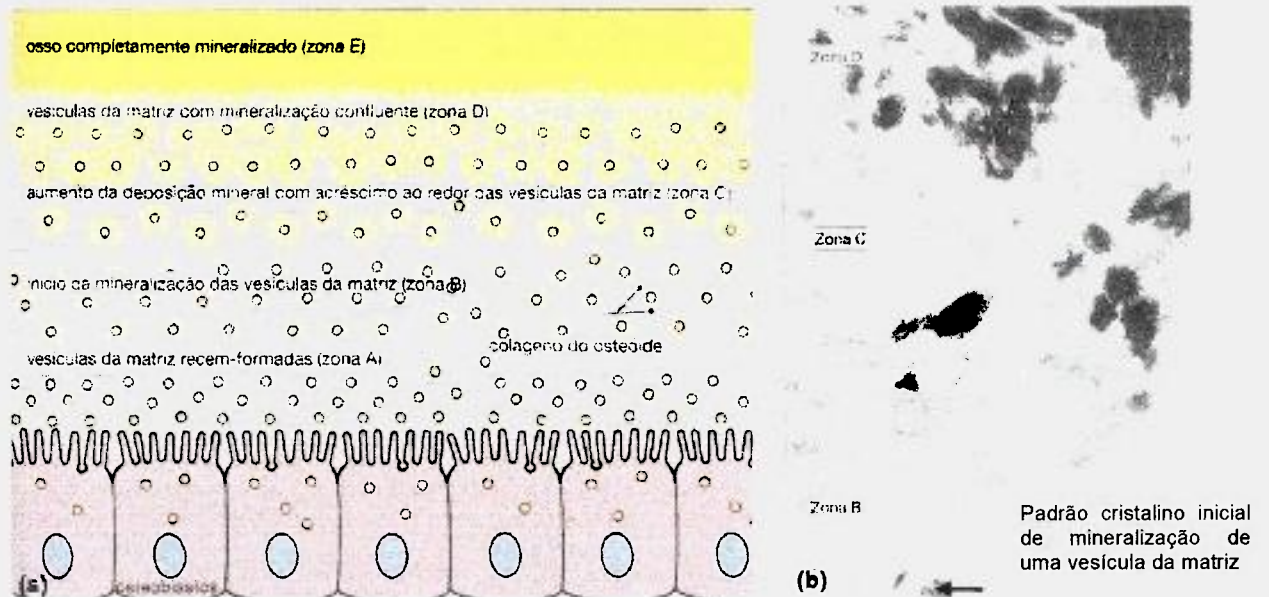
- proporcionar apoio mecânico ( por exemplo, as costelas);
- permitir a locomoção (os ossos longos);
- proteger (crânio);
- atuar como reservatório metabólico dos sais minerais.

O osso é composto por:

- células de sustentação (osteoblastos e osteócitos);
- uma matriz não mineralizada de colágeno e glicosaminoglicanas (osteóide);
- sais minerais inorgânicos depositados na matriz;
- células remodeladoras (osteoclastos).

Os osteoblastos e osteócitos secretam e nutrem os osteóides, no qual os sais minerais inorgânicos são depositados para torná-lo rígido e duro. Os osteoclastos remodelam constantemente o osso depositado (isto é, o osteóide mineralizado).

Os osteoclastos produzem vesículas da matriz as quais são arredondadas e envolvidas por membranas derivadas da membrana celular. Durante a formação do osteóide, elas brotam do osteoblasto para a matriz e formam o centro de precipitação inicial de hidroxiapatita. A FIGURA 6 mostra esquematicamente os eventos que se acredita ocorrerem no osteóide recém-formado **(a)** comparados àqueles observados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) da deposição mineral de uma zona de osteóide recém-formado de osso fetal **(b)**.



**Figura 6 – a)** Esquema das diferentes etapas de mineralização do osteóide recém-formado. **b)** Micrografia eletrônica de varredura (MEV) mostrando o início da deposição mineral em uma zona de osteóide recentemente formado de osso fetal (Stevens and James, 1995).

O osso é um tecido dinâmico, sendo formado e destruído continuamente sob o controle de fatores hormonais e físicos. Esta atividade constante permite o processo de remodelação (isto é, modificação da arquitetura óssea para atender às forças físicas de tensão).

A renovação do osso é normalmente baixa em adultos, mas em bebês e crianças é alta, para permitir o crescimento e remodelação ativa, atendendo às novas demandas, por exemplo quando a criança começa a andar.

No adulto, a renovação do osso pode aumentar a partir de seu nível basal normal para atender a qualquer aumento da demanda, por exemplo para reparar uma fratura. Além disso a renovação óssea pode ser causada por processos patológicos e pode levar à uma enfermidade óssea.

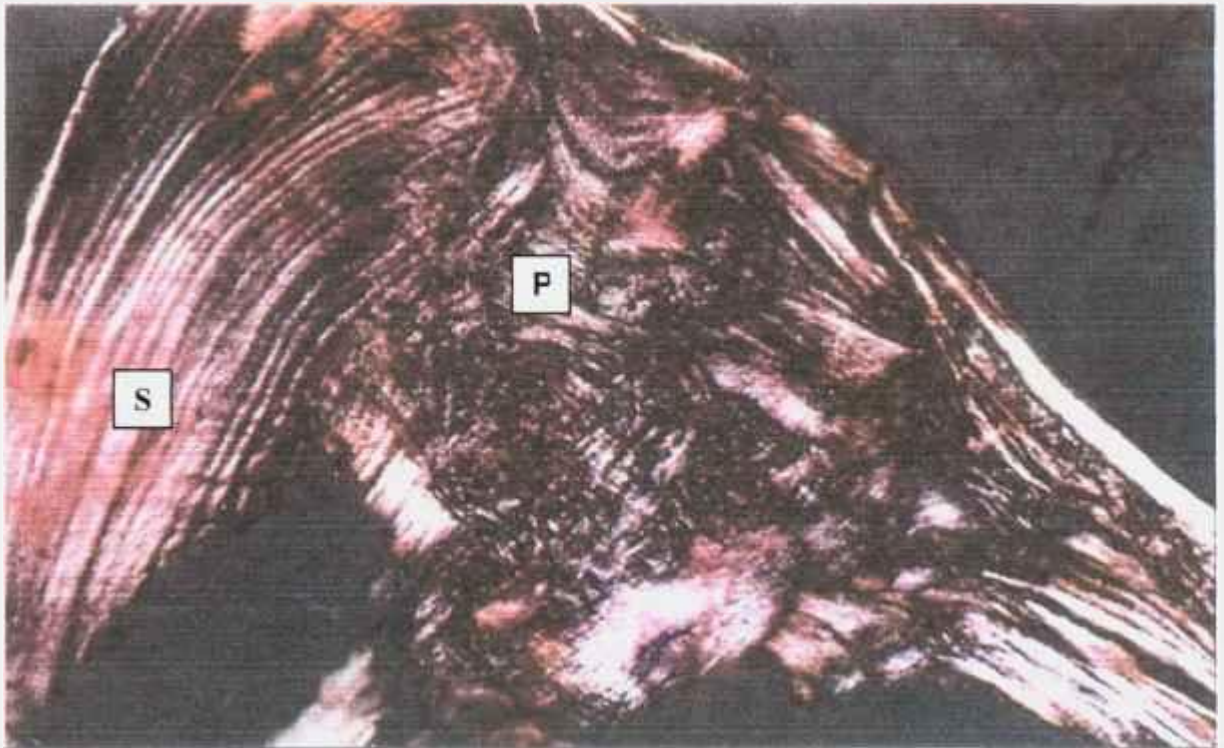
O osteóide é um tecido de sustentação contendo colágeno do tipo I imerso em um gel de glicosaminoglicanas com glicoproteínas específicas (por exemplo osteocalcina), a qual se liga fortemente a cálcio. A deposição de sais minerais no osteóide confere ao osso sua rigidez e força mecânica características.

Dois tipos de tecido ósseo podem ser identificados de acordo com o padrão de colágeno que forma o osteóide.

- O osso primário ou ondulado caracteriza-se pela organização irregular das fibras de colágeno, sendo mecanicamente mais fraco.
- O osso secundário ou lamelar caracteriza-se pela organização regular das fibras colágenas, sendo mecanicamente mais fortes.

O osso primário ou ondulado é produzido quando os osteoblastos produzem osteóides rapidamente; as fibras colágenas são depositadas em um padrão irregular e entrelaçado. O osso primário é gradualmente substituído por remodelação e deposição de osso secundário mais resistente. A FIGURA 7 apresenta o osso em processo de formação onde nota-se o arranjo irregular das

fibras colágenas no osso primário e a organização paralela regular no osso secundário (Stevens and James, 1995).

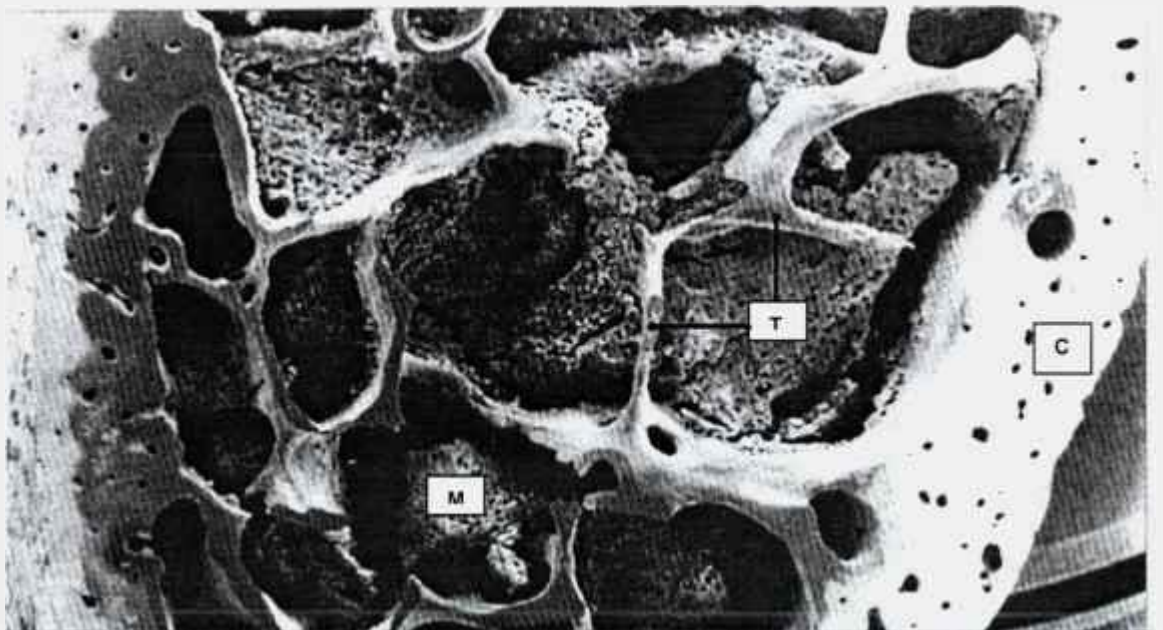


**Figura 7** – Micrografia de luz polarizada do osso em processo de reparação mostrando o osso primário recentemente formado (**P**) no centro e o osso secundário original (**S**) (Stevens and James, 1995).

Quanto à sua arquitetura a maioria dos ossos possui uma estrutura básica composta por:

- uma zona cortical ou compacta externa;
- uma zona trabecular ou esponjosa.

A FIGURA 8 mostra a arquitetura do osso (cortical e trabecular). O osso cortical (C) forma um envoltório rígido externo, o qual resiste à deformação, enquanto a rede trabecular (T) interna confere força atuando como sistema complexo de vigas internas. Os espaços entre a rede trabecular são ocupados por medula (M) óssea.



**Figura 8** – Micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrando a arquitetura do osso – cortical (C) e trabecular (T) (Stevens and James, 1995).

Nos ossos com função preponderante de sustentação de peso, o padrão trabecular é organizado de maneira a providenciar a resistência máxima às tensões físicas às quais o osso está normalmente submetido.

O osso possui características visco-elásticas, conseqüentemente, as propriedades mecânicas são fortemente relacionadas com a taxa de aplicação da

carga. O osso é altamente sensível à velocidade de aplicação da carga, podendo fraturar se esta for elevada. Por outro lado, o osso tem características de ser auto-reparável, pelo fato de ser um tecido vivo (Homsy, 1973). As tensões nos ossos, medidas em ensaios mecânicos “*in vitro*”, não podem ser transferidas para a clínica, pois elas são atenuadas ou reforçadas pela ação dos músculos. As tensões nos ossos vivos não são facilmente medidas, pois o uso de extensômetros necessita de adesivos que pode causar dano tecidual, e assim, provavelmente alterando o campo de tensões do local (Schroeder et al., 1994).

Na TABELA 4 são apresentados alguns dados referentes às propriedades mecânicas do osso cortical (Lereini, 1988) e (Zavaglia, 1993).

**Tabela 4** - Propriedades mecânicas do osso cortical

MODO DE CARREGAMENTO	RESISTÊNCIA MECÂNICA (MPa)	MÓDULO DE ELASTICIDADE(GPa)
<b>Longitudinal</b>		
Tração	133	17,0
Compressão	193	11,5
Cisalhamento	68	3,3
<b>Transversal</b>		
Tração	51	
Compressão	133	

A resistência à compressão do osso do fêmur é aproximadamente 140 MPa que é inferior aos valores limites de resistência da maioria dos metais empregados em implantes.

A força provocada em uma prótese coxofemural, quando uma pessoa fica na ponta do pé, é de aproximadamente 250kgf (1kgf = 9,806 N) (Black, 1988). Na área da odontologia, como mencionado anteriormente, existem variações individuais a serem consideradas, por isso considera-se um valor médio da força da mordida em 77 kgf (Phillips,1978) e (Okeson, 1992).

Considerando as condições descritas anteriormente a que um material de implante ortopédico e dental estaria sujeito, tanto com relação ao esforço cíclico quanto ao meio agressivo, faz-se necessário a escolha do material com características de resistência às tensões mecânicas, à corrosão e à fadiga, sem as quais poderia ocorrer a fratura do material (Black, 1988).

## **2.5 – Avaliação biológica**

A Organização Internacional de Padronização, ou *Internacional Organization for Standardization* (ISO-TC 194-WG1, 1990), é a entidade responsável por diversas padronizações e normas técnicas a serem seguidas mundialmente. Essa é a organização responsável pela elaboração do guia de avaliação do comportamento biológico de dispositivos médicos e odontológicos (ISO 10993-1, 1993).

De acordo com a norma ISO 10993-1, devido à diversidade dos dispositivos médicos é notório que nem todos os testes identificados possam ser necessários ou práticos para um dado dispositivo, no entanto dois testes são indicados para a maioria dos casos: o teste "*in vitro*" e o teste "*in vivo*". O que é indispensável é que cada dispositivo seja testado considerando seus próprios méritos levando à necessidade de outros testes não relacionados na norma (Black, 1992).

O teste de citotoxicidade "*in vitro*" é classificado na ISO 10993-1 como um teste de avaliação inicial que utiliza técnicas de cultura de células. É recomendado para qualquer tipo de dispositivo e abrange quase todas as áreas de utilização dos dispositivos médicos. Esse teste é específico, de controle simples e geralmente preciso, além de ser rápido e sensível à toxidez do material pode ser facilmente realizado em laboratório (Okazaki et al., 1998); (Leitão et al., 1998) e (Oreffo and Triffitt, 1999). A ISO 10993-5 (1993) é a norma que determina os procedimentos metodológicos para sua realização. Tal procedimento consiste basicamente em colocar o material, direta ou indiretamente em contato com uma cultura de células de mamíferos e verificar a viabilidade celular para a incorporação de corantes vitais ou pela inibição da formação de colônias.

A realização do teste "*in vitro*" não elimina a necessidade de se fazer outros estudos, no entanto, é definitivamente uma alternativa importante na seleção inicial entre materiais diferentes para aplicações médicas.

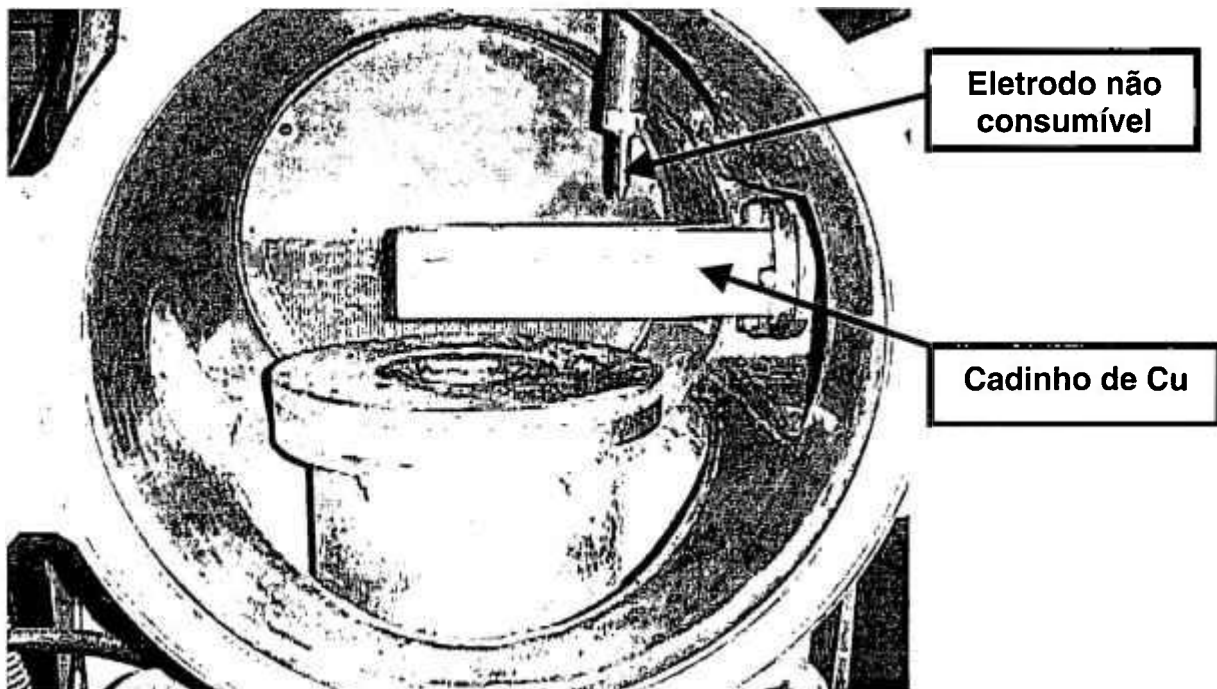
O outro teste importante é o implante, método "*in vivo*" para avaliação inicial que determina efeitos locais do implante utilizando animais (ratos, cães, coelhos, etc.) como cobaias (Goodman et al., 1993). É recomendado quando o material estudado não apresenta indícios de toxicidade e encontra-se regulamentado pela norma ISO 10993-6 (1993). Os testes "*in vivo*" podem ser de curta (1-12 semanas) ou longa duração (12-78 semanas) e as localizações dos implantes podem ser no tecido subcutâneo, muscular ou ósseo.

Após a aprovação do material nos testes "*in vitro*" e "*in vivo*", antes da aplicação em seres humanos, a próxima etapa seria um ensaio de biofuncionalidade com a confecção um implante na forma final desejada e sua aplicação em um animal de maior porte (cão, ovelha, etc.) para avaliação de suas características biomecânicas.

### 3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1 - Obtenção da liga Ti-13Nb-13Zr

A liga Ti-13Nb-13Zr foi produzida em forno a arco, com eletrodo não consumível, em atmosfera inerte (gás argônio). A FIGURA 9 mostra em detalhe a câmara de fusão do forno e o cadinho de cobre que é refrigerado a água.



**Figura 9** - Vista da câmara de fusão do forno a arco com eletrodo não consumível e cadinho refrigerado a água.

Como material de partida foram utilizadas chapas de Ti, Nb de alta pureza ( $\geq 99,9\%$ ) e chapas Zr (ligado contendo até 4,5%Hf – conforme fabricante).

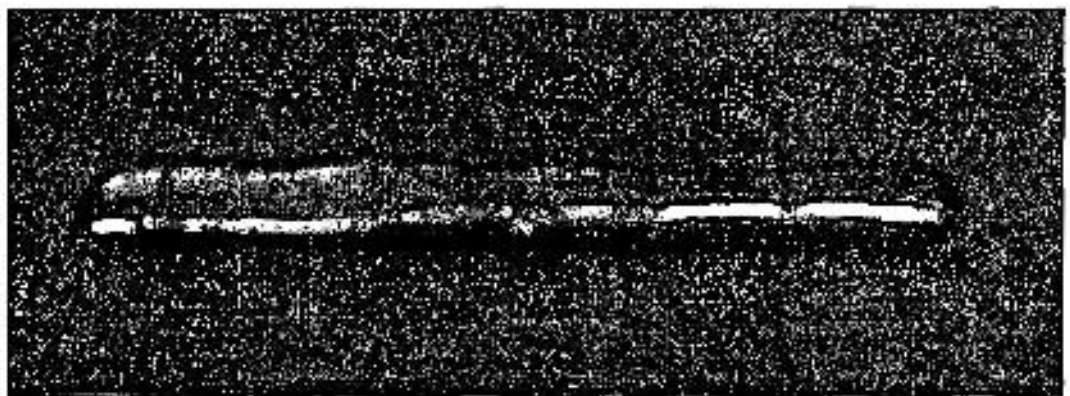
As chapas, de espessura 2-3 mm, foram cortadas, decaídas com solução de 2 ml de HF, 6 ml de HNO<sub>3</sub> e 100 ml de H<sub>2</sub>O ("Kroll"), e posteriormente pesadas, com precisão de 0,05 g, nas proporções adequadas à obtenção de um lingote de aproximadamente 140,0 g, ou seja:

Massa de Ti = 103,60 g

Massa de Nb = 18,20 g

Massa de Zr = 18,20 g

O lingote obtido possui diâmetro da ordem de 15,0 mm e comprimento de 150,0 mm, conforme mostrado na FIGURA 10.



**Figura 10** - Lingote obtido por fusão a arco ( $\phi \approx 15,0$  mm e comprimento de 150,0 mm).

O lingote foi obtido em duas etapas e para cada uma foram necessárias 6-7 fusões para garantir a homogeneidade. A corrente utilizada foi

mantida em, no mínimo, 320 A. Na primeira etapa de fusão utilizou-se todo o Nb e uma quantidade de Ti suficiente para a obtenção de uma liga rica em Ti com aproximadamente Ti-35Nb. Na Segunda etapa de fusão foram acrescentados à liga obtida, Ti-35Nb, o restante do material (Ti e Zr) para a fusão da liga final Ti-13Nb-13Zr . Após a fusão os lingotes foram pesados e não foi observada variação importante entre a massa inicial e final.

### **3.2 – Processamentos térmicos e mecânicos**

#### **3.2.1 – Trabalho a frio: Forjamento rotativo e Trefilação**

Após a fusão em forno a arco o lingote da liga Ti-13Nb-13Zr ( $\phi \approx 15,0\text{mm}$  e comprimento de 150,0 mm) foi decapado em solução ácida de HF e HNO<sub>3</sub> (“Kroll”). Depois de decapado o lingote foi encapsulado a vácuo em tubo de quartzo e posteriormente passou por um tratamento de homogeneização. O tratamento consistiu em introduzir o material em um forno resistivo pré-aquecido a temperatura de 1000°C mantendo-o por 1h e depois resfriando-o em água, rompendo-se o quartzo.

Os lingotes tratados foram forjados em forja rotativa a frio até o diâmetro final de 2,8 mm. Sempre que, durante o forjamento, a redução em área atingiu um valor de aproximadamente 74% foram realizados tratamentos térmicos intermediários (encapsulando-o em quartzo e tratando a 1000°C/1h e resfriando em água). Foram necessários dois tratamentos intermediários antes de obter o diâmetro final de 2,8 mm.

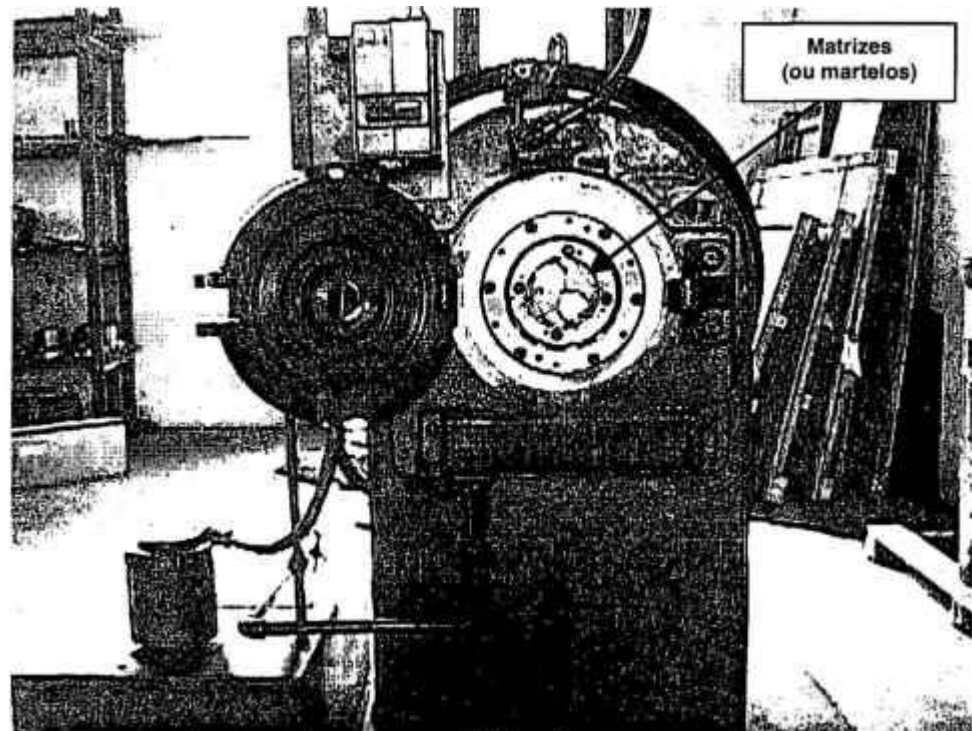
O forjamento rotativo (*swaging*) ocorreu em equipamento FENN modelos 6F (2" até 3/8") e 3F (1/2" até 1/8"), com potência de aproximadamente 30 Cv (Hp) e velocidade de 1700 rotações por minuto (rpm). O forjamento rotativo trabalha com troca de matrizes (ou martelos) a cada passe, sendo que a taxa de deformação ( $\varepsilon$ ), calculada pela equação a seguir, variou entre 16 e 18% por passe.

$$\varepsilon = 2 \left( \ln \frac{\phi_i}{\phi_f} \right) \times 100$$

Onde :  $\phi_i$  - diâmetro inicial da seção transversal do fio

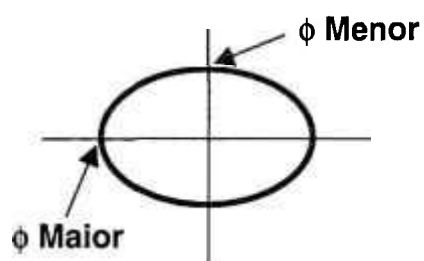
$\phi_f$  - diâmetro final da seção transversal do fio

A FIGURA 11, a seguir, mostra uma das máquinas de forjamento rotativo.

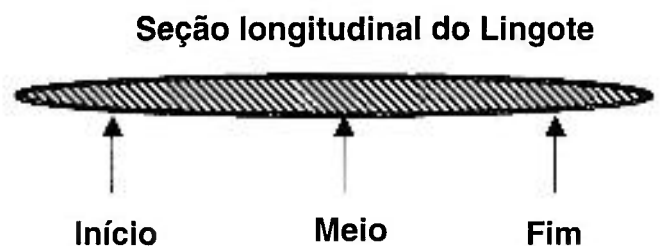


**Figura 11** – Equipamento utilizado no forjamento rotativo a frio FENN modelo 3F.

O trabalho de deformação a frio de um dos lingote encontra-se detalhado na TABELA 5, exemplificando as três etapas do forjamento a frio do material. Como o lingote obtido da liga Ti-13Nb-13Zr possui seção transversal oval irregular foram necessárias medidas dos diâmetros maior e menor durante a deformação a frio, sendo que para cada um foram medidos três pontos distintos no início, no meio e no fim do lingote, como mostrado a seguir:



**Seção transversal do Lingote**



**Seção longitudinal do Lingote**

A coluna do diâmetro médio ( $\phi$  Médio), mostrado na TABELA 5, para a primeira etapa representa a média dos valores médios dos diâmetros maior e menor. Após a primeira etapa de forjamento a seção transversal torna-se circular uniforme com diâmetro de 9,16 mm. A partir de então, na segunda e terceira etapas, a coluna do diâmetro médio ( $\phi$  Médio) representa a média dos três pontos, início, meio e fim, do lingote.

**Tabela 5** – Dados do forjamento rotativo da liga Ti-13Nb-13Zr a partir do diâmetro inicial de 15,00 mm até o final de 2,80 mm.

1ª Etapa (até 74% redução em área)				2ª Etapa (até 74% redução em área)		3ª Etapa (68% redução em área)	
$\phi$ Martelo (mm)	Liga Ti-13Nb-13Zr			$\phi$ Martelo (mm)	Ti-13Nb-13Zr	$\phi$ Martelo (mm)	Ti-13Nb-13Zr
	Média $\phi$ Maior (mm)	Média $\phi$ Menor (mm)	$\phi$ Médio (mm)		$\phi$ Médio (mm)		$\phi$ Médio (mm)
17,00	17,63	12,78	15,20	-	9,16	-	4,95
15,88	16,98	13,00	14,99	7,92	8,63	3,94	4,30
14,65	15,30	13,60	14,45	7,11	7,62	3,56	3,88
13,50	14,35	13,55	13,95	6,35	7,23	3,17	3,46
12,45	13,18	12,87	13,03	5,84	6,45	2,84	3,10
11,43	12,50	11,93	12,22	5,34	5,98	2,54	2,80
10,42	10,98	10,73	10,86	4,83	5,55		
9,53	10,22	10,03	10,13	4,37	4,95		
8,71	9,18	9,13	9,16				

**Observação:** Comprimentos da 1ª etapa: inicial 150,0 mm e final 370,0 mm

Comprimentos da 2ª etapa: inicial 370,0 mm e final 850,0 mm

Comprimentos da 3ª etapa: inicial 850,0 mm e final 1800,0 mm

Parte do material produzido com o diâmetro final de 5,98 mm, com redução em área de 52%, já na segunda etapa do forjamento, foi utilizado para obtenção dos corpos de prova para ensaios de tração. Neste estágio o material foi submetido a três condições diferentes de tratamento térmico para em seguida ser usinado produzindo os corpos de prova para os ensaios de tração visando a caracterização mecânica. Após os ensaios de tração as cabeças dos corpos de prova, de comprimento 30,0 mm e diâmetro de 5,98 mm, foram cortadas para serem utilizadas no teste de citotoxicidade "*in vitro*".

O fio no final da segunda etapa de forjamento, com um diâmetro de 4,95 mm e comprimento de 850,0 mm, foi dividido ao meio para realização do tratamento térmico e continuidade do forjamento até o último martelo disponível. Após o tratamento térmico e forjamento final das duas varas, foi alcançado um diâmetro de 2,8 mm e comprimento de 900,0 mm, deste material foram cortados cilindros com comprimento de 6,0 mm para os testes de biocompatibilidade "*in vivo*".

Com objetivo de continuar reduzindo o diâmetro até aproximadamente 0,5 mm visando caracterizá-lo para aplicações ortodônticas foi necessário continuar a deformação a frio trabalhando com trefilação.

O fio com 2,8 mm de diâmetro foi submetido, após tratamento térmico de homogeneização, ao processo de trefilação empregando-se inicialmente óleo mineral como lubrificante. Tal lubrificante não foi eficiente para permitir trefilação da liga.

Em uma segunda tentativa, utilizando-se técnicas já desenvolvidas no Departamento de Engenharia de Materiais – DEMAR/FAENQUIL na confecção de fios supercondutores (Rodrigues et al., 1995), o material foi envolvido em tubo de cobre eletrolítico, isto é, de alta pureza, e então submetido a trefilação. O planejamento do processo de trefilação foi feito com base na deformação imposta pelas fieiras, que é de 8%, e mantendo-se a redução em área para cada etapa em 74%, o mesmo do forjamento. Após a última fieira da primeira etapa, o fio obtido foi decapado com ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) concentrado, para retirar o cobre da sua superfície e avaliação do acabamento superficial.

### **3.2.2- Tratamentos térmicos**

Todos os tratamentos térmicos foram realizados em forno tubular horizontal, projetado e fabricado para a realização dos tratamentos térmicos a  $1000^\circ\text{C}$  e a  $500^\circ\text{C}$ , com resistência de níquel/cromo de diâmetro de 1 mm, apropriado para trabalhar em temperatura de até  $1100^\circ\text{C}$ , empregando uma corrente de 9,5 A e uma tensão de 380 V (potência de 3600 W). A região de temperatura uniforme do forno mede 1,10 m. A temperatura foi controlada por um controlador do tipo EWTQ 905, operando no modo ON/OFF, ligado a um termopar Cromel/Alumel, Tipo K. O material para tratamento foi encapsulado, à vácuo, em tubo de quartzo.

Foram utilizadas três condições diferentes de tratamento, duas das três condições diferenciaram apenas quanto ao resfriamento. Ambas consistiram em introduzir o material encapsulado na região de temperatura uniforme do forno previamente aquecida e mantê-lo à temperatura de 1000°C por 1h. Um dos resfriamentos foi rápido em água, com o rompimento do quartzo, e o outro lento deixando resfriar ao ar.

O terceiro tratamento consistiu em tomar o material tratado a 1000°C/1h e resfriado em água, encapsular novamente em quartzo e introduzir na região de temperatura uniforme do forno pré-aquecido a 500°C, manter por 6h e deixar esfriar ao ar (tratamento de envelhecimento).

### **3.3– Caracterização microestrutural e mecânica da liga Ti-13Nb-13Zr**

Para caracterizar a microestrutura da liga Ti-13Nb-13Zr utilizou-se técnicas de microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), difração de elétrons em área selecionada (SAD) e difração de raios X (RDX).

A caracterização mecânica foi feita por meio de ensaios de tração em temperatura ambiente, de acordo com o estabelecido na norma ASTM E8. Como dado complementar foram feitos, também, testes de microdureza.

### 3.3.1 – Caracterização microestrutural da liga Ti-13Nb-13Zr

Para caracterização microestrutural da liga foram utilizadas diversas técnicas empregando-se os seguintes equipamentos:

- microcopia óptica: microscópio marca Leica DMIRM com Câmara digital SCC-131 acoplada e programa de aquisição de imagem Leica Qwin,

- microcopia eletrônica de varredura (MEV) : microscópio eletrônico marca LEO, modelo 1450VP – com EDS (Energy-Dispersive Spectrometer) Oxford Link ISIS,

- microcopia eletrônica de transmissão (MET) e difração de elétrons em área selecionada (SAD) : microscópio da marca JEOL, modelo JEM 200C,

- e difração de raios X obtidos num difratômetro DEBYEFLEX 1001 JSO, com passo angular de  $0,05^\circ$ , tempo de contagem de 1 segundo e radiação Cu-K $\alpha$ .

Para as análises de microscopia óptica e de varredura as amostras foram preparadas utilizando-se técnicas convencionais de preparação de amostras para análise metalográfica, compreendendo as etapas de corte, embutimento a frio, lixamento e polimento, e ataque químico com a solução “kroll”

modificada (3ml HF + 8ml HNO<sub>3</sub> + 100ml H<sub>2</sub>O) por atritamento (“*swabbing*”) para revelar a microestrutura (Davidson et al., 1994).

Para análise por difração de raios X as amostras foram embutidas a frio em resina epoxi (Serifix da STRUERS) e lixadas com lixas de carbetto de silício até a granulometria 600µm. As amostras analisadas representavam as condições: como fundida, tratada a 1000°C/1h resfriadas em água (rapidamente) e ao ar (lentamente), e envelhecida (500°C/6h). Para a condição como fundida foi retirada uma amostra da seção transversal do lingote cuja formato é oval com diâmetros maior de 17,63 mm e menor de 12,73 mm. Para as demais condições as amostras foram retiradas, também na direção transversal, com diâmetro de 5,9mm.

As amostras para MET foram preparadas seguindo técnicas convencionais para obtenção de amostras delgadas. Foram cortados discos de aproximadamente 100 µm de espessura, do fio forjado com diâmetro de 2,8 mm, empregando-se cortadeira de precisão com disco adiamantado. O afinamento foi do tipo eletrolítico com duplo jato, utilizando-se como eletrólito 5% perclórico em ácido acético 95%. A densidade de corrente empregada foi de 25 mA/mm<sup>2</sup> e a temperatura de aproximadamente 15°C. Foram analisadas amostras nas condições: tratada a 1000°C/1h resfriadas em água (rapidamente) e ao ar (lentamente), e envelhecida (500°C/6h)

Para melhor identificar as fases existentes foi realizada também a difração de elétrons em área selecionada (SAD) que permite identificar fases

minoritárias. Do padrão de difração obtido, foram medidas as distâncias dos pontos mais próximos em relação ao feixe transmitido e os ângulos formados pelas direções que contêm esses pontos.

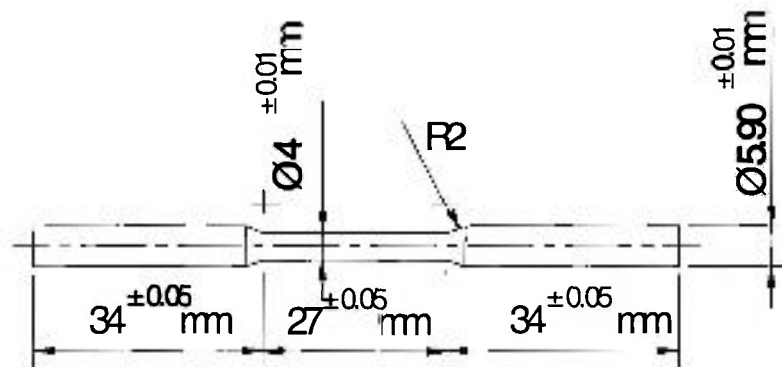
A identificação das estruturas cristalinas e orientações cristalográficas das fases presentes nas amostras foi realizada com o auxílio do programa DIFPAT. Este programa foi desenvolvido por Graham Carpenter e Laris Benkins no "Metalurgical Laboratory-CANMET"(Ottawa-Canada). Introduzindo, no programa DIFPAT, as informações sobre a estrutura cristalina esperada do material, e as distâncias dos pontos com os respectivos ângulos formados pelas direções que contêm os pontos, o programa determina a direção do eixo zonal e indexa os pontos do padrão de difração obtido.

### **3.3.2 – Propriedades mecânicas**

As propriedades mecânicas estudadas por meio de ensaio de tração, de acordo com o estabelecido na norma ASTM E8, foram limite de resistência, o limite de escoamento (0,2% off set), módulo de elasticidade e alongamento.

Os ensaios de tração foram realizados em uma máquina de ensaios mecânicos com atuador servo-hidráulico da MTS, modelo 810-23M, com capacidade de 250 kN. As medidas de força foram feitas com uma célula de

carga MTS modelo 661.22D-01 de 250 kN de capacidade operando na faixa de calibração de 10%, com erro de 0,5% do fundo de escala. Os corpos de prova foram produzidos de acordo com a norma E8 ASTM, conforme mostra a FIGURA 12.



**Figura 12** – Desenho esquemático dos corpos de prova para ensaio de tração.

Durante os ensaios foi utilizado extensômetro para aquisição dos dados de deformação, modelo MTS 634.12F21 com limites de deformação de -10 a +50%, possuindo especificação adequada para a temperatura ambiente.

Para complementação das características mecânicas da liga foram realizadas medidas de microdureza. Foi utilizado o equipamento da marca BUEHLER modelo MICROMET 2004. As amostras na condição como fundida, tratada a 1000°C/1h resfriada em água, tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar e tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida a 500°C/6h foram preparadas através de técnicas convencionais de preparação de amostras para análise metalográfica (corte, embutimento, lixamento e polimento até a grama 1000), antes do ensaio de microdureza. Foram obtidos valores de microdureza Vickers por meio da aplicação de uma carga de 200 gf durante um tempo de indentação de 15 s e a distância entre os pontos foi de aproximadamente 300 µm.

### **3.4 – Testes de avaliação biológica**

Os testes de avaliação biológica, “*in vitro*” e “*in vivo*”, foram realizados segundo as normas de procedimentos metodológicos ISO 10993-5 e ISO 10993-6 (1993) respectivamente, conforme será apresentado a seguir.

#### **3.4.1 – Avaliação de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr**

No teste de citotoxicidade foram utilizadas células do ovário de hamsters chineses K<sub>1</sub> (CHO – Chinese Hamster Ovary) obtidas do banco ATCC (American Type Culture Collection). O potencial de citotoxicidade pode ser determinado quantitativamente pela citoletalidade usando ensaio de supressão de colônias que é expresso como índice de citotoxicidade (IC<sub>50%</sub>) (Nakamura et al., 1989), (Rogerio et al. , 1998) e (Sepulveda et al., 2000).

Os testes foram realizados em placas de Petri (15x60 mm) onde as soluções obtidas a partir da diluição dos extratos dos diversos materiais ficavam em contato com a cultura de células do ovário de hamsters chineses (CHO K<sub>1</sub>).

O titânio foi usado como controle negativo (não citotóxico), enquanto uma solução de fenol 0,02% foi utilizada como controle positivo (citotóxico) . O material da liga Ti-13Nb-13Zr utilizado para teste foi aquele das cabeças dos corpos de prova dos ensaios de tração, isto é cilindros com diâmetro de 5,9 mm e comprimento 30,0 mm, correspondendo a uma área superficial de 5,6 mm<sup>2</sup>.

#### **3.4.1.1 – Preparação dos extratos**

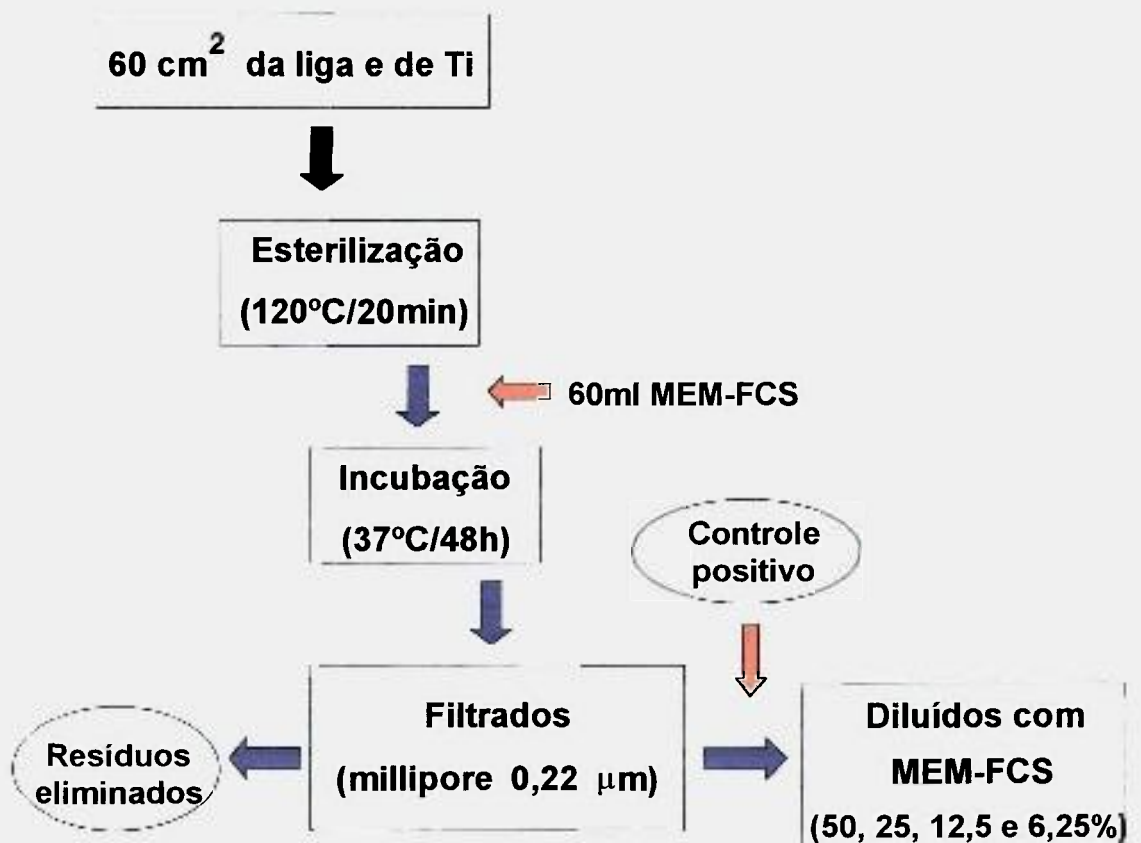
A etapa inicial da obtenção dos extratos consistiu em tomar cerca de 60 cm<sup>2</sup> da liga Ti-13Nb-13Zr ( as cabeças dos corpos de prova dos ensaios de tração de comprimento 30,0 mm e diâmetro de 5,9 mm) e 60 cm<sup>2</sup> de Ti (em forma de chapa), colocar em frascos de vidros que posteriormente foram esterilizados em autoclave à 120°C por 20 minutos.

Os extratos foram obtidos colocando a liga e o Ti em contato com o meio de cultura. Portanto, 60 ml do meio de cultura MEM-FCS (MEM - Minimum Eagle Medium - contendo 10% de soro fetal bovino e 1% de solução de penicilina e estreptomicina) foram adicionados em cada um dos frascos citados. Os frascos

foram agitados e incubados por 48 h em estufa a 37°C. Após este período os sobrenadantes foram filtrados utilizando membrana millipore (poro de 0,22  $\mu\text{m}$ ). Os resíduos foram eliminados e, a partir dos filtrados foram feitas diluições seriadas com MEM-FCS, resultando em concentrações de 50, 25, 12.5 e 6.25%.

Para o controle positivo, a solução de fenol 0,02%, foi apenas diluída com MEM-FCS obtendo-se as mesmas concentrações dos filtrados anteriores.

O fluxograma da FIGURA 13 mostra a seqüência das etapas seguidas para obtenção dos extratos da liga Ti-13Nb-13Zr, do Ti (controle negativo) e da solução fenol 0,02% (controle positivo).



**Figura 13** – Fluxograma das etapas de obtenção dos extratos da liga Ti-13Nb-13Zr, do Ti e solução fenol 0,02% para teste de biocompatibilidade “*in vitro*”.

### 3.4.1.2 – Preparação das placas de cultura

Enquanto os extratos estavam sendo preparados, as células de CHO K<sub>1</sub> (CCL-61-ATCC)\* foram cultivadas em garrafas de plástico, em meio de cultura MEM-FSC a 37°C, em atmosfera úmida com 5% de CO<sub>2</sub>, até a obtenção de monocamadas de células com crescimento confluyente.

O meio de cultura foi retirado e as células foram lavadas com uma solução tampão de fosfato salina sem cálcio e magnésio (PBS-CMF). Foi feita a tripsinização (solução de tripsina 0,25%) para o desprendimento das células das garrafas.

Após a tripsinização, as células foram transferidas para um tubo de centrífuga com tampa e lavadas duas vezes com PBS-CMF. Depois as células foram suspensas novamente em meio de cultura MEM-FSC e acertadas para conter 100 células/ml. A partir dessa suspensão foram distribuídos 2ml em cada placa de cultura e incubadas por 5 h a 37°C para a adesão das células.

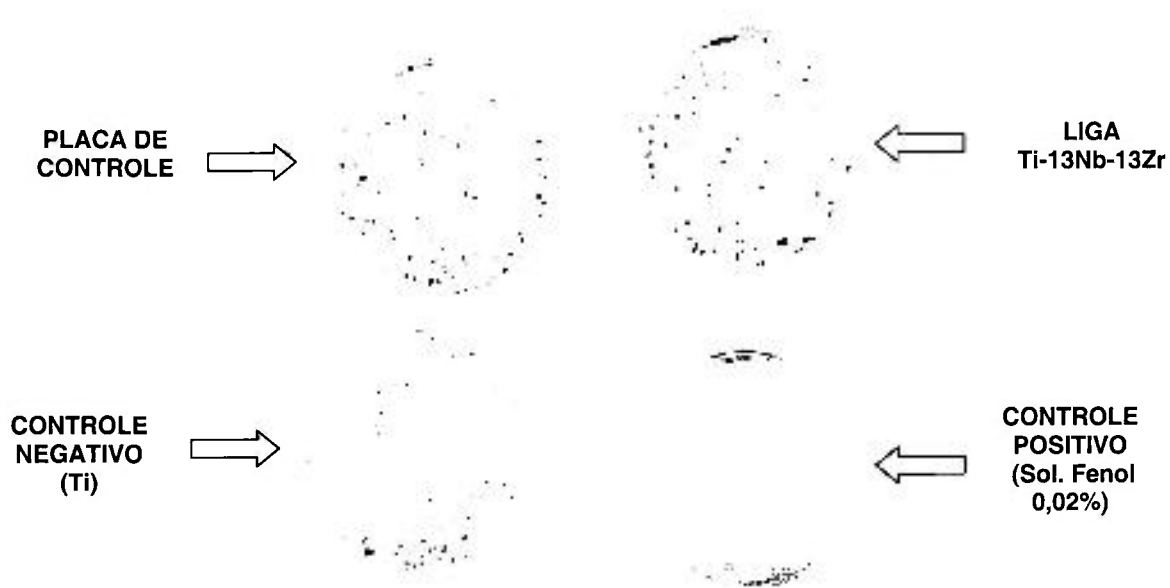
Após a adesão das células nas placas, o meio de cultura foi removido

---

\* AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION: Catalogue of Cell Line & Hydomas. Tth ed. Rockville, 1992.

por sucção a vácuo, restando apenas as células aderidas no fundo de cada placa. Foram adicionados a cada uma dessas placas 5ml de cada diluição dos extratos, em triplicata.

Decorrido sete dias de incubação das placas a 37°C, em atmosfera úmida de 5% CO<sub>2</sub>, o meio de cultura foi removido e as colônias formadas foram fixadas com solução de formol 10% em salina 0,9% , e coradas com corante Giemsa, como pode ser observado na FIGURA 14, onde a placa de controle refere-se as colônias das células de CHO K<sub>1</sub> (CCL-61-ATCC) cultivadas. A contagem das colônias foi realizada com auxílio de um contador de colônias.



**Figura 14** – Placas de Petri do teste de citotoxicidade contendo as colônias coradas com Giemsa para o controle CHO - K<sub>1</sub> e para os extratos.

A FIGURA 15 mostra o fluxograma das etapas de preparação das placas de cultura.

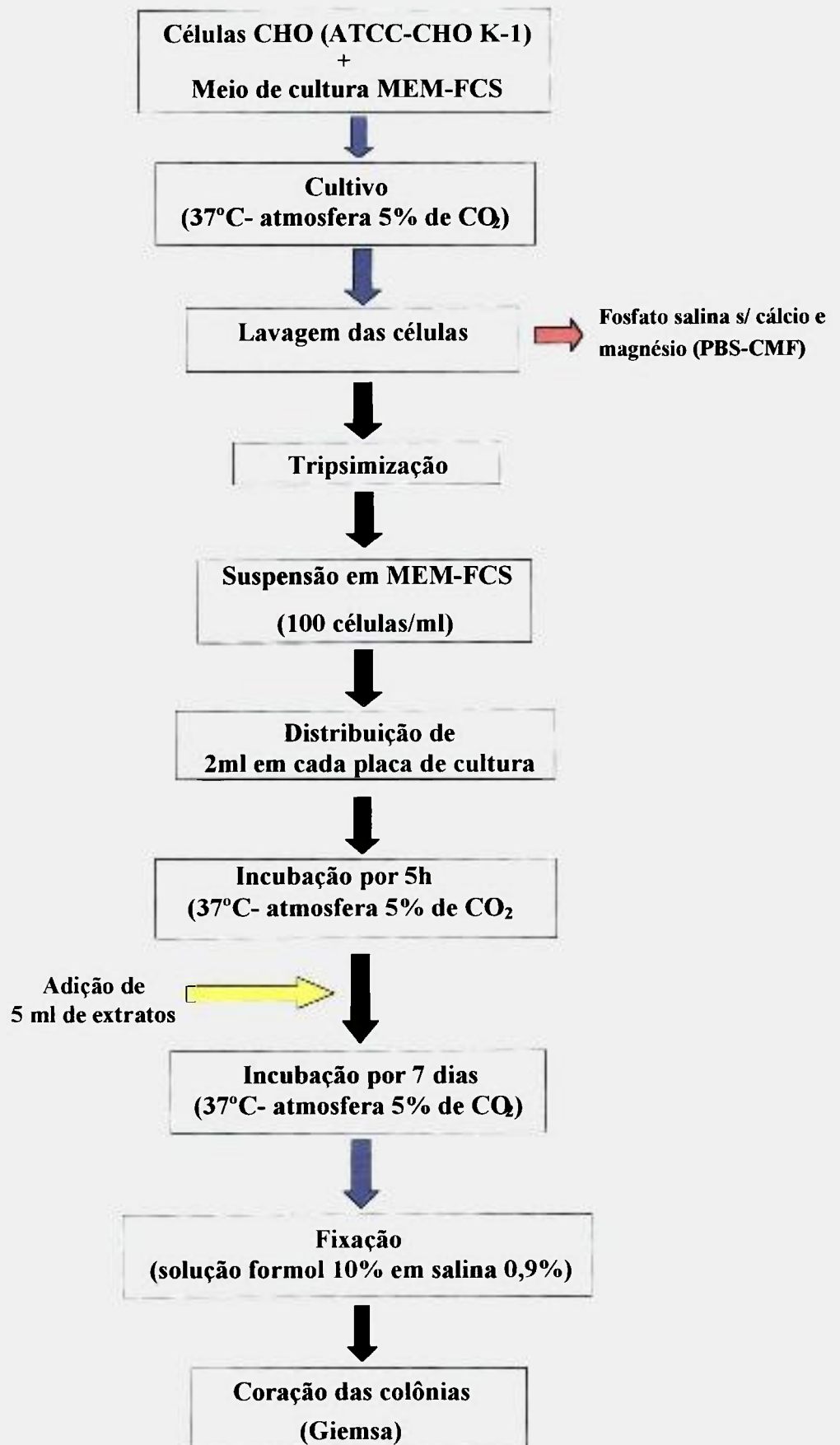


Figura 15 – Fluxograma das etapas de preparação das placas de cultura.

### **3.4.2 - Teste de biocompatibilidade “*in vivo*”**

Considerando o objetivo do desenvolvimento da liga Ti-13Nb-13Zr para implante o teste “*in vivo*” foi realizado utilizando-se coelhos como animais de experimentação. O tempo médio de permanência do implante foi de 8 semanas, conforme regulamentado pela norma ISO 10993-6 (1993), seguindo o padrão utilizado pelo Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da USP.

No total foram utilizados seis coelhos que receberam dois implantes em cada tíbia, totalizando 24 implantes. Não houve nenhuma perda por infecção causada pelo implante.

Os 24 implantes foram inseridos sob condição de anestesia geral e antibiótico profilático, nas tíbias dos 6 coelhos, cuja idade era de aproximadamente 1 ano.

Após um período de cicatrização de 8 semanas os animais foram sacrificados e parte do osso da tíbia, contendo o implante foram preparados para

análise histológica por meio de microscopia de fluorescência com estimulação ultravioleta (König et al., 1998).

#### **3.4.2.1 - Preparação dos corpos de prova**

Após obtidos os fios de 2,8 mm de diâmetro, por forjamento rotativo, e de 1,8 mm de diâmetro, por trefilação, eles foram cortados em cilindros de 6,0 mm de comprimento produzindo 12 corpos de prova, de cada tipo, para o teste “in vivo”.

Após o corte, os cilindros foram decapados em solução ácida (HF e HNO<sub>3</sub>), em seguida foram colocados em uma cuba de ultra-som com acetona por aproximadamente 20 minutos, e enxaguados com água corrente.

Das técnicas de esterilização de dispositivos biomédicos, como esterilização seca ou a vapor, por produtos químicos (óxido de etileno) e por radiação  $\gamma$  (gama) (Black,1992) e (Zavaglia, 1993), optou-se por empregar a radiação  $\gamma$ .

A esterilização  $\gamma$  acaba sendo a alternativa mais segura por permitir que os dispositivos biomédicos possam ser manipulados em um meio não estéril

e depois serem acomodados em recipientes como papelão, vidro ou plástico, antes de serem esterilizados por este método. Desde que, cada dispositivo permaneça selado em sua embalagem após esterilização não são necessários cuidados especiais no manuseio até a cirurgia. Normalmente a dose utilizada está em torno de 104 Gy (Gray) e pode variar dependendo das características do material e do equipamento (Cuda et al., 1989) e (Mariano e Campos, 1992).

Os 24 cilindros da liga produzida foram selados a vácuo, em plástico, individualmente e encaminhados para esterilização por radiação gama na Supervisão de Radiação (IPEN). Cada cilindro selado, devidamente esterilizado, só foi aberto durante a cirurgia na hora da inserção.

#### **3.4.2.2 - Procedimento cirúrgico**

Após quarentena de observação e adaptação ao novo meio ambiente, os animais receberam medicações pré-operatórias profiláticas, medicação anti-sarna e antibióticos, de modo que fosse garantida a integridade de sua saúde.

As cirurgias ocorreram de forma organizada, um coelho por vez, e quatro implantes inseridos, dois em cada tíbia, sendo um no sentido longitudinal e outro no sentido transversal em relação ao longo eixo da tíbia.

Cada coelho foi mantido sedado por um período entre 90 e 120 minutos por meio da seguinte medicação anestésica:

- 5 mg/kg – cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1, 3-tiazina: sedativo, anestésico e relaxante muscular (Rumpum – Bayer do Brasil);
- 0,75 mg/kg – acepromazina: neuropilético e tranquilizante ( Acepran 1% - Univet); e
- 35 mg/kg – cloridrato de ketamina: anestésico geral (Ketamina-Agner®).

Foi utilizado como complemento anestésico local injetável, Xilocaína a 2% contendo vaso constritor, com a finalidade de diminuir o sangramento no local a ser operado. As etapas do protocolo cirúrgico são:

1 – Assepsia e anti-sepsia do local a ser operado, com álcool iodado e tricotomia de toda a região (FIGURA 16).

2 – Anestesia local com Xilocaína 2%, com vaso constritor.

3 – Incisão da pele à distância do local de inserção, fásia, e periósteo da região (FIGURA 17).

4 – Deslocamento do retalho com preservação do tecido periostal .

5 – Trepanação da cortical com uma broca esférica.

6 – Perfuração do osso com uma broca helicoidal de 2 mm de diâmetro (FIGURA 18).

7 – Preparo do leito longitudinal após trepanação (FIGURA 19).

8 – Inserção longitudinal e transversal (FIGURA 20).

9 – Sutura da fáscia e periósteo com fio de mononylon e da pele com categute (Jhonson) (FIGURA 21).

Durante a perfuração do osso, com as brocas, a região foi refrigerada com solução salina evitando superaquecimento do tecido ósseo.

Durante os seis primeiros dias após a cirurgia foi acrescentado analgésico (dipirona gotas) à água dos animais. No sétimo dia receberam a segunda dose de antibiótico seguindo as mesmas dosagens anteriores. Dosagens de 1.200.000 unidades de Benzetacil i.m. (intra-muscular).

Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais, com alimentação a base de ração (USP campus Pirassununga) e água.

Os experimentos foram realizados de acordo com a Comissão de Ética em Experimentação com Animais (CEEA) recebendo aprovação da mesma pelo protocolo – 110/2000 ( ANEXO 1).

### 3.4.2.3 - Aplicação dos marcadores fluorescentes

Para avaliação do processo periódico de formação do osso nas vizinhanças do implante foi utilizado o processo desenvolvido por Rahn (1976) que utiliza a marcação da seqüência policromática. Esse processo consiste em os coelhos receberem injeções subcutâneas de marcadores fluorescentes de apatita na deposição de tecido ósseo após 14 dias de feito o implante. Os marcadores empregados foram: alizarina, calceína e tetraciclina. As aplicações foram feitas semanalmente e em dosagens pré-estabelecidas, como mostra a TABELA 6.

**Tabela 6** – Seqüência de dosagens dos marcadores da apatita do tecido ósseo.

14 dias	Alizarina	30 mg	3g/100 ml solução tampão*
21 dias	Alizarina	30 mg	3g/100ml solução tampão*
28 dias	Calceína	10 mg	1g/100ml solução tampão*
35 dias	Calceína	10 mg	1g/100ml solução tampão*
42 dias	Tetraciclina	60 mg	6g/100ml solução tampão*
49 dias	Tetraciclina	60 mg	6g/100ml solução tampão*
56 dias	Óbito		

\*Solução tampão :100ml de água destilada + 2g NaHCO<sub>3</sub>.

#### **3.4.2.4 – Preparação das amostras para análise de fluorescência**

Após o período de cicatrização, de 8 semanas, os animais foram sacrificados por meio de uma dose excessiva de cloridrato de Ketamina (7ml/animal).

As tíbias foram dissecadas e cortadas em dimensões que não comprometessem os implantes. Posteriormente, os ossos foram embebidos em uma solução neutra de formalina a 10% por 30 dias, com a finalidade de fixação do material.

Após a fixação, as amostras foram lavadas, em água corrente durante 12 h, para a total remoção do fixador. Em seguida foram desidratadas através da imersão em álcool absoluto e água destilada, conforme a seguinte seqüência:

- Álcool 70% por 24 h,
- Álcool 80% por 24 h,
- Álcool 90% por 48 h,
- Álcool 100% por 56 h,
- Álcool 100% por 72 h,
- Álcool 100% por 72 h.

A desidratação foi seguida pelo processo de diafanização que consiste em colocar as amostra desidratadas em dois banhos de xilol, o primeiro durante 24 h e depois o outro por 48 h. Esse procedimento garante a translucidez e a porosidade do material.

Após a desidratação as amostras foram incluídas em resina (Sigma), que consiste em fazer com que a resina penetre em todas as cavidades das amostras antes da polimerização. Para tanto, as amostras foram colocadas em frascos de vidro com tampas, de modo que o eixo maior das amostras ficassem o mais paralelo possível das paredes dos fracos para facilitar a orientação dos cortes posteriores. Durante os sete primeiros dias ficaram embebidas em metilmetacrilato (MMA), nas 24 h seguintes em MMA em 1% de solução peróxido de benzoíla, e, por último, em MMA em 3% de solução peróxido de benzoíla. Após a inclusão, as amostras foram polimerizadas, levando aproximadamente 3 meses.

Os blocos de resina contendo as amostras foram retirados dos frascos e utilizando-se cortadeira de precisão (ISOMET 2000 – BUCHLER) foram obtidas secções finas de aproximadamente 80  $\mu\text{m}$  de espessura. Antes dessas secções serem observadas a microscópio sob luz fluorescente, elas foram coladas sobre uma lâmina de vidro para serem lixadas e polidas com objetivo de serem afinadas. No lixamento foram utilizadas lixas de carbeto de silício (SiC) com grana 400, 600, 2400, 4000  $\mu\text{m}$ , com fluxo de água.

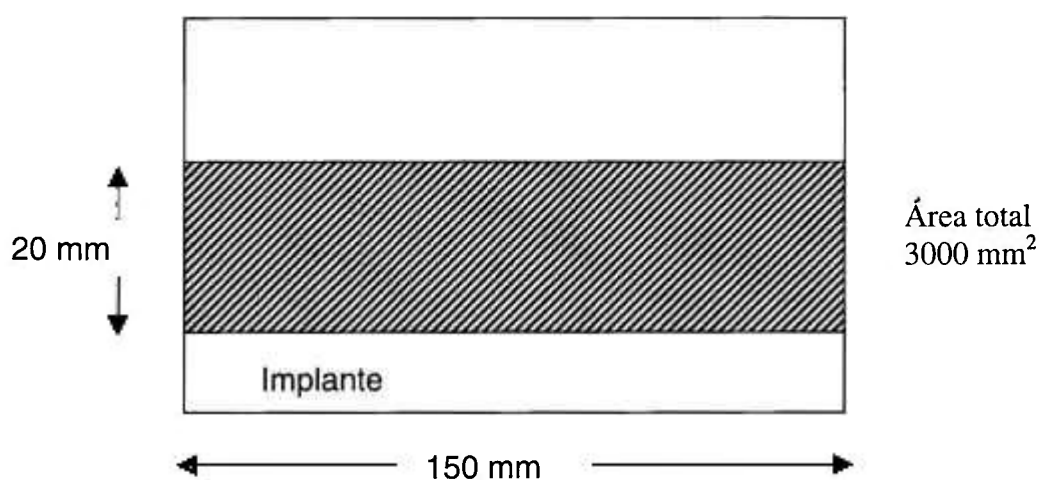
As lâminas preparadas foram levadas diretamente ao microscópio para exame de deposição óssea marcada pela fluorescência nas diferentes etapas de crescimento, onde foram fotografadas.

#### **3.4.2.5 – Procedimento para análise quantitativa do osso formado - Histomorfometria**

A análise histomorfométrica foi baseada nos trabalhos de SCHENK e OLAH (1980), que emprega a técnica de contagem de pontos. A contagem foi realizada sobre as fotos, obtidas por meio de microscópio de fluorescência, separadamente para as três cores referentes aos marcadores, alizarina (marrom terra), calceína (verde) e tetraciclina (amarela). As quais representam a formação do osso novo nos diferentes períodos.

O equipamento utilizado para análise de fluorescência foi um microscópio da marca Leica, modelo Leitz Aristoplan, com sistema de câmara fotográfica para micrografia automática, modelo Leitz Orthomat E. Este equipamento é de propriedade do Laboratório de Neuroanatomia Química do Departamento de Anatomia do ICB da USP, e está sob a responsabilidade do Prof. Dr. Jackson C. Bittencourt.

O procedimento para aplicação da técnica de contagem dos pontos sobre as fotos originais, todas com mesmo aumento, seguiu o esquema mostrado na FIGURA 22. Com auxílio de uma folha de acetato milimetrada, posicionada a partir de uma reta tangente ao implante, os pontos foram contados seguindo as diferentes colorações das áreas (marrom terra, amarelo e verde), até 20 mm, isto é, aproximadamente em uma área de 3.000 mm<sup>2</sup>.



**Figura 22** – Desenho esquemático da região de contagem dos pontos nas fotos obtidas por microscopia de fluorescência.

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Obtenção da liga Ti-13Nb-13Zr

O processo adotado para fabricação da liga Ti-13Nb-13Zr empregando forno a arco com eletrodo não consumível e utilizando como material de partida chapas dos elementos Ti, Nb e Zr de alta pureza, permitiu a obtenção de material homogêneo.

As etapas de forjamento descritas no procedimento ocorreram sem dificuldade e produziram um material com diâmetro final de 2,80 mm e com bom acabamento superficial.

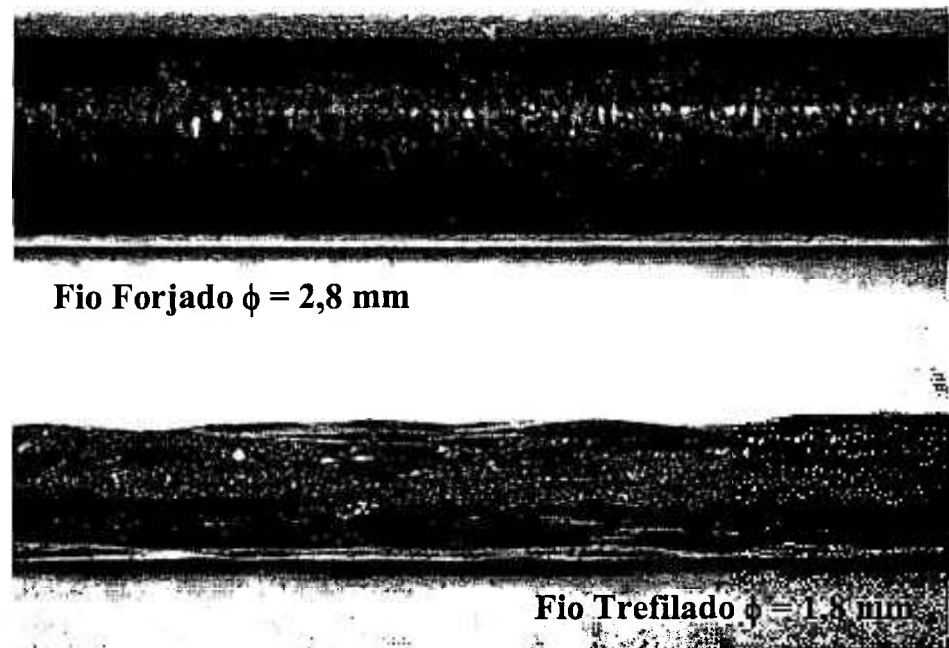
O processo de trefilação utilizando técnicas desenvolvidas na fabricação de fios supercondutores foi realizado com sucesso. Os dados obtidos durante o processo de trefilação encontram-se na TABELA 7.

**Tabela 7** – Dados da primeira etapa de trefilação do fio da liga Ti-13Nb-13Zr envolvido em tubo de cobre eletrolítico.

$\phi$ da fieira (mm)	$\phi$ do fio (Ti-13Nb-13Zr + Cobre) (mm)	$\phi$ da liga Ti-13Nb-13Zr (mm)
4,70	4,70	<b>2,80</b>
4,50	4,50	
4,10	4,10	
3,80	3,80	
3,65	3,75	
3,35	3,40	
3,10	3,15	
3,00	3,05	
2,90	2,95	
2,80	2,80	
		<b>1,80*</b>

\* Medida apenas da liga, realizada quando o cobre ainda envolvia o material.

Após a última fieira e decapagem do fio com ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) concentrado, a superfície do fio mostrou-se bastante irregular. A redução em área real foi de 60%, sendo o diâmetro final de 1,8 mm. A FIGURA 23 mostra a imagem obtida por estereoscópio com aumento de 15 vezes, onde observa-se a aparência dos fios obtidos por forjamento e trefilação.



**Figura 23** – Fios obtidos por forjamento rotativo a frio com  $\phi = 2,8$  mm e por trefilação com  $\phi = 1,8$  mm.

Como o acabamento superficial do fio trefilado não reproduziu o acabamento obtido com o forjamento, o processo de trefilação foi interrompido e o fio, mesmo com superfície irregular, foi utilizado para o teste de biocompatibilidade “*in vivo*” para verificar se o acabamento superficial pode interferir nos resultados (Anselme et al., 2000) e (Davidson et al., 1997).

Pretende-se, num trabalho futuro continuar o desenvolvimento no sentido de obter fios por trefilação da liga Ti-13Nb-13Zr.

## **4.2 – Caracterização microestrutural e mecânica da liga Ti-13Nb-13Zr**

### **4.2.1 – Caracterização microestrutural da liga Ti-13Nb-13Zr**

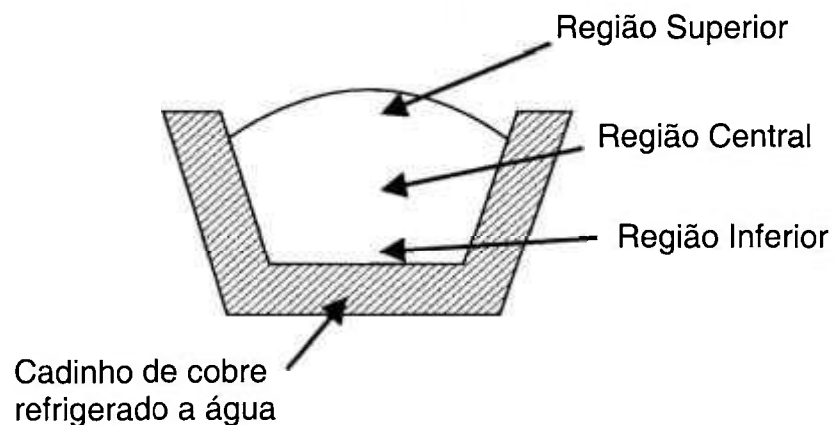
Para a caracterização microestrutural da liga Ti-13Nb-13Zr foram analisadas amostras nas condições:

- como fundida, isto é, estrutura bruta de fusão,
- tratada a 1000°C/1h e resfriada em água,
- tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar, e
- envelhecida após tratamento a 1000°C/1h e resfriada em água.

Os resultados das análises de difração de raios-X, microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e difração de elétrons em área selecionada estão apresentados a seguir, para cada uma das condições descritas.

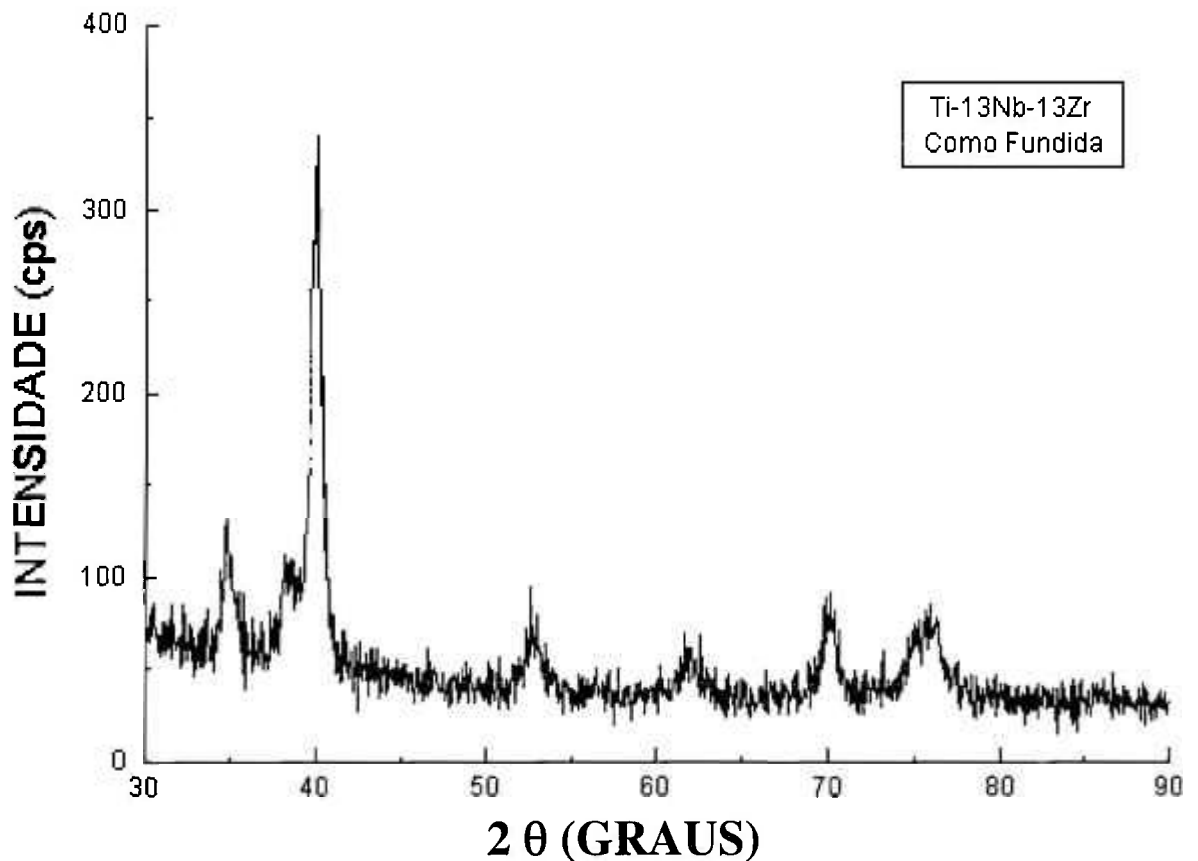
#### 4.2.1.1 – Estrutura bruta de fusão

O lingote produzido da liga possui diâmetro inicial médio de 15,20 mm e comprimento de 150,0 mm. Uma amostra da seção transversal do lingote, foi preparada utilizando-se técnicas metalográficas para análise microestrutural. A FIGURA 24 ilustra o formato da seção transversal onde indica-se a região de contato com o cadinho refrigerado a água durante a fusão.



**Figura 24** - Seção transversal do lingote da liga Ti-13Nb-13Zr, mostrando a região de contato com o cadinho durante a fusão.

Esta amostra foi submetida a análise de raios-X e o resultado de difração obtido está mostrado na FIGURA 25.



**Figura 25** – Resultado de difração de raios-X da liga como fundida.

A partir do difratograma obtido, tomando-se os valores de  $2\theta$  para os picos, foram calculados os respectivos valores das distâncias interplanares  $d$  (lei de Bragg -  $n\lambda = 2d\sin\theta$ ). Não foram encontradas informações de difração catalogados no banco JCPDS para as fases da liga Ti-13Nb-13Zr. Então, os valores encontrados resultantes da difração de raios-X foram comparados àqueles encontrados na literatura (Poggie et al., 1996) e (Yu and Scully, 1997), os quais encontram-se na TABELA 8. Considerando que a fase  $\alpha$  do Ti puro possui a mesma estrutura cristalina da fase  $\alpha$  ou  $\alpha'$  da liga Ti-13Nb-13Zr, foram

utilizados os dados do JCPDS da fase  $\alpha$  do Ti para auxiliar a identificação das fases presentes na liga, estas informações estão também na TABELA 8. Todos os valores contidos nesta tabela foram alinhados levando-se em conta os respectivos valores de intensidade

**Tabela 8** - Valores de  $2\theta$  e respectivas distâncias interplanares  $d(\text{\AA})$  das reflexões hkl das fases  $\alpha$  ou  $\alpha'$  (hcp) e  $\beta$  (bcc).

Ti- $\alpha$ (hcp)			Ti-13Nb-13Zr como fundido				
JCPDS			Dados da literatura $\alpha$ ou $\alpha'$ (hcp)			Resultados da liga produzida	
(hkl)	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{\AA})$	(hkl)	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{\AA})$	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{\AA})$
010	35,09	2,557	(010)	34,65	2,587	34,8	2,578
002	38,44	2,342	(002)	37,98	2,367	38,2	2,378
011	40,19	2,244	(011)	39,65	2,271	39,9	2,259
012	53,06	1,726	(012)	52,35	1,746	52,9	1,731
110	63,02	1,475	(110)	62,10	1,493	61,7	1,503
103	70,73	1,332				70,2	1,341
112	76,37	1,247				75,7	1,256
			Dados da literatura $\beta$ (bcc)				
			(hkl)	$2\theta(^{\circ})$	$d(\text{\AA})$		
			(110)	37,98	2,367		
			(100)	50,10	1,665		
			(220)	82,50	1,168		
			(310)	94,50	1,049		

Observa-se, portanto, que os picos do difratograma mostrado na FIGURA 24 podem ser identificados tanto pela literatura  $\alpha$  ou  $\alpha'$  (hcp), quanto pelo JCPDS do Ti- $\alpha$  para ângulos menores que  $70^\circ$ . Os ângulos maiores que  $70^\circ$  foram comparados aos dados do Ti- $\alpha$  (JCPDS) e confirma-se a estrutura hexagonal compacta (hcp)  $\alpha$  ou  $\alpha'$ .

Com base nas informações da literatura (Mishra et al., 1993) e (Davidson et al., 1994) esta é uma liga de Ti metaestável (próximo- $\beta$ ). Observando o diagrama de fase estimado do Nb-Ti para 13% em peso de Zr, apresentado na FIGURA 5, para nenhuma taxa de resfriamento ela será monofásica  $\alpha$ . Portanto, da análise feita a partir do difratograma, a estrutura da liga na condição bruta de fusão trata-se, provavelmente, de uma estrutura  $\alpha'$  nada podendo ser afirmado quanto a fase  $\beta$ .

Outro resultado obtido foi o cálculo do parâmetro de rede da fase  $\alpha'$  da liga Ti-13Nb-13Zr. Usando os valores experimentais das distâncias interplanares da liga, dados na TABELA 9, e os parâmetros de rede da fase  $\alpha$  do Ti foram obtidos, por meio de um programa de refino de parâmetros de rede (TRIESTE – Calligares and Geremias, 1989), os possíveis parâmetros para liga Ti-13Nb-13Zr como sendo  $a = 2,985 \text{ \AA} \pm 0,012$  e  $c = 4,708 \text{ \AA} \pm 0,025$ .

A TABELA 9 apresenta as características atômicas e respectivos parâmetros de rede dos elementos puros, retirados da literatura (Cullity, 1978).

**Tabela 9** – Características atômicas e estruturais do Ti, Nb e Zr.

ELEMENTO	CARACTERÍSTICAS ATÔMICAS			CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS		
	Raio atômico (Å)	Peso atômico (Å)	Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Fase	Estrutura cristalina	Parâmetros de rede (Å)
Ti	144,8	47,86	4,50	$\alpha$	hcp	a = 2,8512 c = 4,6845
				$\beta$	bcc	a = 3,3066
Nb	142,9	92,91	8,55		bcc	a = 3,3067
Zr	159,0	91,22	6,49	$\alpha$	hcp	a = 3,2313 c = 5,1479
				$\beta$	bcc	a = 3,6091

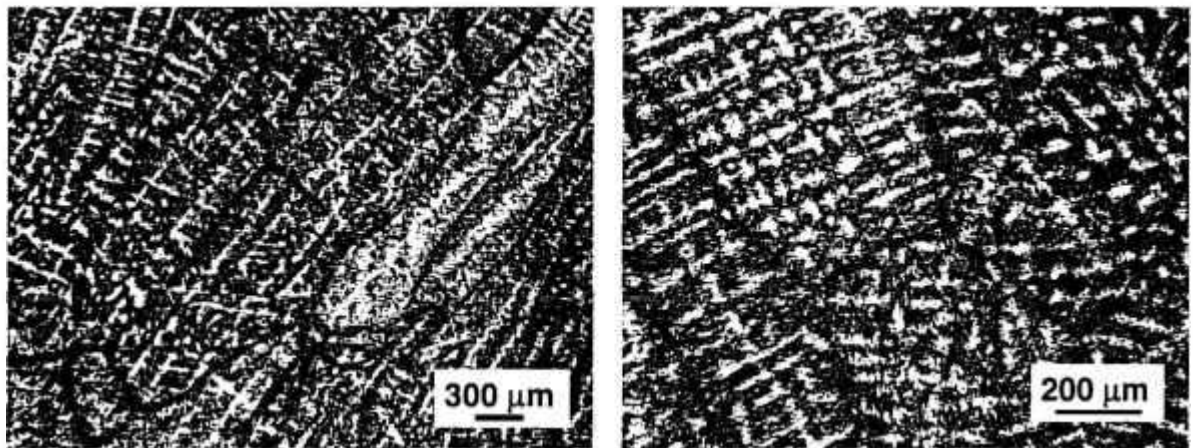
Observa-se que as fases Ti- $\beta$ , Nb e Zr- $\beta$  possuem a mesma estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (bcc) e comparando seus valores de parâmetro de rede verifica-se que o maior é o do Zr. Este fato ocorre como consequência do raio atômico do Zr ser maior que o do Ti e do Nb.

Quando observa-se os parâmetros de rede das fases Ti- $\alpha$  e Zr- $\alpha$ , as quais são da mesma estrutura cristalina hexagonal compacta (hcp), os maiores valores também são para o Zr pelo mesmo motivo.

Comparando os valores dos parâmetros da liga Ti-13Nb-13Zr com aqueles do Ti observa-se um aumento, o qual está associado a presença do elementos de liga Zr que possui maior raio atômico.

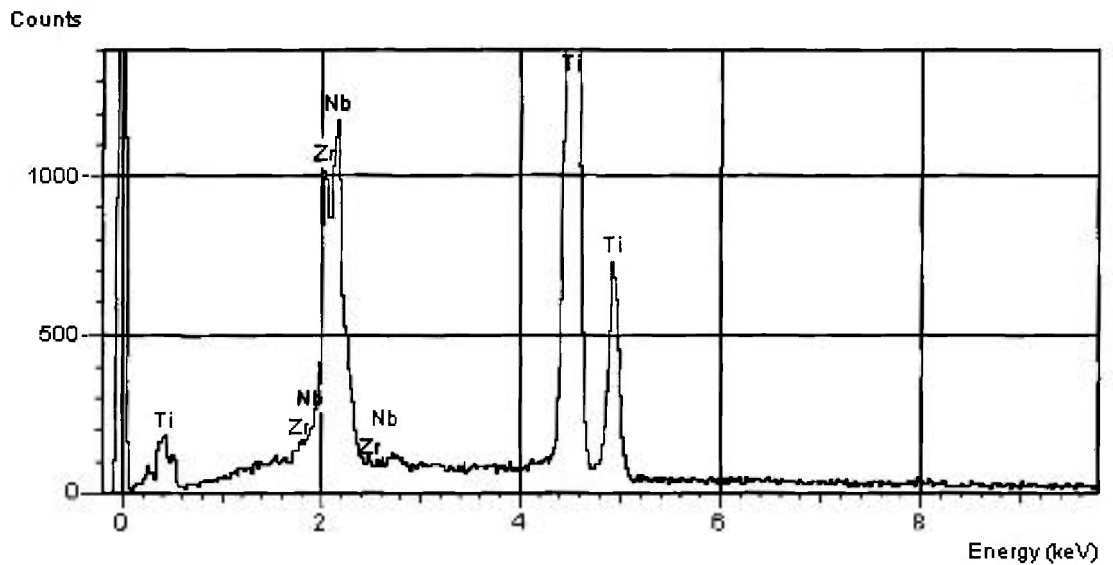
A análise de microscopia óptica da estrutura bruta de fusão de um dos lingotes mostra uma morfologia variada em toda a sua seção transversal. Por isso, serão apresentados os resultados das três regiões, a superior, a central e a inferior, como exemplificado anteriormente na FIGURA 24.

Observa-se na micrografia óptica mostrada na FIGURA 26, que representa a região superior da estrutura bruta de fusão, a presença de grãos colunares com formação de dendritas no seu interior.

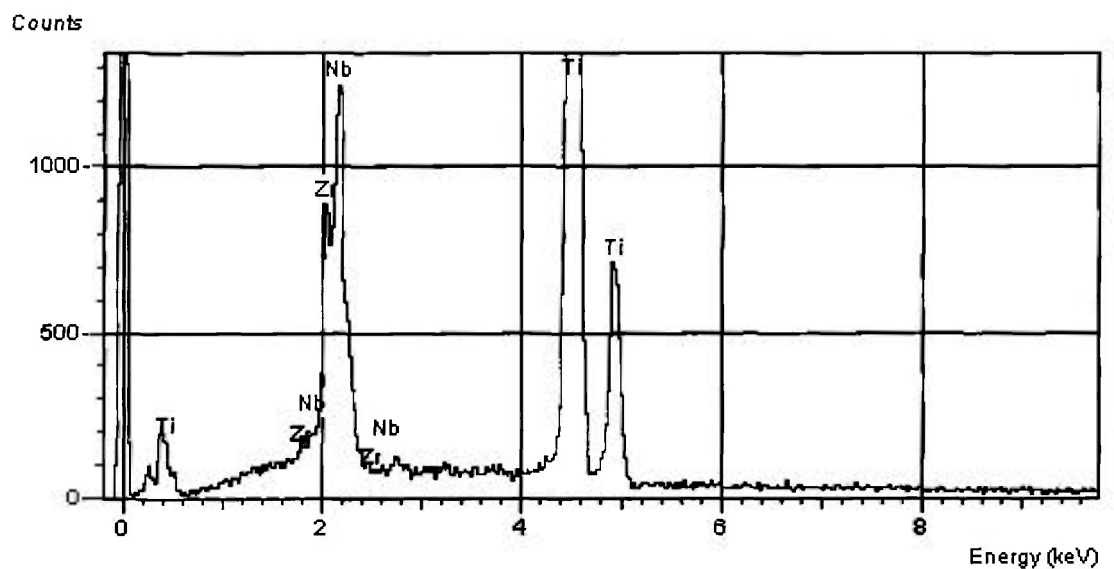


**Figura 26** – Micrografias ópticas da estrutura bruta de fusão do lingote, apresentando a formação de grãos colunares e das dendritas, na região superior.

Os resultados de microanálise obtidos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) nas dendritas (parte clara), da região superior do lingote, mostram que esta é uma região com um teor de Nb ligeiramente maior e menor teor de Zr, quando compara aos teores da parte escura das regiões interdendritas. Os espectros, obtidos por EDS, onde se observa esta variação estão nas FIGURAS 27 e 28.



**Figura 27** – Resultado de microanálise por EDS da amostra do lingote como fundido na região superior, fora das dendritas (região escura).

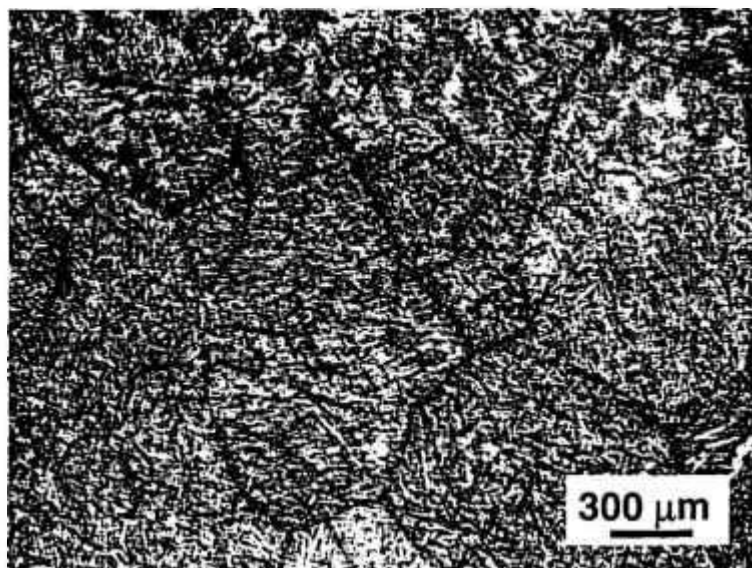


**Figura 28** – Resultado de microanálise por EDS da amostra do lingote como fundido na região superior, dentro das dendritas (região clara).

Nos espectros apresentados anteriormente vê-se que as energias do Nb e Zr apresentam uma diferença de 120 eV. Como esta é a diferença necessária para que se obtenha a separação dos elementos no espectro, os resultados de EDS podem ser considerados confiáveis.

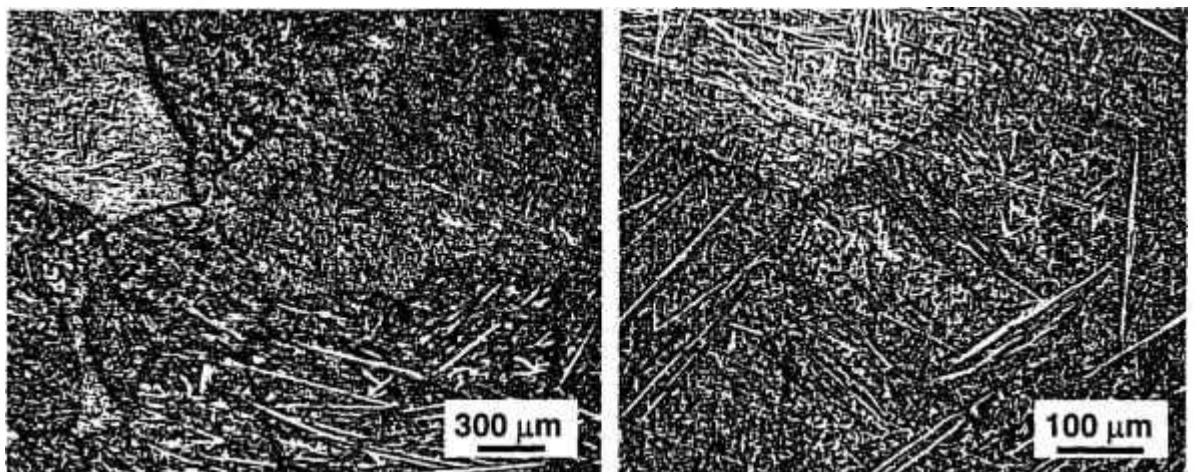
As regiões claras ( “ricas” em Nb) e escuras (“pobres” em Nb), observadas nas micrografias, mostram o efeito da variação no teor de Nb.

Na região central do lingote, cuja micrografia óptica é dada pela FIGURA 29, observa-se que os grãos ficam menos alongados e a formação dendrítica não é tão evidente quanto aquela que foi observada na região superior.



**Figura 29** – Micrografia óptica da estrutura bruta de fusão do lingote da liga, representando a região central.

A região inferior do lingote apresenta grãos menores e aparentemente mais regulares, conforme pode ser visto na micrografia óptica da FIGURA 30.



**Figura 30** – Micrografias ópticas do lingote como fundido da liga, representando a morfologia da região inferior.

Não se pode afirmar que a microestrutura mostrada na FIGURA 30 seja proveniente do resfriamento a partir do estado líquido. Porém, assemelha-se àquela de um material submetido a um tratamento térmico no estado sólido, com contornos de grãos definidos formando ângulo de 120°. Isto sugere que a região inferior do lingote, por estar em contato com o cadinho, tenha se mantido sólida enquanto a região central e superior estavam líquidas.

Os resultados de microanálise obtidos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) em pontos aleatórios das regiões central e inferior apresentam valores elementares próximos da composição nominal da liga, conforme exemplificado a seguir:

	<b>% Ti (em peso)</b>	<b>% Nb (em peso)</b>	<b>% Zr (em peso)</b>
<b>Ponto 1</b>	73,12	14,22	12,66
<b>Ponto 2</b>	73,85	13,08	13,07
<b>Ponto 3</b>	73,15	13,51	13,33
<b>Ponto 4</b>	73,16	13,82	13,02

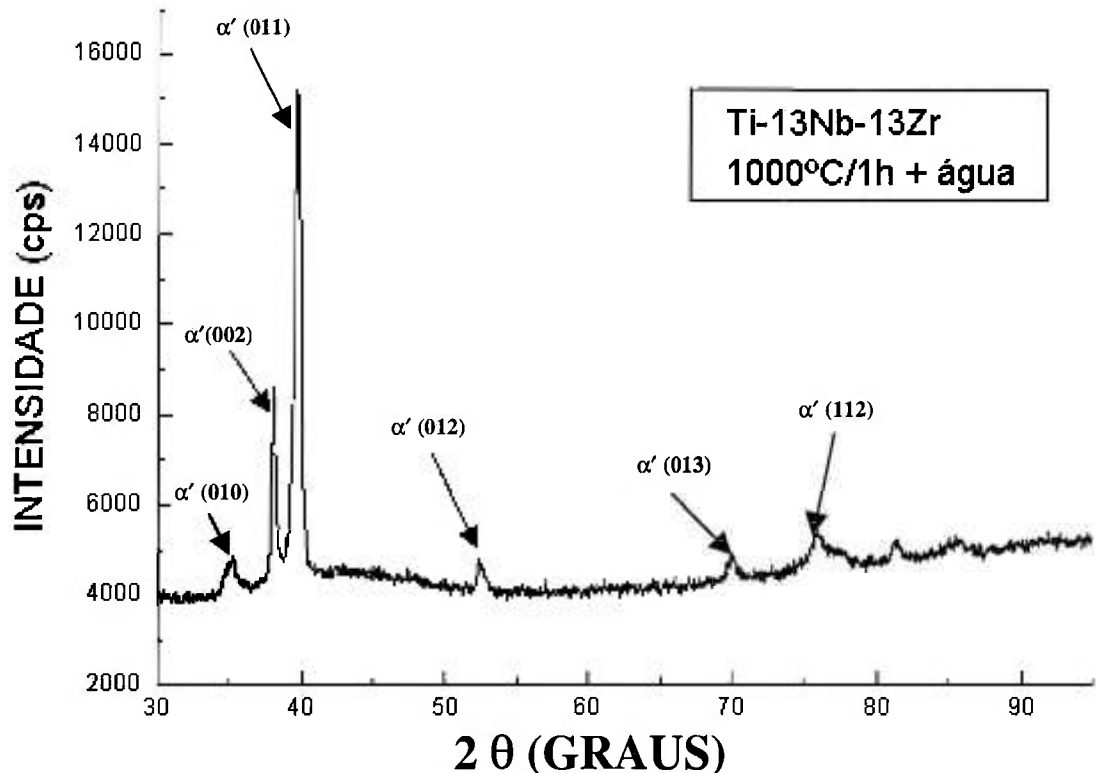
Os resultados de raios-X, microscopia óptica e microanálise por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) apresentados até o momento indicam que o procedimento utilizado para fusão da liga, compreendendo 6 fusões em cada uma das duas etapas e em cada fusão o lingote ser virado no cadinho, forneceu um lingote de composição uniforme apesar de morfologicamente irregular.

#### 4.2.1.2 – Amostra tratada a 1000°C/1h e resfriada em água

Quando a liga Ti-13Nb-13Zr sofre tratamento de solubilização acima da temperatura de transição da fase  $\beta$  e resfriamento por choque térmico em água, sua microestrutura consiste de martensita acicular  $\alpha'$ , cuja estrutura cristalina é hcp, segundo a literatura (Mishra et al., 1993) e (Robare et al., 1997).

O lingote da liga Ti-13Nb-13Zr foi encapsulado em tubo de quartzo e tratado a 1000°C/1h e resfriado em água, quando foi retirada uma amostra para caracterização microestrutural.

O resultado de difração de raios-X pode ser observado na FIGURA 31, cujos picos são característicos da fase  $\alpha'$  (hcp), com base nas considerações apresentadas para a estrutura bruta de fusão.



**Figura 31** – Resultado de difração de raios-X da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água, mostrando  $\alpha'$  martensítica (hcp).

A FIGURA 32, mostra a micrografia obtida por microscópio óptico representando a microestrutura característica da amostra tratada 1000°C/1h e resfriada em água, a característica apresentada foi observada em toda a seção transversal da amostra analisada. O formato dos grãos apresenta-se semelhante àqueles da região inferior da estrutura bruta de fusão mostrada na FIGURA 30, observa-se uma microestrutura martensítica homogênea indicando que o tratamento 1000°C/1h e resfriamento em água mostra-se eficiente quanto a homogeneização.

Por meio da análise de microscopia eletrônica de varredura foi observada uma estrutura martensítica, conforme mostrado na FIGURA 33.

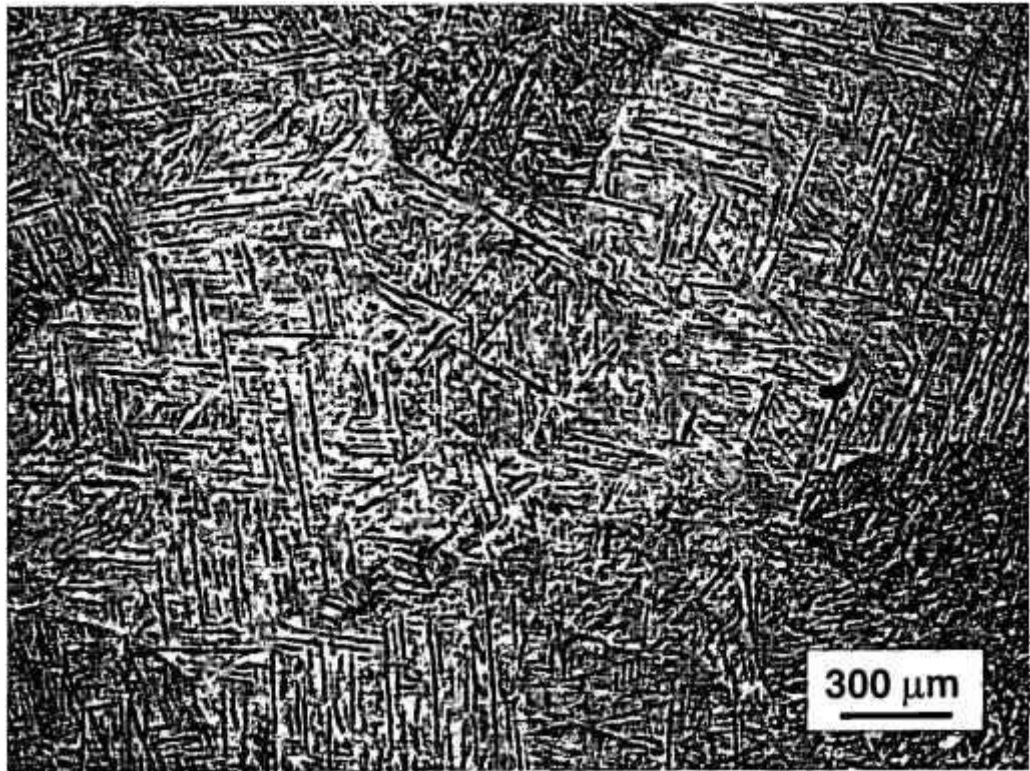


Figura 32 – Micrografia Óptica da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.

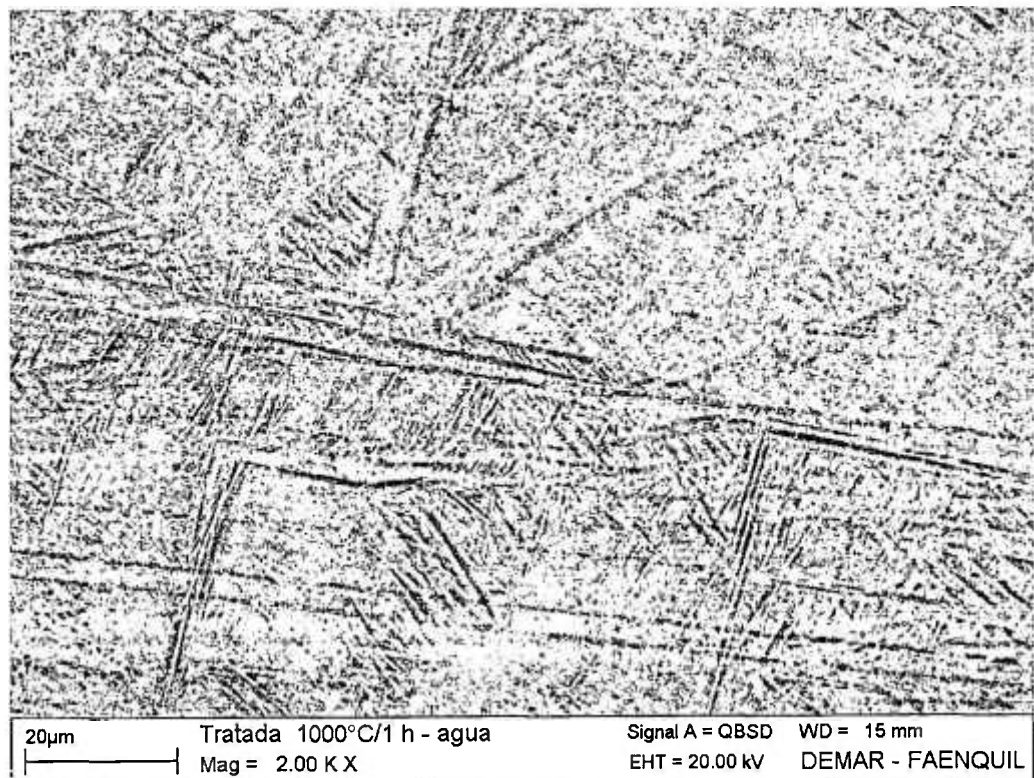
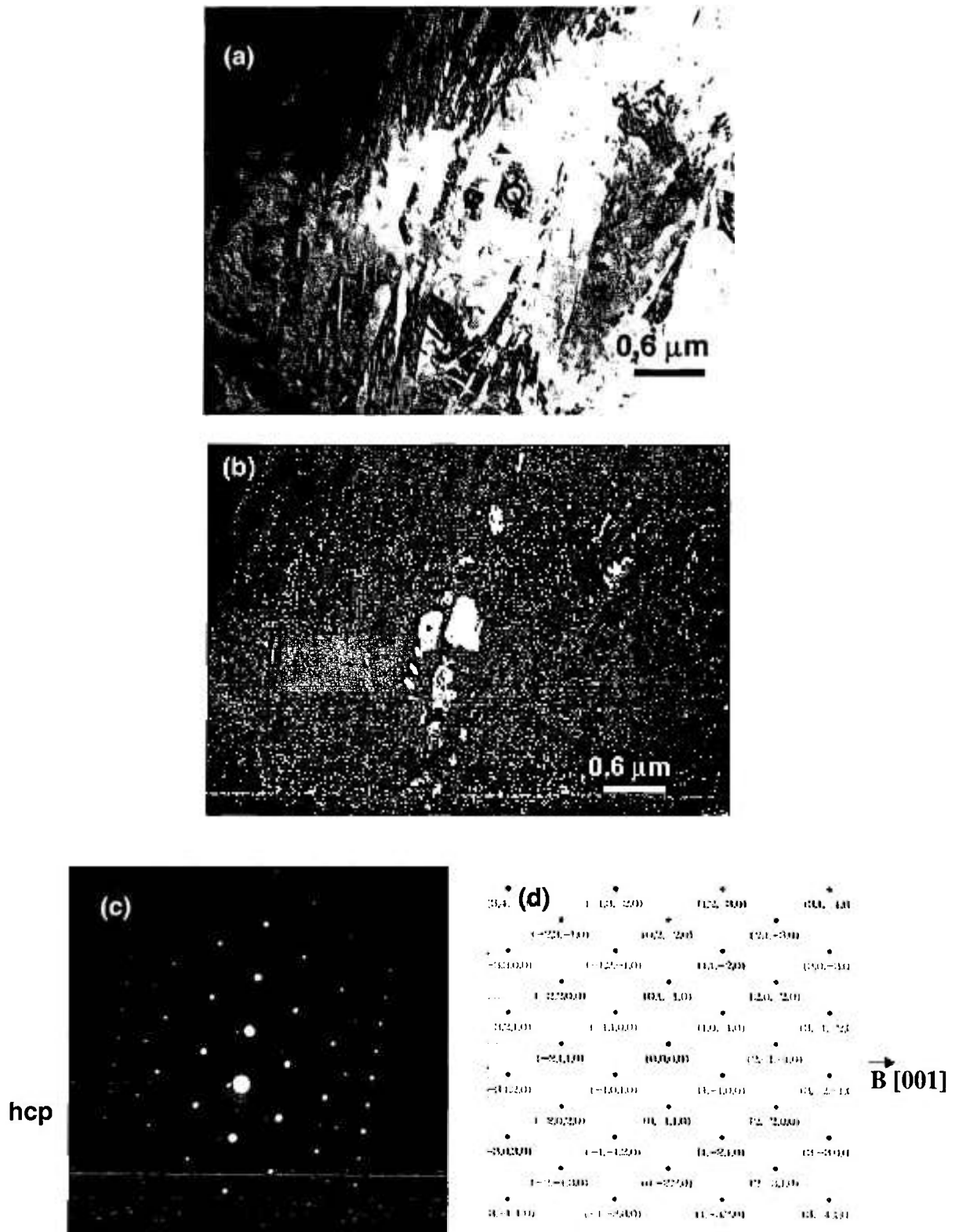


Figura 33 – Micrografia obtida por MEV, da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.

Os resultados de microanálise obtidos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) não apresentaram variações maiores que 1% em relação ao valor nominal da liga, ao longo de toda amostra.

Através dos resultados de microscopia eletrônica de transmissão (MET) obtidos das alternativas oferecidas pelo equipamento, como campo claro, campo escuro e difração de área selecionada (SAD) não foi possível identificar outra estrutura presente além da hexagonal compacta (hcp), estes resultados estão apresentados na FIGURA 34 a seguir.

As análises mostram que a microestrutura para a liga Ti-13Nb-13Zr resfriada em água após solubilização é martensítica  $\alpha'$  hexagonal compacta (hcp), conforme encontrado na literatura (Davidson and Kovacs, 1990), (SMITH & MENPHEW Inc., 1991) e (Davidson et al., 1992) apesar da temperatura e tempo de tratamento serem superiores (1000°C/1h). Os autores empregaram para o tratamento do material uma temperatura de 825-875°C durante um tempo de 20 min.

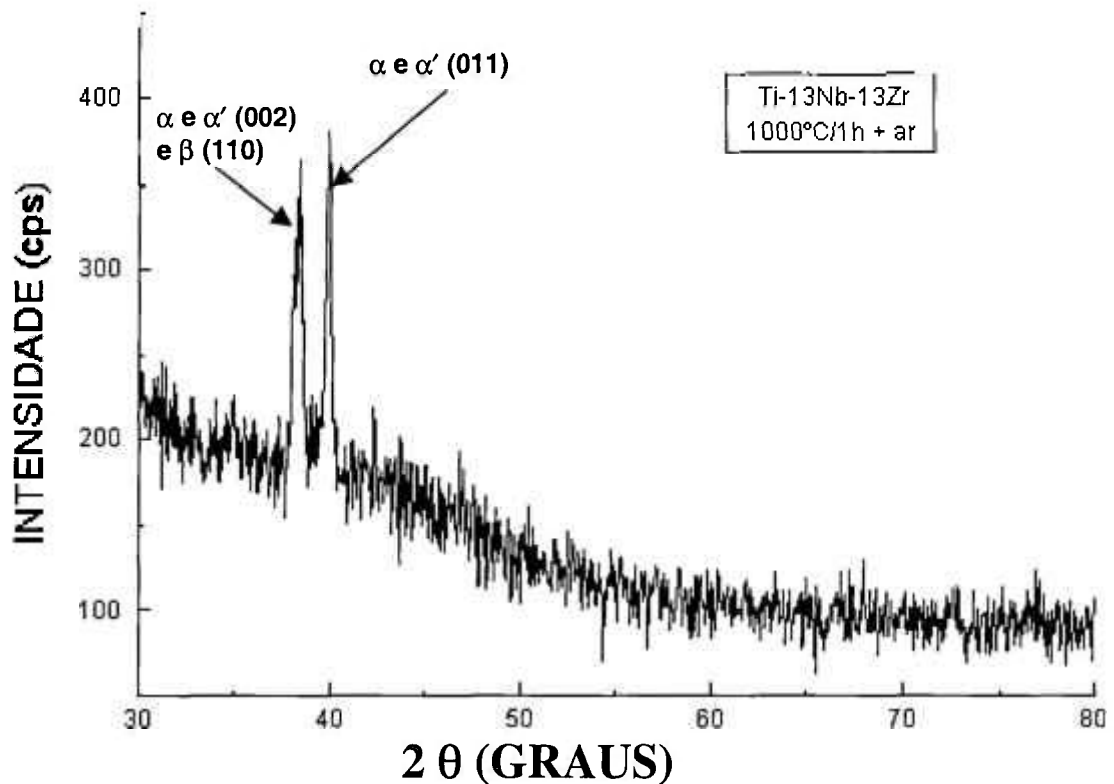


**Figura 34** - (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase hcp ( $\alpha'$ ) e (d) indexação por DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a  $1000^\circ\text{C}/1\text{h}$  e resfriada em água.

#### 4.2.1.3 – Amostra tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar

Depois que o lingote ( $\phi \approx 15,0$  mm) foi submetido ao tratamento térmico 1000°C/1h e resfriado em água, foi submetido ao forjamento rotativo a frio, conforme descrito no item 3.2.1, até o diâmetro de aproximadamente 6,0 mm (dados do forjamento na TABELA 5). Neste estágio foram retiradas amostras para serem submetidas às três condições de tratamento térmico descritas no item 3.2.2.

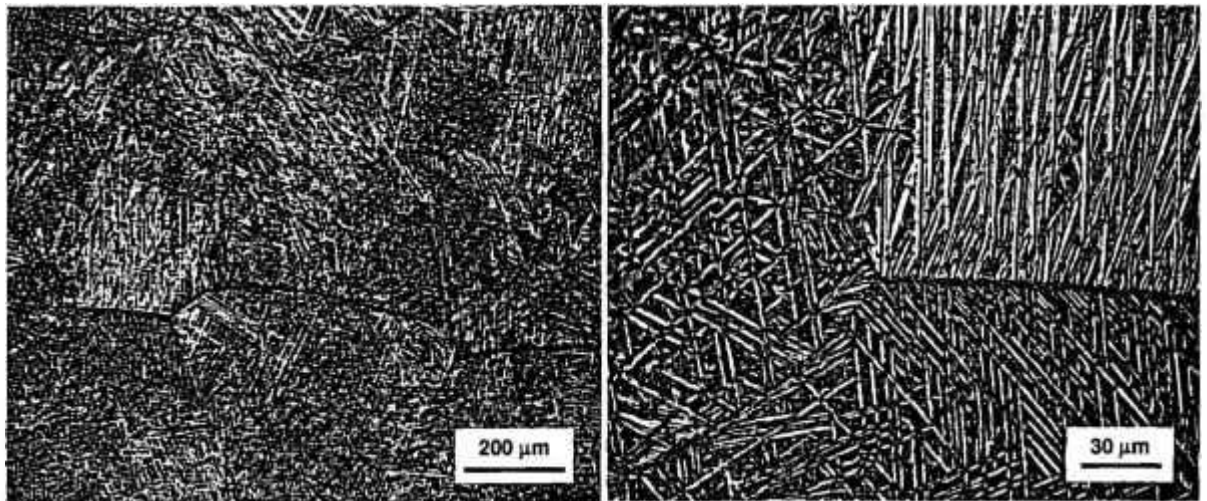
A amostra tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar, foi embutida a frio em resina e submetida a difração de raios-X. O difratograma resultante encontra-se na FIGURA 35 onde observam-se dois picos distintos entre os valores de  $2\theta$  de 35° e 45° apesar da interferência da resina. Tal interferência deve-se ao fato de que a amostra possui 6,0 mm de diâmetro e o feixe uma largura de 10,0 mm, significando que 40% incidiu sobre a resina.



**Figura 35** – Resultado de difração de raios-X da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar, mostrando  $\alpha'$  martensítica (hcp),  $\alpha$  (hcp) e  $\beta$  (bcc), possivelmente.

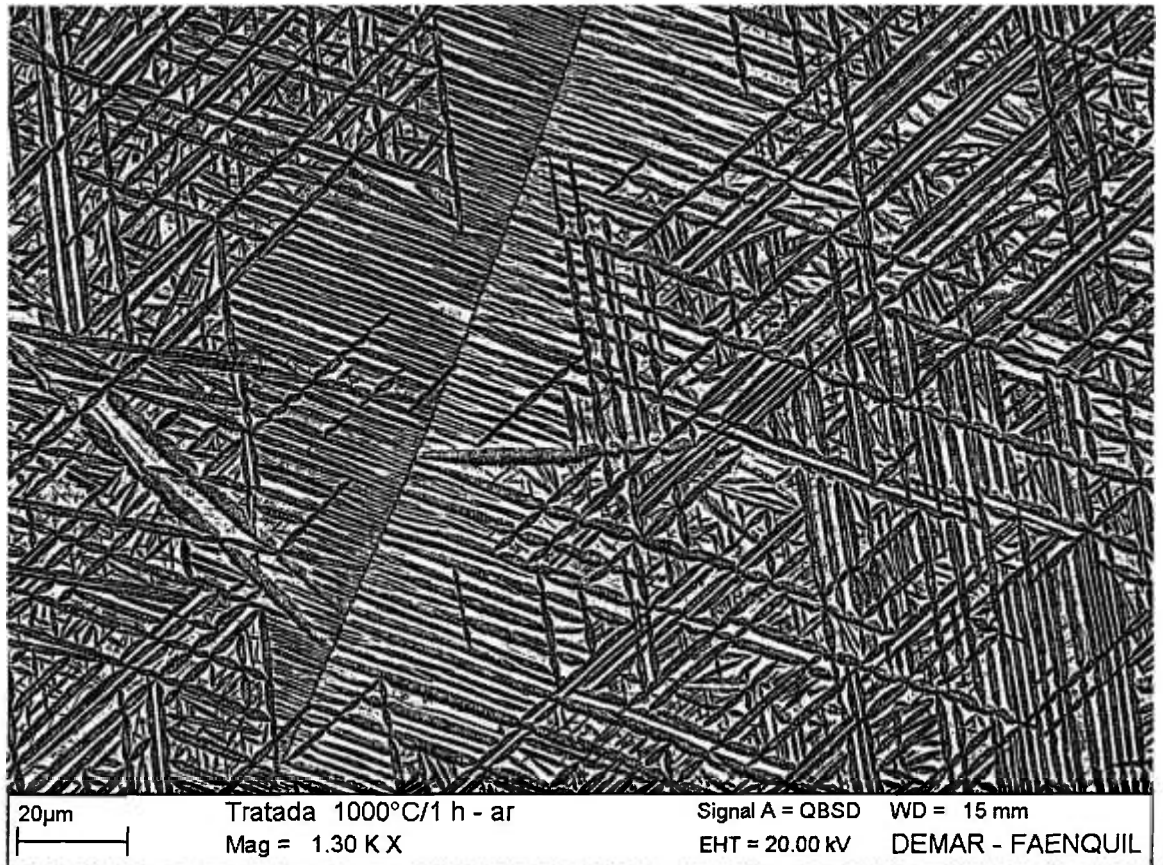
Considerando os difratogramas apresentados anteriormente e as respectivas discussões, os dois picos do difratograma da FIGURA 35 podem representar a fase  $\alpha$  ou  $\alpha'$ . No entanto não se pode deixar de considerar que o pico em  $2\theta \approx 38^\circ$  apresenta um aumento na sua intensidade em relação ao segundo pico, o que não foi observado nos difratogramas anteriores, FIGURAS 25 e 31, além do fato de que este pico pode representar a presença da fase  $\beta$  conforme dados mostrados na TABELA 8.

A FIGURA 36 mostra a micrografia obtida por microscopia óptica da amostra tratada a 1000<sup>o</sup>/1h e resfriada ao ar, onde observa-se o formato dos grãos e as agulhas representando possivelmente duas fases.



**Figura 36** – Micrografia óptica da liga tratada a 1000<sup>o</sup>C/1h e resfriada ao ar.

A microestrutura esperada para o material resfriado ao ar é  $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$ , isto é, parte da fase  $\beta$  transforma-se em  $\alpha'$  e o restante em  $\alpha+\beta$  conforme apresentado na literatura (Robare et al., 1997). A micrografia obtida por MEV, apresentada na FIGURA 37, mostra que a região possui mais de uma fase e é morfológicamente semelhante à liga Ti-6Al-4V ( $\alpha+\beta$ ).

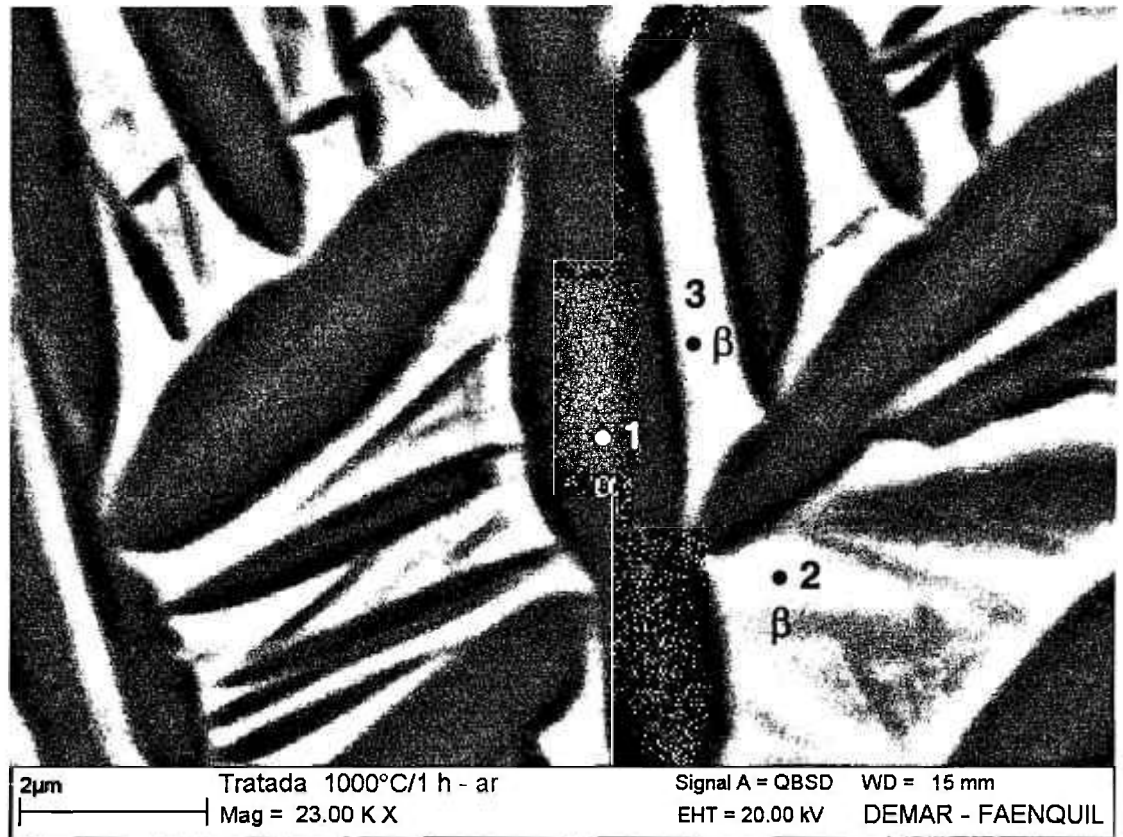


**Figura 37** – Micrografia obtida por MEV da liga tratada 1000°C/1h e resfriada ao ar.

Embora as dimensões das fases não sejam suficientes para obtenção de valores confiáveis quanto a composição, foram encontrados os seguintes teores para o pontos mostrados na FIGURA 38:

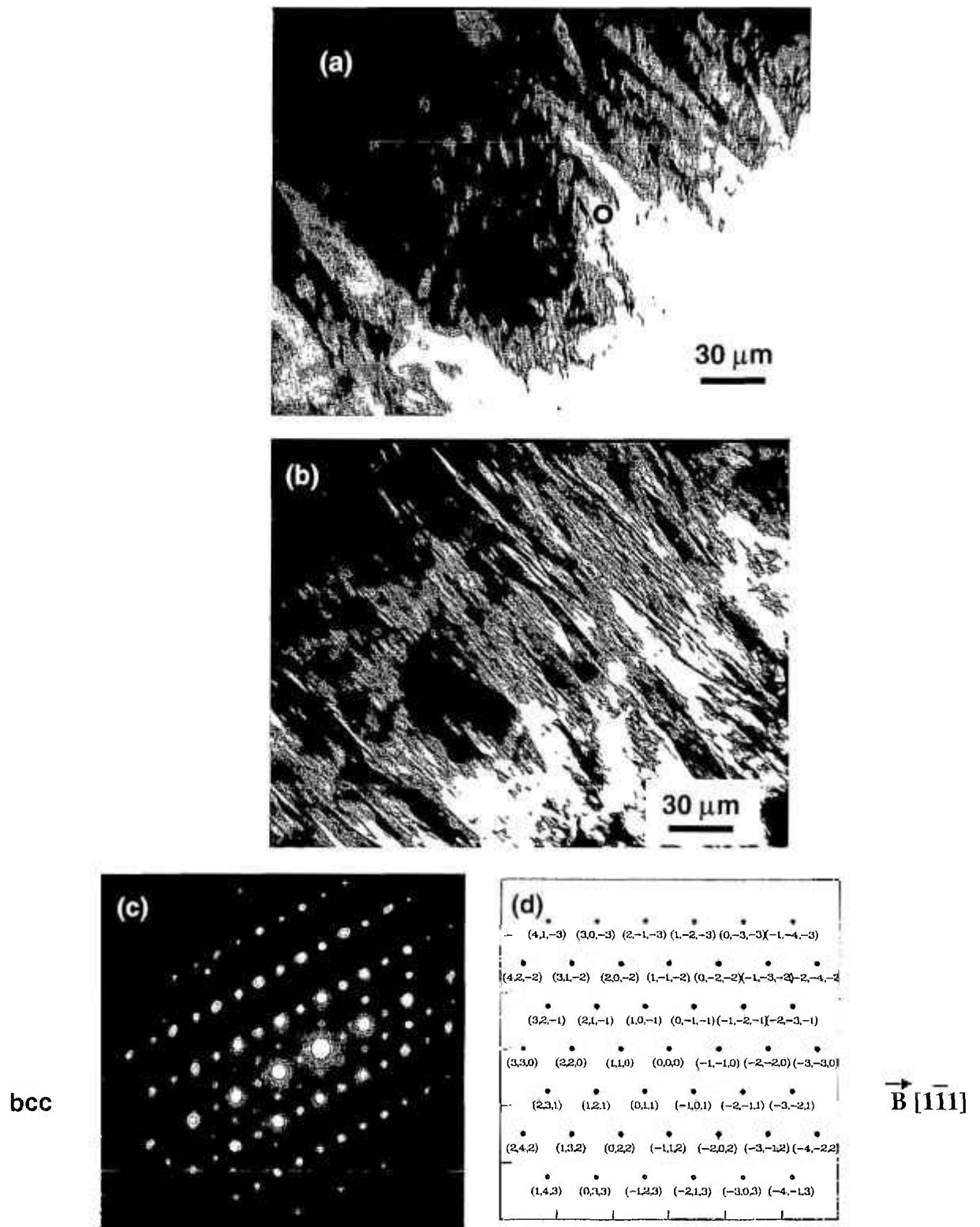
	% Ti (em peso)	% Nb (em peso)	% Zr (em peso)
- Ponto 1:	77,05	8,92	14,15
- Ponto 2:	64,40	20,46	15,14
- Ponto 3:	61,68	23,83	14,49

Foram encontrados teores de Nb mais alto nas regiões claras. Considerando que o Nb é estabilizador da fase  $\beta$ , esta deve ser a fase presente nessas regiões. Isto mostra que



**Figura 38** – Micrografia obtida por MEV da liga, mostrando a região anterior ampliada, contendo os pontos onde foram realizadas microanálises por EDS.

A FIGURA 39 mostra o resultado da microscopia eletrônica de transmissão (MET), como campo claro, campo escuro e difração de área selecionada (SAD), para a amostra tratada 1000°C/1h e resfriada ao ar foi possível identificar uma das estruturas cristalinas, a cúbica de corpo centrado (bcc). Isto mostra que a fase  $\beta$  está presente na liga tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar.

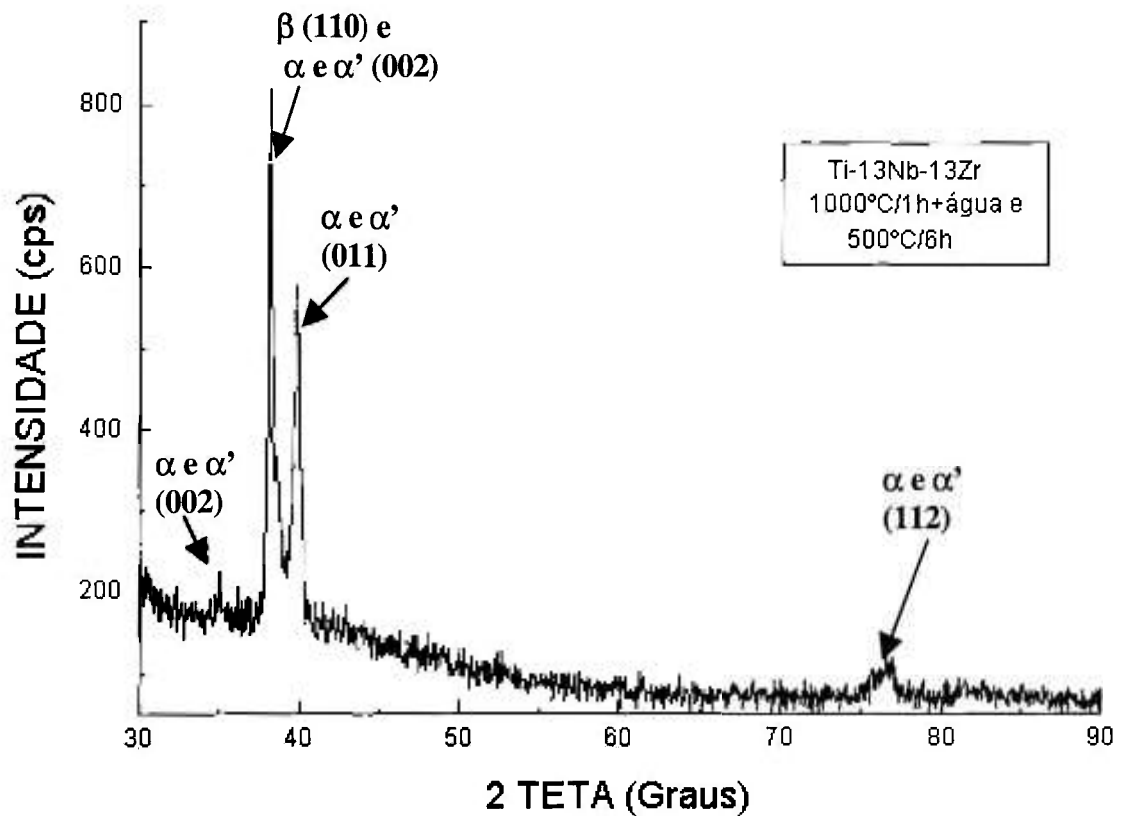


**Figura 39-** (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase bcc ( $\beta$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h resfriada ao ar.

#### 4.2.1.4 – Amostra tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida 500°C/6h

Amostra da liga forjada até o diâmetro de 6,0 mm foi tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e posteriormente envelhecida 500°C/6h. Esta amostra, antes de ser submetida à difração de raios-X, foi embutida a frio em resina da mesma forma que a descrita no item 4.2.1.3. No resultado de difração de raios-X mostrado na FIGURA 40, observa-se, além da interferência da resina, que os picos entre os valores de  $2\theta$  igual 35° e 45° possuem intensidade relativa invertida, isto é, o primeiro desses picos é mais intenso que o segundo. Esta inversão não foi observada nos difratogramas das amostras apresentadas anteriormente.

Considerando que a literatura apresenta uma microestrutura martensítica estabilizada  $\alpha'$  (hcp) com uma fina dispersão de precipitados  $\beta$  (bcc) (Davidson and Kovacs, 1990) para a condição envelhecida, os picos do difratograma da FIGURA 40 representam  $\alpha'$  e  $\beta$ . Contudo como a fase  $\alpha$  é também hcp, não podendo ser diferenciada da  $\alpha'$ , ela também pode estar presente.



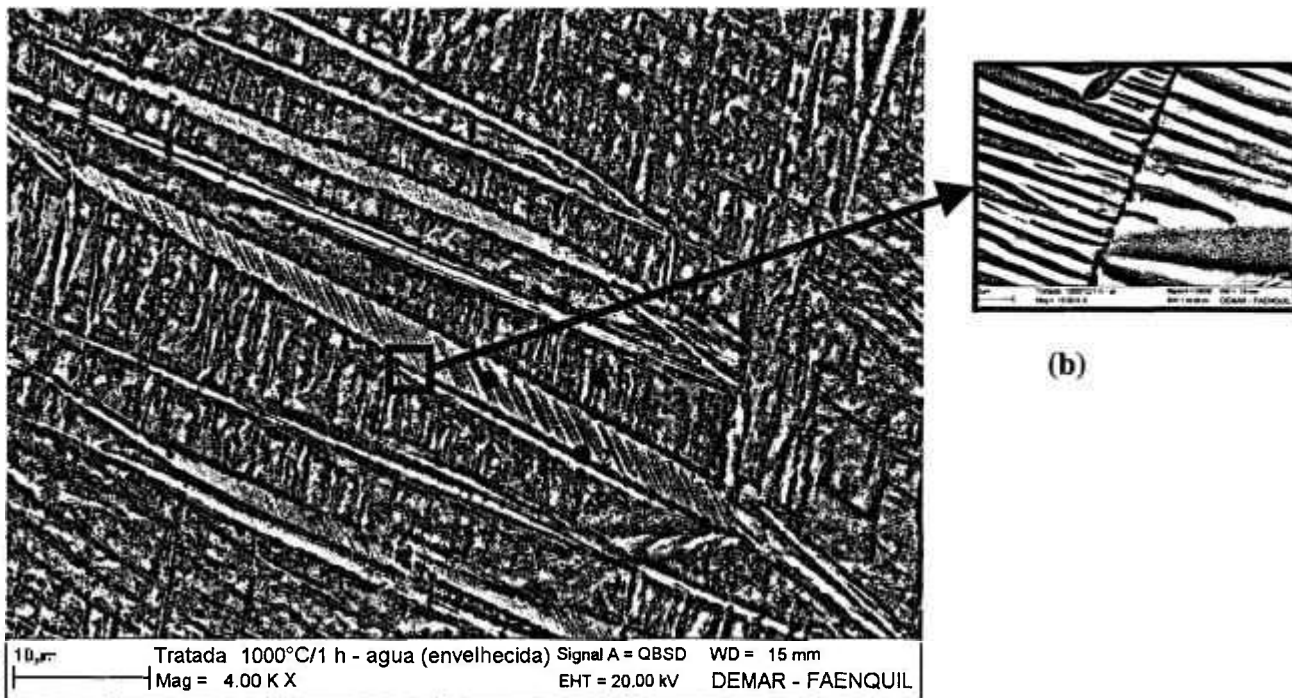
**Figura 40** – Resultado de difração de raios-X da liga tratada a 1000°C/1h e resfriada em água e envelhecida a 500°C/6h, mostrando picos  $\alpha'$  e  $\alpha$  (hcp) e  $\beta$  (bcc).

A FIGURA 41 (a) mostra a micrografia obtida por MEV da amostra tratada a 1000°C/1h resfriada em água e envelhecida 500°C/6h. Os pontos 1, 2 e 3 mostram os locais onde foram feitas medidas de EDS com o seguinte resultado:

	%Ti (em peso)	%Nb (em peso)	%Zr (em peso)
- Ponto 1:	72,79	13,52	13,70
- Ponto 2:	72,85	13,40	13,75
- Ponto 3:	71,21	14,18	14,61

Observando em maior ampliação, veja na FIGURA 40 (b), vê-se que o tamanho das regiões de análise não é suficiente para a obtenção de valores de

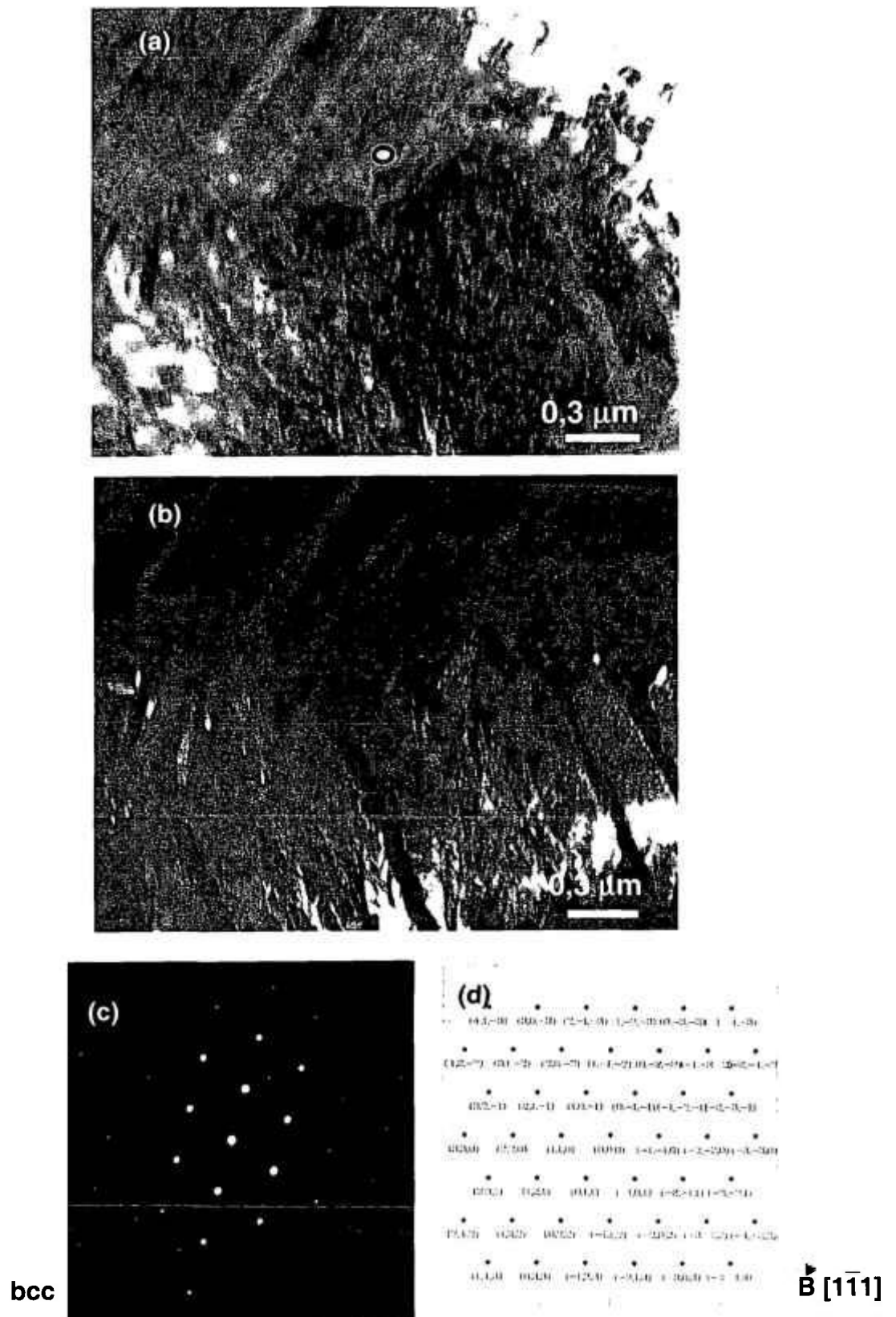
composição confiáveis das fases presentes. Logo os resultados de EDS apresentados, mais uma vez, representam a composição uniforme da liga em seu valor nominal.



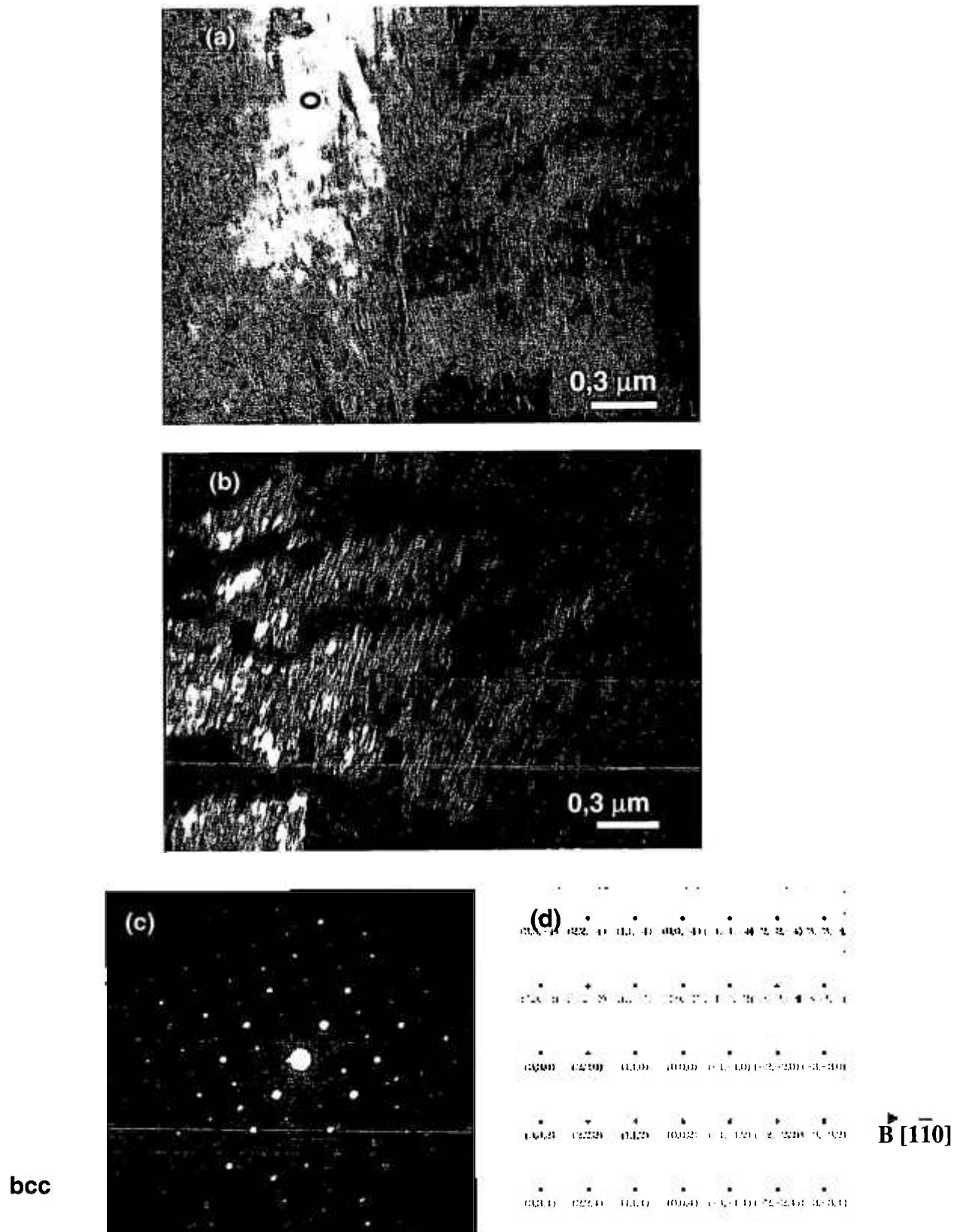
(a)

**Figura 41 – (a)** Micrografia obtida por MEV, da liga tratada 1000°C/1h, resfriada ao ar e envelhecida 500°C/6h, mostrando os pontos onde foi realizado EDS. **(b)** A região ampliada mostra estrutura lamelar  $\alpha+\beta$  possivelmente.

Aplicando os recursos disponíveis da microscopia eletrônica de transmissão (MET), como campo claro, campo escuro e difração de área selecionada (SAD), para a amostra envelhecida (1000°C/1h resfriada em água e 500°C/6h) foi possível identificar duas estruturas cristalinas distintas, uma hexagonal compacta (hcp) e outra cúbica de corpo centrado (bcc), como mostrado nas FIGURAS 42, 43 e 44.



**Figura 42 - (a)** Campo claro, mostrando a região de análise; **(b)** Campo escuro; **(c)** padrão de difração eletrônico da fase bcc ( $\beta$ ) e **(d)** indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h resfriada em água e envelhecida (500°C/6h).



**Figura 43-** (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase bcc ( $\beta$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida (500°C/6h).

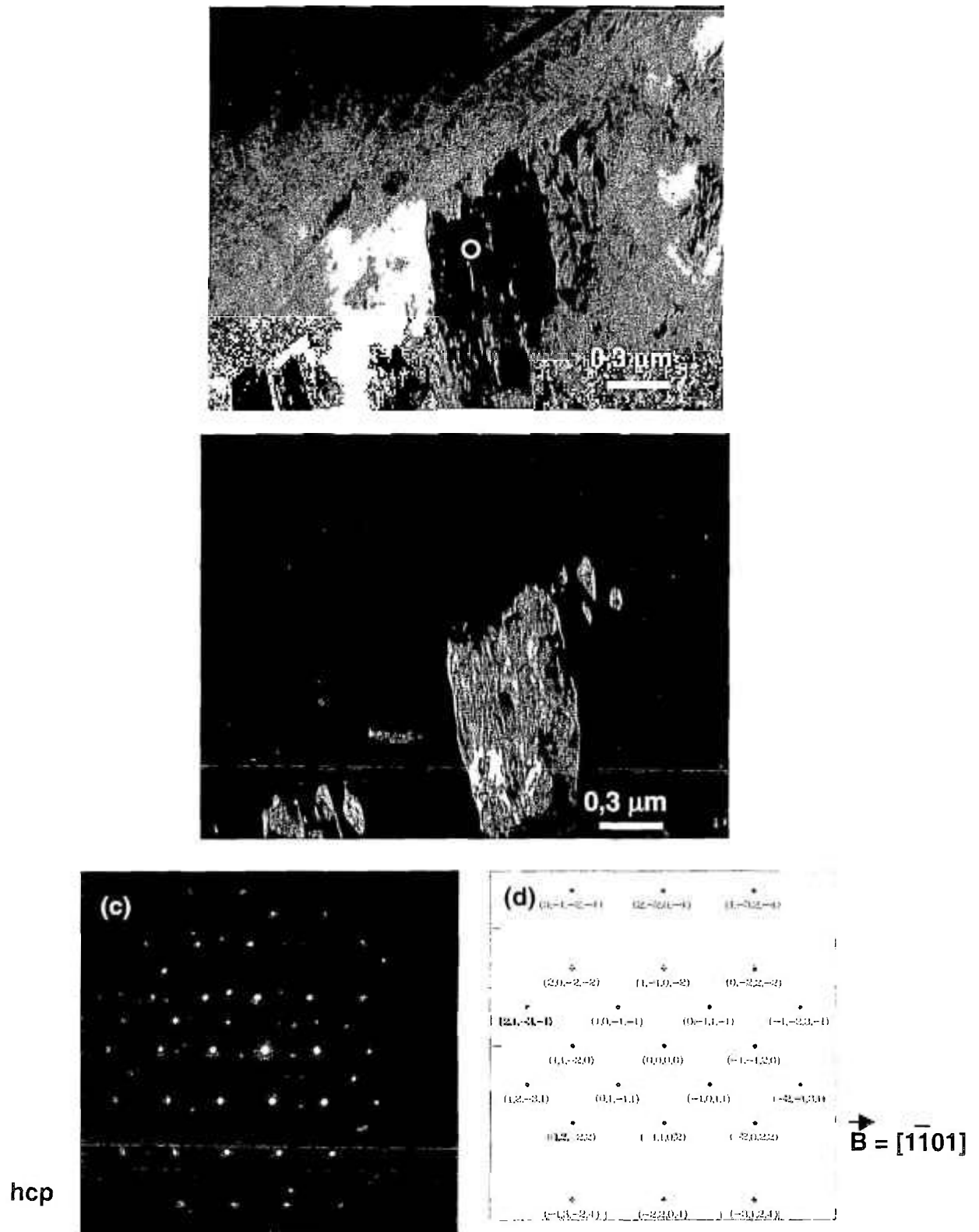
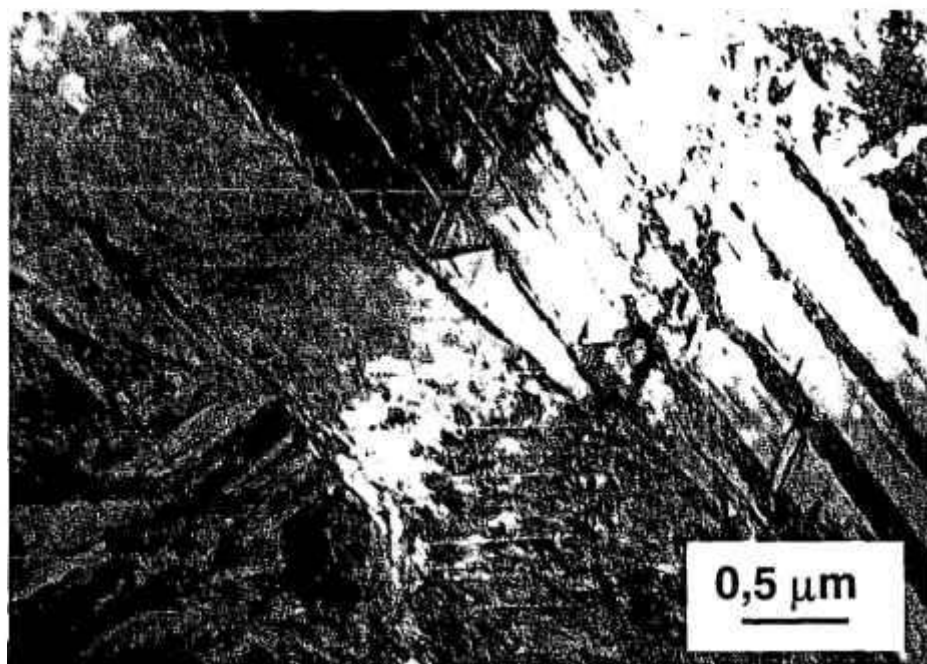


Figura 44 - (a) Campo claro, mostrando a região de análise; (b) Campo escuro; (c) padrão de difração eletrônico da fase hcp ( $\alpha'$ ) e (d) indexação DIFPAT; da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida (500°C/6h).

A microestrutura da liga tratada e envelhecida, segundo a literatura (Davidson et al., 1992) e (Robare et al., 1997), consiste de martensita estabilizada hcp ( $\alpha'$ ) com uma fina dispersão de precipitados  $\beta$  (bcc). Os resultados obtidos para a liga produzida envolvendo análise de raios-X, microscopia óptica, de varredura e de transmissão indicam que as fases presentes são  $\alpha$ ,  $\alpha'$  e  $\beta$

A FIGURA 45 mostra a micrografia eletrônica de transmissão (MET) da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000<sup>o</sup>/1h, resfriada em água e envelhecida a 500<sup>o</sup>C/1h, onde pode-se observar a microestrutura maclada  $\alpha'$  que é típica de ambos os materiais estabilizado (envelhecido) e não estabilizado (resfriado em água).



**Figura 45** - Micrografia eletrônica de transmissão (MET) da liga envelhecida mostrando a martensita geminada  $\alpha'$  (hcp).

Metais com estrutura hexagonal compacta (hcp) possuem menor capacidade de deformação em função dos poucos sistemas de deslizamento presentes. Desta forma, a ocorrência de acomodação da tensão mecânica internas via maclação é um fenômeno comum em metais hcp.

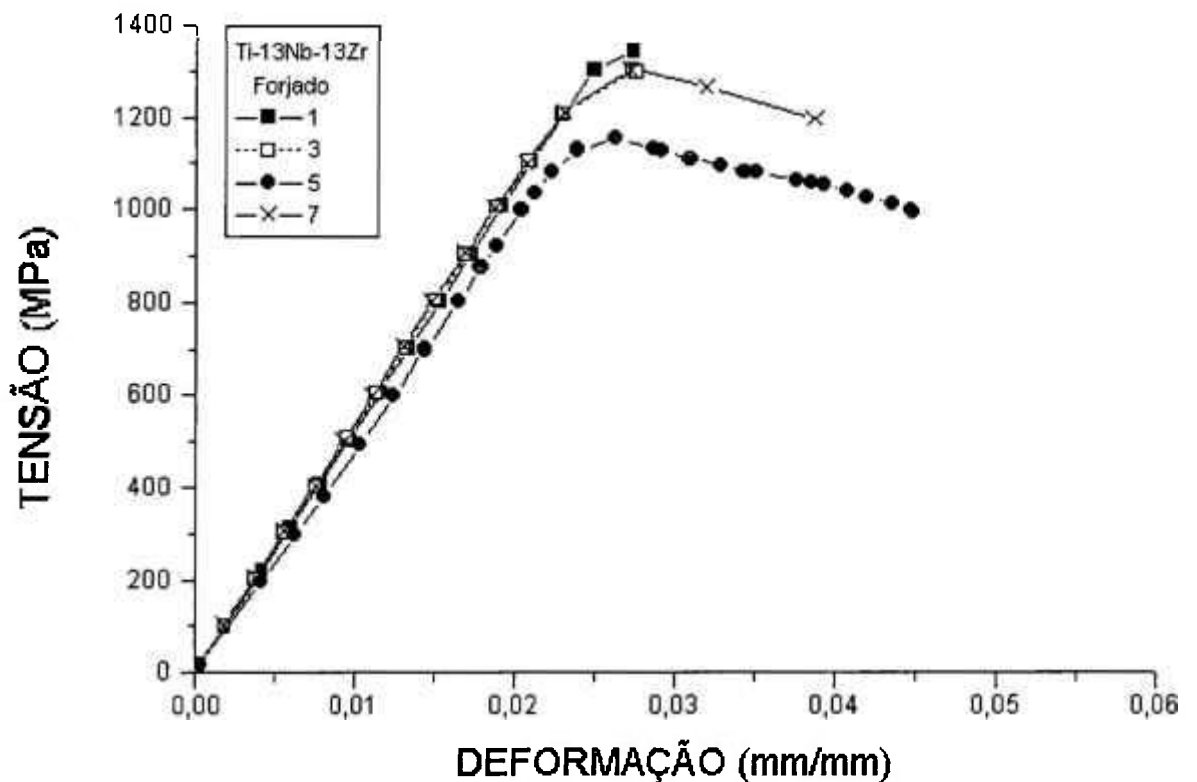
#### **4.2.2 – Propriedades mecânicas**

Os resultados relativos às propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr serão apresentados em dois conjuntos. O primeiro com os resultados para a liga na condição forjada a frio contendo uma redução em área de 52%; e para a mesma condição forjada, posteriormente tratada a 1000°C/1h e resfriada em água. O segundo com os resultados para a liga após forjamento a frio, com redução em área de 52%, tratada em duas condições: a 1000°C/1h e resfriada ao ar; e 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida 500°C/1h. Desta forma, foram confeccionados os oito corpos de prova para cada conjunto, quatro para cada condição, sendo retirados de um mesmo lingote.

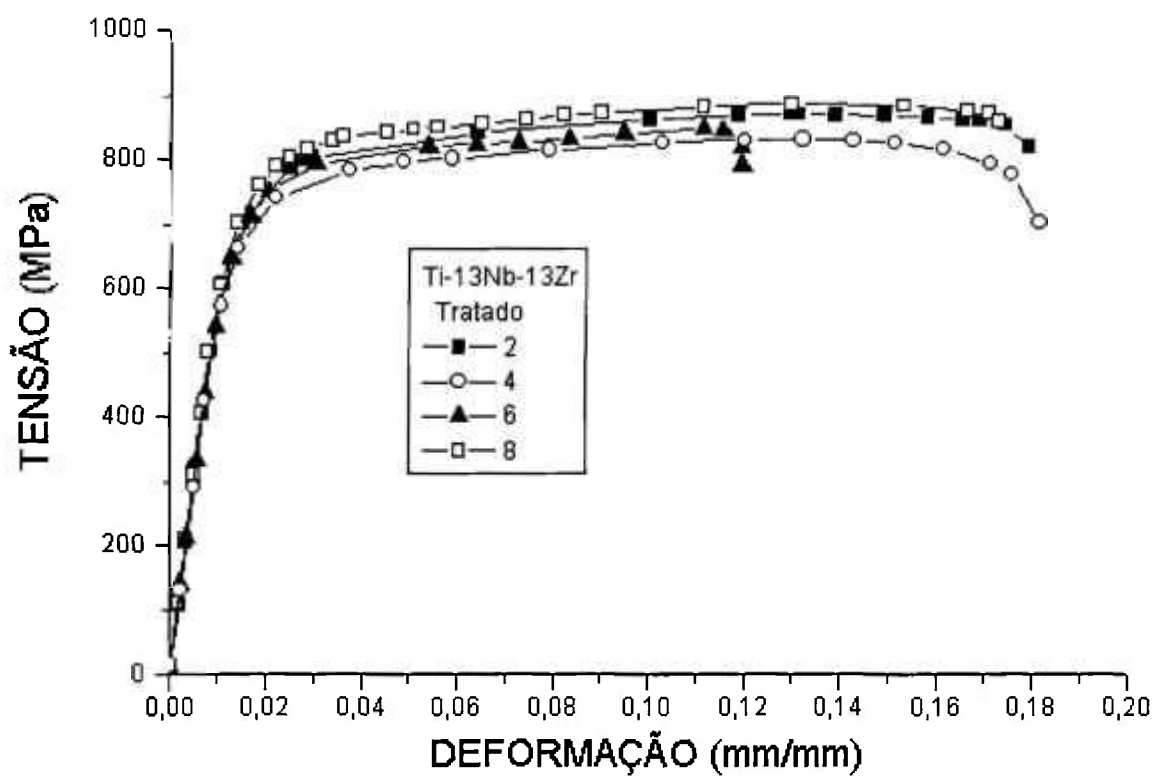
Objetivando garantir que os resultados representariam as propriedades do lingote, os corpos de prova foram confeccionados mantendo-se a sequência da sua posição na barra deformada, sendo numerados de 1 a 8. Para o primeiro

lingote os corpos de prova ímpares foram selecionados para a condição forjada e os pares para a outra condição. Para o segundo lingote os corpos de prova ímpares foram selecionados para a condição tratada a 1000°C/1h, resfriada em água e envelhecida 500°C/1h e os pares para a outra condição.

Os gráficos das FIGURA 46 e 47 mostram as curvas de tensão em função da deformação obtidas por meio do ensaio de tração para o primeiro conjunto, isto é, da liga nas condições forjada a frio (52% de redução em área) e forjada a frio, tratada 1000°C/1h e resfriada em água, respectivamente.



**Figura 46** – Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr com 52% de redução em área por forjamento rotativo a frio.



**Figura 47** – Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr com 52% de redução em área por forjamento rotativo a frio, tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.

Os resultados das propriedades mecânicas, como limite de resistência, limite de escoamento (0,2% off set), módulo de elasticidade e alongamento, obtidos das curvas das FIGURAS 46 e 47 encontram-se reunidos na TABELA 10.

**Tabela 10** – Propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr na condição forjada (52% redução de área); e forjada, tratada a 1000°C/1h e resfriada em água.

Propriedades Mecânicas	Ti-13Nb-13Zr Forjado					Ti-13Nb-13Zr Tratado				
	Cp1	Cp3	Cp5	Cp7	Média	Cp2	Cp4	Cp6	Cp8	Média
Limite de resistência (MPa)	1344	1330	1153	1309	1277	873	834	848	887	861
Limite de escoamento 0,2 off set (MPa)	1341	1295	1151	1301	1273	656	628	645	649	645
Módulo de elasticidade (GPa)	52,35	52,95	49,03	53,12	51,86	61,19	60,02	58,61	59,07	59,72
Alongamento (%)	2,7	2,7	3,8	4,4	3,4	17	17	12	17	16

Estes resultados apresentam valores próximos dos encontrados na literatura, com exceção do alongamento na condição forjada, conforme apresentado na TABELA 3. Estes resultados indicam que procedimento de fabricação adotado para a liga, envolvendo fusão a arco e os processamentos térmicos e mecânico adotados, permitiu a obtenção de um material homogêneo.

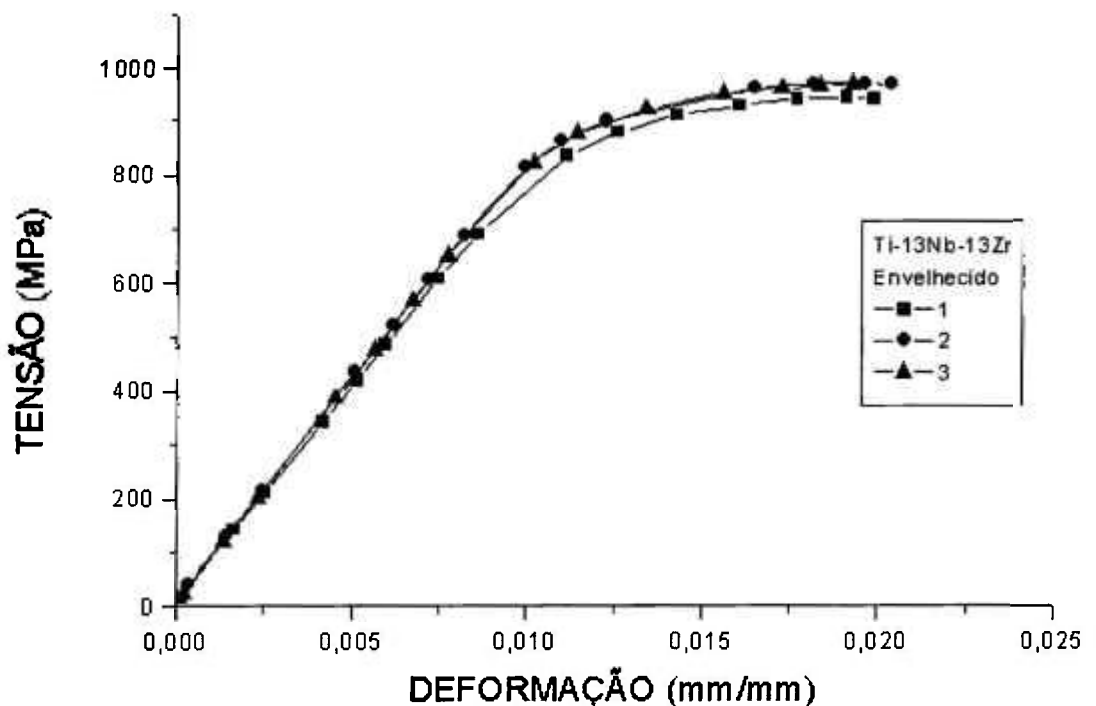
Dos valores mostrados na TABELA 10, nota-se que os limites de resistência e escoamento do material forjado diminuí de 1277 MPa e 1273 MPa para 861 MPa e 645 MPa após tratamento térmico a 1000°C/1h e resfriamento em água. Ao mesmo tempo ocorre um aumento da ductilidade, medida em termos da alongação de 3,4% para 16%. É interessante ressaltar que a alta ductilidade está associada a presença da estrutura martensítica  $\alpha'$  identificada item 4.1.1.2, assim como apresentado na literatura (Davidson et al., 1994) e (Niinimi, 1999).

Ainda sobre os dados da TABELA 10, observa-se também um aumento do módulo de elasticidade do material de 52 GPa para 60 GPa que está associado ao tratamento térmico realizado que promove um alívio das tensões produzidas pela deformação.

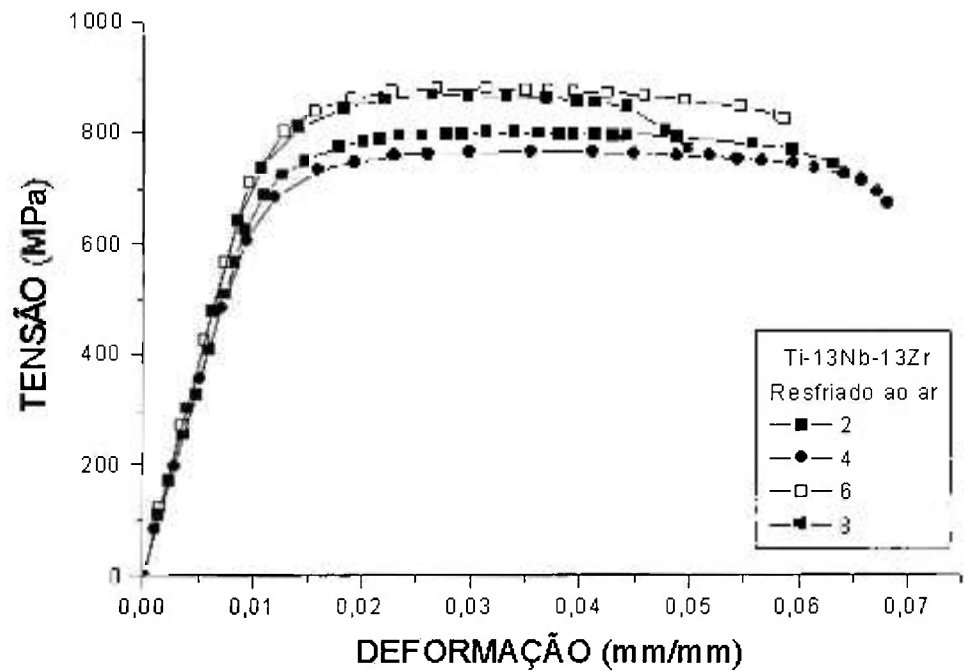
Passando aos resultados dos ensaios de tração do segundo conjunto nas seguintes condições de tratamento térmico após o forjamento a frio :

- tratada a 1000°C/1h + resfriada em água + envelhecida (500°C/6h);
- tratada a 1000°C/ 1h + resfriada ao ar;

os quais estão representados nas curvas de tensão em função da deformação mostradas nas FIGURAS 48 e 49.



**Figura 48** – Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h resfriada em água e envelhecida a 500°C/6h.



**Figura 49**– Gráfico das curvas de tensão em função da deformação em tração da liga Ti-13Nb-13Zr tratada a 1000°C/1h resfriada ao ar.

A TABELA 11 apresenta o resumo dos resultados das propriedades mecânicas, como limite de resistência, limite de escoamento (0,2% off set), módulo de elasticidade e alongação, obtidos dos resultados experimentais apresentados nas FIGURAS 47 e 48.

**Tabela 11** – Propriedades mecânicas da liga Ti-13Nb-13Zr, nas condições envelhecida (500°C/6h); e tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar.

Propriedades Mecânicas	Ti-13Nb-13Zr Envelhecido				Ti-13Nb-13Zr Resfriado ao ar				
	Cp1	Cp3	Cp5	Média	Cp2	Cp4	Cp6	Cp8	Média
Limite de resistência (MPa)	949	972	969	963	799	761	880	868	827
Limite de escoamento 0,2 off set (MPa)	879	916	918	910	723	684	798	776	745
Módulo de elasticidade (GPa)	80	82	83	82	68	67	75	74	71
Alongamento (%)	2	2	2	2	6	6	6	4	6

Os resultados de propriedades mecânicas obtidos para a liga nas condições tratada 1000°C/1h, resfriamento em água e envelhecimento 500°C/6h não reproduzem totalmente os valores encontrados na literatura (Davidson and Kovacs, 1990).

Convém observar que a têmpera realizada por Davidson e Kovacs ocorreu por meio de tratamento a temperatura de 825-875°C por 20 min e seguido de resfriamento em água. O envelhecimento foi realizado a temperatura de 500°C/6h. Nessas condições os limites de resistência e escoamento são respectivamente 917 e 796 MPa, enquanto seu módulo de elasticidade de 76,6 GPa e alongamento de 13%.

Comparando os resultados da liga na condição envelhecida com aqueles da condição tratada, TABELA 10, observa-se aumento no limite de resistência de 861 para 963 MPa e no limite de escoamento de 645 para 910 MPa. Estes aumentos estão associados à presença dos precipitados da fase  $\beta$  (bcc) na microestrutura da liga tratada e envelhecida, apresentada no item 4.2.1.4. Os precipitados  $\beta$  (bcc) provocam o endurecimento do material reduzindo a sua ductilidade, medida por meio da variação do alongamento de 16 para 2%, e aumentando o módulo de elasticidade de 60 para 82 MPa.

Também para a condição tratada a 1000°C/1h e resfriada ao ar, cuja microestrutura encontrada é semelhante à  $\alpha+\beta$  característica da liga Ti-6Al-4V, ocorre uma redução acentuada no alongamento de 16 para 6%, significando uma redução de ductilidade.

A TABELA 12 apresenta os resultados obtidos do ensaio de microdureza para a liga Ti-13Nb-13Zr, nas quatro condições em que foram realizados os estudos de caracterização microestrutural e mecânica.

**Tabela 12** - Resultados do ensaio de microdureza da liga Ti-13Nb-13Zr.

Como Fundida HV	1000°C/1h + água HV	1000°C/1h + ar HV	1000°C/1h + água e Envelhecida* HV
319,0	275,4	279,9	258,2
285,4	276,9	279,9	288,6
296,0	279,9	258,2	242,6
316,2	278,4	277,6	248,8
296,3	270,2	272,4	245,2
300,2	294,3	270,2	251,6
302,8	328,5	276,1	257,2
<b>Média = 302,3</b> <b> d  = 9,1</b>	<b>Média = 286,2</b> <b> d  = 12,6</b>	<b>Média = 273,5</b> <b> d  = 4,9</b>	<b>Média = 256,0</b> <b> d  = 10,3</b>

\* Condição do envelhecimento 500°C/6h

|d| é o desvio médio.

Na TABELA 12 observa-se uma diminuição suave dos valores se comparados entre si da esquerda para direita.

Materiais de menor dureza tendem a uma maior taxa de encruamento durante o ensaio de tração. Isto deve-se ao fato de que em condições não estáticas tem-se a influência da movimentação e interação das discordâncias, o que se verifica comparando os resultados de microdureza aos valores de alongamento das respectivas condições.

### **4.3 – Avaliação biológica**

#### **4.3.1 – Teste de citotoxicidade "in vitro"**

A TABELA 13 mostra os resultados dos testes de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr para as diferentes concentrações de extrato utilizadas, por exemplo, para concentração de 100% dos extratos na placa de cultura das CHO-k<sub>1</sub> foram encontradas 100 colônias crescidas enquanto para as placas de cultura do Ti, da solução fenol 0,02% e da liga Ti-13Nb-13Zr foram contadas, respectivamente, 65, 0 e 68 colônias crescidas.

Os valores apresentados na TABELA 13 são percentuais relativos ao número de colônias da placa de controle que contém apenas as células CHO-k<sub>1</sub> diluídas no meio de cultura, isto é, 100% refere-se ao número de colônias que crescem nesta placa no período de teste, os demais números de colônias visíveis das outras placas são percentuais relativos a este.

**Tabela 13** – Teste de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr: percentual do número de colônias formadas nas várias concentrações dos extratos.

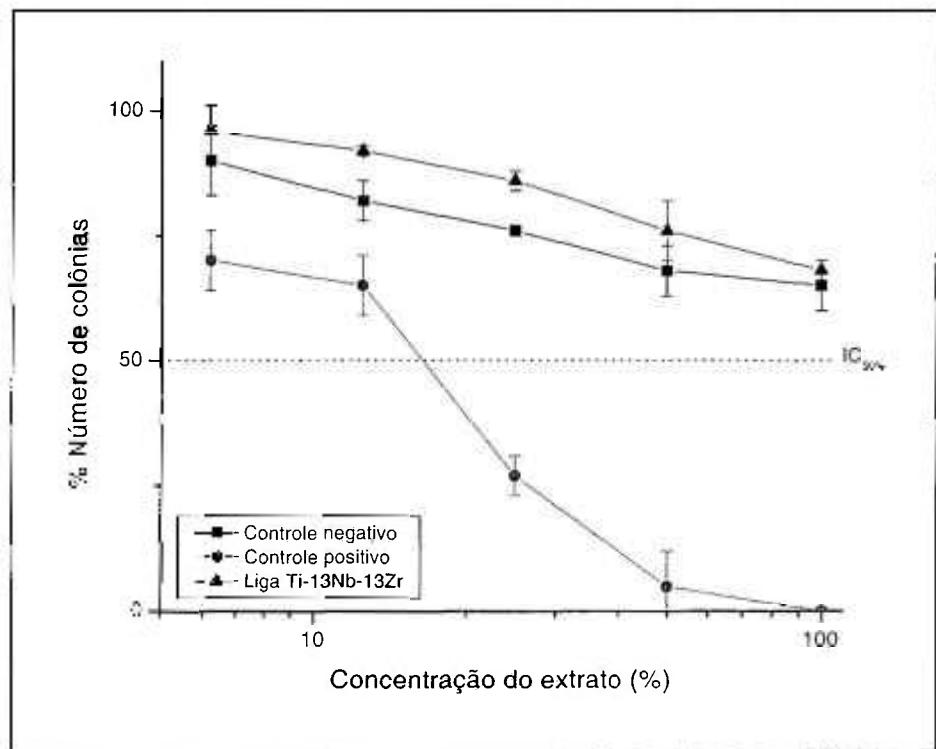
Teste de Citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr					
Amostra	Concentração do Extrato	C-	C+	Ti-13Nb-13Zr	Placa de controle
		187	0	187	279
	100	172	0	187	265
		173	0	182	273
Média		177	0	185	272
Desvio padrão		8	0	3	7
% d p		5	0	2	3
%viabilidade		65	0	68	100
		181	15	192	
	50	176	13	209	
		195	14	217	
Média		184	14	206	
Desvio padrão		10	1	13	
% d p		5	7	6	
%viabilidade		68	5	76	
		205	77	237	
	25	207	72	227	
		207	73	234	
Média		206	74	233	
Desvio padrão		1	3	5	
% d p		1	4	2	
%viabilidade		76	27	86	
		220	167	250	
	12,5	217	175	247	
		235	188	251	
Média		224	177	249	
Desvio padrão		10	11	2	
% d p		4	6	1	
%viabilidade		82	65	92	
		249	190	256	
	6,25	238	196	264	
		250	185	266	
Média		246	190	262	
Desvio padrão		7	6	5	
% d p		3	3	2	
%viabilidade		90	70	96	

C- é controle negativo (Ti)

C+ é controle positivo (solução fenol 0,02%)

Dos valores mostrados na TABELA 13, observa-se que à medida que diminui a concentração dos extratos ocorre um aumento do número de colônias, e comparando os valores da liga Ti-13Nb-13Zr com os valores do controle negativo (Ti) vê-se que são relativamente semelhantes.

Os potenciais citotóxicos foram estimados quantitativamente como  $IC_{50\%}$  (Índice de Citotoxicidade) o qual é facilmente determinado a partir da projeção dos dados da TABELA 13 em um gráfico semi-logarítmico, como verificado na FIGURA 50. Onde a linha pontilhada,  $IC_{50\%}$ , é a concentração de extrato necessária para matar a metade da população de células ou a concentração do extrato que anula a formação de colônia para 50% do valor de controle.



**Figura 50** - Ensaio de supressão de colônias no teste de citotoxicidade da liga Ti-13Nb-13Zr.

Os resultados para o controle negativo (Ti) mostram não existir efeitos citotóxicos, isto é, a sua curva não intercepta a linha  $IC_{50\%}$ . Para o controle positivo (solução 0,02% fenol), o mesmo não é observado. Quanto a amostra da liga Ti-13Nb-13Zr, esta não apresenta efeito citotóxico e seu resultado apresenta-se semelhante ao do controle negativo (Ti).

A literatura apresenta a utilização mais freqüente do método de difusão em agar empregando células do tecido conectivo de camundongos (NCTC clone - L929) nos estudos de avaliação da citotoxicidade de biomateriais (ASTM STP810, 1983) e (Hanks et al., 1996). Neste trabalho foram utilizadas células do ovário de hamster chinês (CHO- K<sub>1</sub>) pelo método de inibição da formação de colônias por apresentarem resultados de sensibilidade equivalente e serem de mais fácil manuseio, além de serem células de mamíferos, indicadas para os testes na ISO 10993-5 (Rogerio, S. O. et al., 1998) e (Sepulveda et al. , 2000).

Este resultado favorável permitiu que se passe para a próxima etapa de avaliação de biocompatibilidade envolvendo testes "*in vivo*".

#### **4.3.2 – Teste de biocompatibilidade "*in vivo*"**

As FIGURAS 51 à 54, a seguir, ilustram as micrografias obtidas, através da microscopia de fluorescência, das regiões de interface implante/osso.

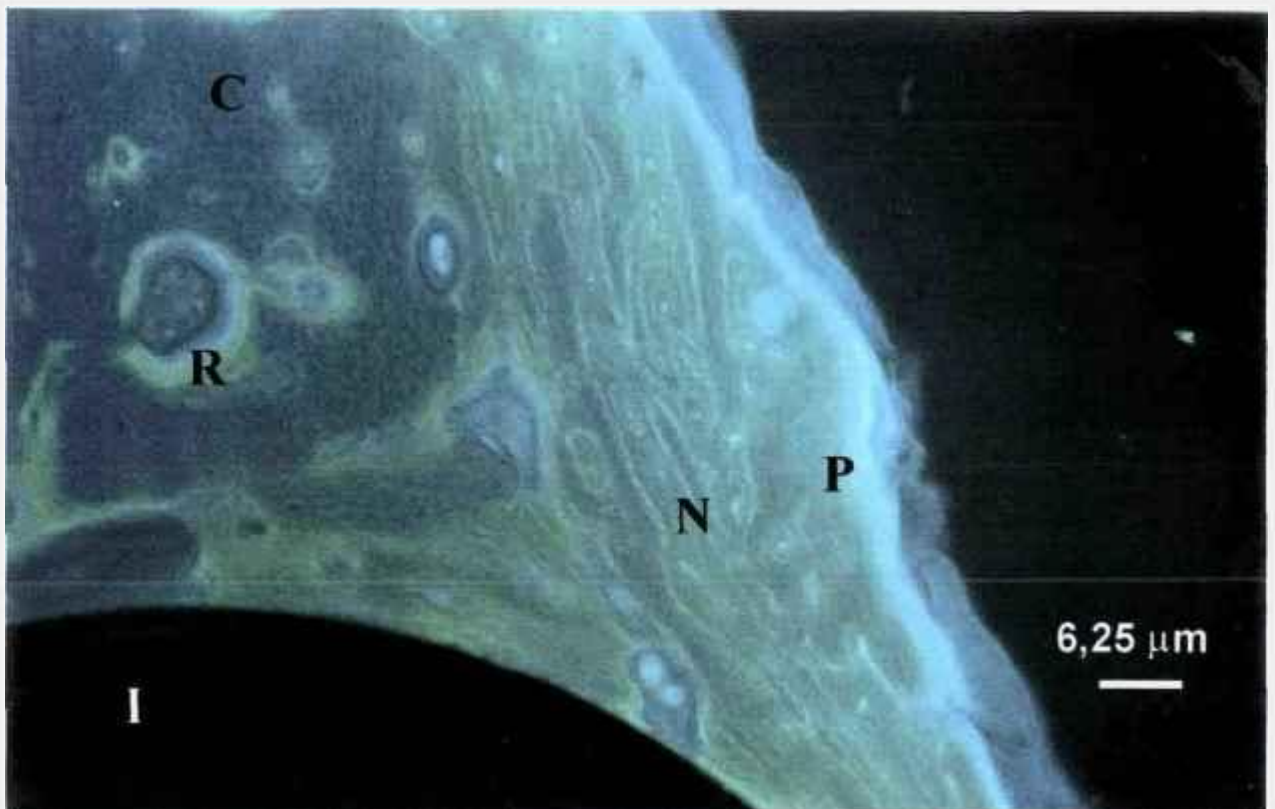
A Figura 51 apresenta a micrografia obtida por fluorescência empregando luz ultravioleta da seção transversal do implante introduzido na camada compacta da tíbia, após 8 semanas de implantação. São observadas áreas de osso

compacto **(C)** com sinais de remodelação **(R)** e áreas de diferentes intensidades de radiação indicando diferentes períodos de deposição óssea. O perióstio apresenta-se de forma íntegra **(P)** garantindo a neoformação óssea **(N)** mesmo na superfície exposta do implante **(I)**.

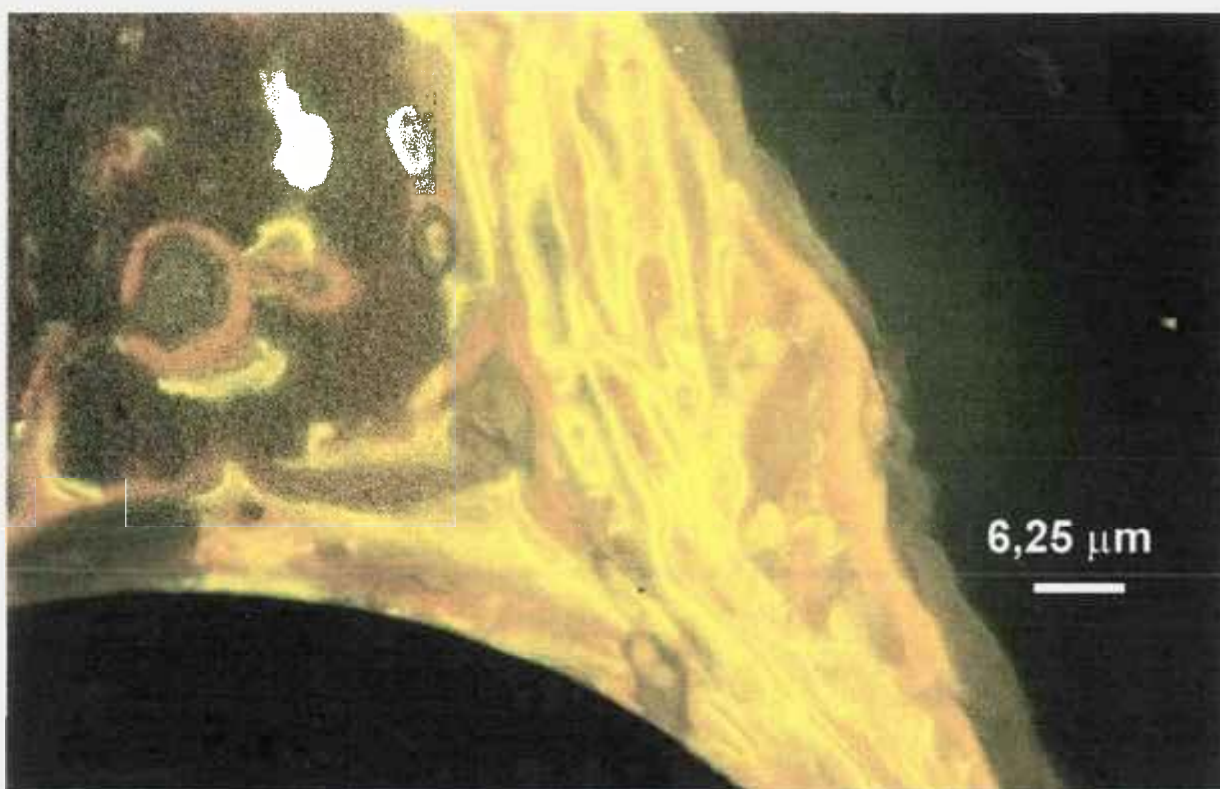
Na Figura 52 observa-se a interface do implante e osso após 8 semanas por meio de microscopia de fluorescência, da mesma região da FIGURA 51, onde pode-se verificar a presença de três cores diferentes representando as diferentes etapas de formação óssea, tanto nas zonas de neoformação como de remodelação. Onde as áreas com deposição óssea na época de aplicação da Alizarina são marrom terra, da Calceína são verdes e da tetraciclina são amarelas

Para o implante inserido transversalmente à camada compacta da tíbia a micrografia de fluorescência, da FIGURA 53, mostra como área escura o osso da camada compacta preexistente. Na interface observa-se áreas de deposição de tecido ósseo em diferentes etapas e na área antiga do osso, áreas de remodelação óssea também em diferentes etapas.

A FIGURA 54 refere-se à micrografia de fluorescência para outro implante inserido transversalmente à camada compacta da tíbia. A área escura também corresponde ao osso preexistente possuindo área de neoformação óssea. Observa-se que nesta lâmina foi detectada uma área em que houve grande deposição de tecido neoformado na época da Alizarina, próximo ao osso compacto e da Tetraciclina na área da interface implante/osso e regiões protegidas por perióstio **(N)**.



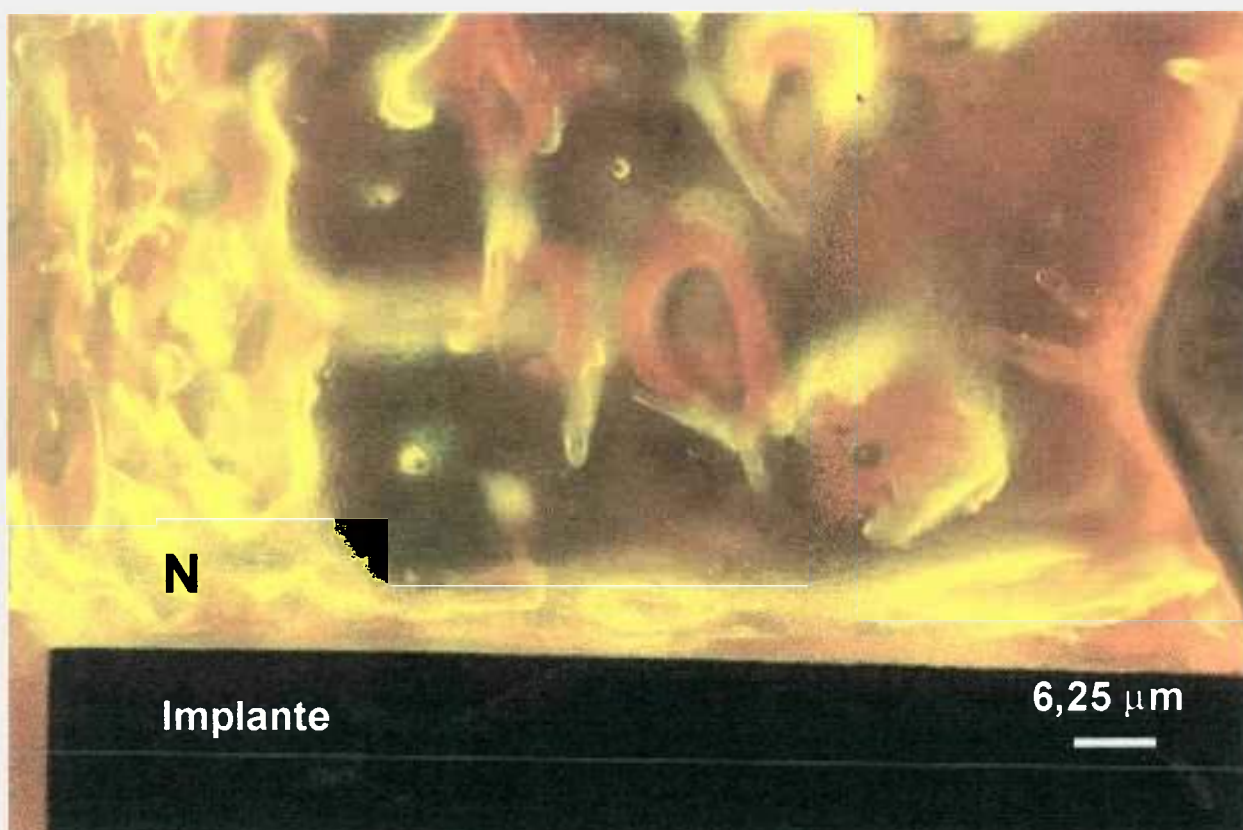
**Figura 51** – Micrografia da interface do implante e osso após 8 semanas através de luz ultravioleta, mostrando as áreas de osso compacto (**C**) com sinais de remodelação (**R**) e áreas de diferentes intensidades de radiação indicando diferentes períodos de deposição óssea. Seção transversa do implante em leito da camada compacta da tíbia. O perióstio íntegro (**P**) garantiu a neoformação óssea (**N**) mesmo na superfície exposta do implante (**I**).



**Figura 52** - Micrografia da interface do implante e osso após 8 semanas através de microscopia de fluorescência, mesma região da FIGURA 51 com fluorescência. Áreas com deposição óssea na época de aplicação da Alizarina (marrom terra), da Calceína (verde) e da tetraciclina (amarela), mostrando as diferentes etapas, tanto nas zonas de neoformação como de remodelação do tecido ósseo.



**Figura 53** – Micrografia de fluorescência do implante inserido transversalmente na camada compacta da tíbia. A área escura corresponde ao osso da camada compacta preexistente. Na interface observa-se áreas de deposição de tecido ósseo em diferentes etapas e na área antiga do osso, áreas de remodelação óssea também em diferentes etapas.



**Figura 54** – Micrografia de fluorescência do implante inserido transversalmente na camada compacta da tíbia. A área escura corresponde ao osso preexistente com área de neoformação óssea. Observa-se que nesta lâmina foi detectada uma área em que houve grande deposição de tecido neoformado na época da Alizarina, próximo ao osso compacto e da Tetraciclina na área da interface implante/osso e regiões protegidas por perióstio (N).

Da aplicação da técnica de contagem para cada lâmina preparada seguindo a coloração: vermelho tijolo, amarelo e verde, foram obtidos os valores apresentados nas TABELAS 14, 15, 16 e 17, a seguir representando as contagens realizadas para os implantes longitudinal e transversal do material forjado e trefilado, respectivamente.

**Tabela 14** - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material forjado implantado longitudinalmente.

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	∑Áreas/5 mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Longitudinal Neg.3-C3 Direito Lamina 2	Marrom	548	479	356	352	380	423	39,4	14,1
	Verde	555	323	300	329	357	373	34,7	12,4
	Amarelo	379	249	230	285	245	278	25,9	9,3
	Área Total	1482	1051	886	966	982	1073	100	35,8

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	∑Áreas/5 mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Longitudinal Neg 5-C3 Esquerdo Lamina 2	Marrom	341	279	310	370	380	336	31,0	11,2
	Verde	347	353	334	372	424	439	40,5	14,6
	Amarelo	290	279	290	332	353	309	28,5	10,3
	Área Total	978	911	934	1074	1154	1084	100	36,1

As contagens foram feitas em número de cinco vezes para cada uma das áreas, marrom-terra, verde e amarela, cujos valores encontram-se listados acima (TABELA 14) nas colunas A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, ..., A<sub>5</sub>. A média destes valores encontra-

se na coluna  $\Sigma \text{Áreas}/5$ , onde a última linha representa a área média contada de **1073 e 1084 mm<sup>2</sup>**. Estes valores em relação a área total de 3000 mm<sup>2</sup> estão na última coluna da tabela e correspondem a **35,8 e 36,1%** respectivamente. Para as demais tabelas mantém-se as mesmas definições descritas para a TABELA 14.

**Tabela 15** - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material forjado implantado transversalmente.

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	$\Sigma \text{Áreas}/5$ mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Transversal Neg10-C3 Direito Lamina 9	Marrom	482	440	456	446	468	458	44,2	15,3
	Verde	214	245	234	236	237	233	22,4	7,8
	Amarelo	340	350	400	327	317	347	33,4	11,6
	Área Total	1036	1035	1090	1009	1022	1038	100 %	34,7%

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	$\Sigma \text{Áreas}/5$ mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Transversal Neg12-C3 Esquerdo Lamina 9	Marrom	1000	1000	992	1050	1023	1013	60,7 %	33,8%
	Verde	340	313	337	373	368	346	20,7 %	11,5%
	Amarelo	224	340	350	325	314	311	18,6 %	10,4%
	Área Total	1564	1653	1679	1748	1705	1670	100 %	55,7%

**Tabela 16** - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material trefilado implantado transversalmente.

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	ΣÁreas/5 mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Transversal Neg21-C6 Esquerdo Lamina 3	Marrom	718	667	641	660	648	666,8	22,9	22,3
	Verde	865	893	873	844	854	865,8	29,8	28,8
	Amarelo	1325	1348	1394	1404	1406	1375,4	47,3	45,8
	ΣÁreas	2908	2908	2908	2908	2908	2908,0	100,0	96,9

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	ΣÁreas/5 mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Transversal Neg25-C6 Direito Lamina 3	Marrom	1434	1443	1430	1448	1483	1447,6	49,9	48,3
	Verde	572	562	570	562	577	568,6	19,6	18,9
	Amarelo	894	895	900	890	840	883,8	30,5	29,5
	ΣÁreas	2900	2900	2900	2900	2900	2900,0	100,0	96,7

**Tabela 17** - Planilha de dados morfométricos representando os valores obtidos para o material trefilado implantado longitudinalmente.

Amostra	Osso	A <sub>1</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>2</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>3</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>4</sub> mm <sup>2</sup>	A <sub>5</sub> mm <sup>2</sup>	ΣÁreas/5 mm <sup>2</sup>	Área Relativa %	Área Rel. Total %
Filme 4 Longitudinal Neg16 C6 Lamina 1	Marrom	162	160	157	171	169	163,8	8,0	5,5
	Verde	677	654	680	664	674	669,8	32,8	22,3
	Amarelo	1201	1226	1203	1205	1197	1206,4	59,2	40,2
	ΣÁreas	2040	2040	2040	2040	2040	2040,0	100,0	68,0

Comparando os valores das porcentagens apresentadas nas TABELAS

14, 15, 16 e 17, verifica-se que as osteonas têm calcificação intermitente, ou seja,

na coluna da área relativa existe uma variação quanto ao período de maior crescimento ósseo. Isto significa que na inserção de um implante deve-se aguardar o amadurecimento da deposição mineral de toda a osteona, o que se verifica após um período de 8 semanas para os coelhos. Como o metabolismo do coelho é 4 vezes mais rápido que o do ser humano, para este deve-se aguardar 32 semanas (dados da veterinária – não contido na literatura).

Observa-se também que a deposição óssea varia de região para região, isto é, para um mesmo coelho o percentual relativo de osso novo apresenta variações, isto ocorre em função do metabolismo ósseo diferenciado para cada área.

Os resultados apresentam ainda diferenças nos valores pouco significativas com relação à comparação da quantidade de osso novo entre os implantes longitudinal e transversal. Isto é, verificou-se osteocondução nos dois métodos de implantes, paralelo e perpendicular à cortical.

Além disso, observa-se também que a quantidade de osso novo contada para os implantes de menor diâmetro (trefilados) são maiores, o que poderia estar associado ao seu acabamento superficial diferente. Contudo, está relacionado também ao fato de que a atividade traumática no implante de menor diâmetro é menor, pois afeta menos a microcirculação da área.

## 5 – CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir dos experimentos realizados neste trabalho, permitem as seguintes conclusões:

1) O processo adotado para fabricação da liga Ti-13Nb-13Zr empregando forno a arco com eletrodo não consumível e utilizando como material de partida chapas dos elementos Ti, Nb e Zr de alta pureza, permitiu a obtenção de um lingote com estrutura bruta não homogênea mas de composição uniforme.

2) Após tratamento térmico a 1000°C/1h e resfriamento em água obteve-se uma microestrutura homogênea martensítica  $\alpha'$  (hcp), a qual foi facilmente trabalhada a frio tanto por forjamento rotativo a frio, até uma redução em área de 74%, quanto por usinagem para confecção dos corpos de prova para os ensaios de tração. Em ambos foi observado um bom acabamento superficial.

3) A liga Ti-13Nb-13Zr na condição forjada, tratada a 1000°C/1h e resfriada em água possui melhores características mecânicas: limite de resistência de 861 MPa, limite de escoamento de 645Mpa, módulo de elasticidade de 60 GPa e alongamento de 16%.

5) O processo de forjamento da liga permite obter um diâmetro final próximo ao desejado para usinagem de pinos para implantes dentais implicando menor desperdício.

6) Quanto à ductilidade, medida por meio do alongamento, a condição de tratamento onde o seu valor obtido esteve entre 10 e 20%, limites encontrados para ligas de Ti desenvolvidas para aplicações cirúrgicas, foi a tratada a 1000°C/1h e resfriada em água. A ductilidade obtida de 16% está associada à microestrutura martensítica  $\alpha'$  presente para esta condição de tratamento.

7) A redução nos valores de ductilidade, medidos pelo alongamento obtido dos ensaios de tração, encontra-se associada à presença da fase  $\beta$  a qual pode ser confirmada na caracterização microestrutural. Por exemplo, quando a microestrutura é martensítica  $\alpha'$  (tratada 1000°C/1h e resfriada em água) o alongamento é de 16%, para microestrutura  $\alpha'$ ,  $\alpha$  e  $\beta$  (tratada 1000°C/1h e resfriada ao ar) ocorre uma redução para 6% no valor de alongamento.

8) Os valores do módulo de elasticidade obtidos das curvas de tração mostram que o menor é de 52 GPa para o material forjado com 52% de redução em área. Este é um valor considerado alto em relação ao do osso porém, é bem menor que o da liga Ti-6Al-4V (115 GPa). De modo geral, os valores obtidos encontram-se próximos dos apresentados na literatura para condições semelhantes.

9) Quanto aos valores obtidos de limite de resistência e de limite de escoamento estes encontram-se entre 1153 a 827 MPa e 1273 a 645 MPa, respectivamente, são comparáveis aos da literatura, e não são considerados fatores críticos por estarem acima dos valores de solicitação tanto em aplicações ortopédicas como dentais.

10) Os resultados do teste da avaliação de biocompatibilidade *“in vitro”* para a liga Ti-13Nb-13Zr apresenta valores de percentual do número de colônias formadas relativamente semelhantes àqueles do controle negativo (Ti), para todos os valores de concentração dos extratos, indicando que a liga é não citotóxica.

11) Os resultados do teste de biocompatibilidade *“in vivo”* mostram as diferentes etapas de deposição óssea tanto nas zonas de neoformação como nas de remodelação do tecido ósseo, não encontrados na literatura até o momento, indicando que a presença do implante não prejudicou e ativou a regeneração óssea.

12) A deposição óssea varia de região para região em função do metabolismo ósseo característico de cada área. O resultado do implante na região de menor atividade não pode ser considerado diferente dos demais. Este resultado indica que mesmo em condições menos favoráveis a remodelação não foi prejudicada.

13) A liga Ti-13Nb-13Zr obtida possui características físicas e biológicas apropriadas para indicar a utilizada em aplicações médicas

## 6 – PROPOSTA DE TRABALHOS FUTUROS

As sugestões para trabalhos futuros estão relacionadas com a complementação da caracterização mecânica e biofuncional da liga Ti-13Nb-13Zr, como:

1) Reduzir do custo de produção da liga Ti-13Nb-13Zr avaliando uma rota de fusão a partir de esponjas de Ti e Zr.

2) Estudar as propriedades de fadiga de alto ciclo e baixo ciclo, simulando ambiente de fluido corpóreo.

3) Realizar estudos de corrosão e fadiga sob corrosão;

4) Avaliar sua aplicação como material de implante dental, por meio de testes “*in vivo*” específicos, isto é, em condições não estéreis;

5) Dar continuidade ao processo de trefilação da liga para obter fios de diâmetros menores que 0,5 mm, para aplicação em odontologia.

6) Estudar a liga Ti-35,3Nb-5,1Ta-7,1Zr, principalmente quanto à deformação a frio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANKEM, S. ; GREENE, C. A.** Recent developments in microstructure/property relationships of beta titanium alloys. *Materials Science and Engineering A*, v.263, p. 127-131,1999.
- ANSELME, K.; LINEZ, P.; BIERELLE, M.; LE MAGUER, D.; LE MAGUER, A.; HARDOUIN, P.; HILDEBRAND, H. F.; IOST, A.; LEROY, J. M.** The relative influence of the topography and chemistry of TiAl6V4 surfaces on osteoblastic cell behaviour. *Biomaterials*, v. 21, p. 1567-1577, 2000.
- BANIA, P.J.** Beta Titanium Alloys and their Role in the Titanium Industry. *Journal of Metals*, v.46, n.7, p.16-19, 1994.
- BANNON, B. P. ; MILD, E. E.** Titanium alloys for biomaterial application: an overview. *Titanium Alloys in Surgical Implants*, 1983. p. 7-15.(ASTM STP 796)
- BIANCO, P. D.; DUCHEYNE, P. ; CUCKLER, J. M.** Systemic titanium levels in rabbits with a titanium implant in the absence of wear. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 8, p. 525-529, 1997.
- BLACK, J.** *Orthopaedic biomaterials in research and practice*. London, 1988.
- BLACK, J.** *Biological performance of materials fundamentals of biocompatibility*. New York: Marcel Dekker, 1992.

- BOSCHI, A. O.** O que é necessário para que um material possa ser considerado biomaterial. In: CONGRESSO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE METALURGIA E MATERIAIS, 50., Agosto 1-4, 1995, São Pedro. *Anais...* São Paulo: ABM, 1996. v.6, p. 43-53.
- BOSE, A .** Particulate – bases biomaterials: Processing and applications. *Reviews in Particulate Materials*, v. 1, p.161-222, 1993.
- BROWN, A. S.** *Cell Culture Test Methods*. Ed. American Society for Testing and Materials, 1983. ASTM STP 810.
- COLLINGS, E.W.** *The physical metallurgy of titanium alloys*. Metals Park, OH: American Society For Metals, 1984. (ASM Series in Metal Processing Gegel, H. L. , editor)
- CUDA, J.; MCKINNON, R. G.; BACKER, P.** Gamma irradiators. *Radat. Prot. Manage*, v.6 , n.1, p.33-42, 1989.
- CULLITY, B. D.** *Elements of X-Ray Diffraction*. ADDISON-WESLEY, Ed. 1978. P. 506-507.
- DAVIDSON, James A.; KOVACS, Paul.** *Biocompatible low modulus titanium alloy for medical implants*. US Patent. 5.169.597. Dec. 8, 1992.
- DAVIDSON, J. A. ; MISHRA, A.K; KOVASC, P.; POGGIE, R. A.** New surface-hardened, low-modulus, corrosion-resistant Ti-13Nb-13Zr alloy for total hip arthroplasty. *Bio-Medical Materials and Engineering*, v. 4, p.231-243, 1994.
- DONACHIE Jr., M. J.** *Titanium: a technical guide*. Metals Park, OH: ASM International, 1988.
- DUERIG, T. W.; WILLIAMS, J. C.** Overview: microstructure and properties of beta titanium alloys. *Beta Titanium Alloys in the 1980's*, p. 19-67. 1980.

- EYLON, D.; VASSEL, A.; COMBRES, Y.; BOYER, R. R.; BANIA, P. J.; SCHUTZ, R. W.** Issues in the development of beta titanium alloys. *Journal of Metals*, p. 14-15, July 1994.
- GIORDANI, E. J.; GUIMARÃES, V. A.; FERREIRA, I.** Influência do meio fisiológico artificial na resistência à fadiga de dois aços inoxidáveis austeníticos utilizados na fabricação de implantes ortopédicos. In: CBECIMAT- CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 14, São Pedro, 3-6 dez 2000. Anais... 12p (a ser publicado).
- GOODMAN, S. B.; DAVIDSON, J. A.; FORNASIER, L. V. ; MISHRA, A. K.** Histological response to cylinders of low modulus titanium alloy (Ti-13Nb-13Zr) and a wear-resistant zirconium alloy (Zr-2,5Nb) implanted in the rabbit tibia. *Journal of Applied Biomaterials*, v. 4, p. 331-339, 1993.
- GOTMAN, J.** Characteristics of metals used in implants. *Journal Endourol.*, v.11, n. 6, p. 383-389, 1997.
- HANKS, C. T.; WATAHA, J. C.; SUN, Z.** In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater*, v. 12, p. 186-193, 1996.
- HENCH, L.L. ; WILSON, J.** *An Introduction to Bioceramic*. Singapura: World Scientific, 1993. Cap 1, p. 1-23. (Advanced Series in Ceramics, 1).
- HENCH, L.L.** Introduction to biomaterials. *Anales de Quimica*, v. 93, p. S3-S5, 1997.
- HOEPPENER, D. W.; CHANDRASEKARAN, V.** Fretting in orthopaedic implants: a review. *Wear*, v. 173, p. 189-197, 1994.
- HOMSY, C. A.** Bio-compatibility in selection of materials for implantations. *Orthop. Clin. N. Am.* v. 412, p. 341-356, 1973.

**INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.** ISO-TC194-WG1.  
*Systematic Approach to Biological Evaluation Draft International Standard.*  
1990.

**INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.** ISO 10993.  
*Biological evaluation of medical devices. Part 1: Guidance on selection of tests.* 1993.

**INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.** ISO 10 993-5.  
*Biological evaluation of medical devices. Part.5: Tests for Cytotoxicity: in vitro methods.* 1993.

**INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.** ISO 10993-6.  
*Biological evaluation of medical devices. Part 6: Tests for local effects after implantation.* 1993.

**KHAN, M. A.; WILLIAMS, R.L. ; WILLIAMS, D.F.** In-vitro corrosion and wear of titanium alloys in the biological environment. *Biomaterials*, v. 17, p. 2117-2126, 1996.

**KHAN, M. A.; WILLIAMS, R.L. ; WILLIAMS, D.F.** The Corrosion Behaviour of Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb and Ti-13Nb-13Zr in Protein Solutions. *Biomaterials*, v.20, p.631-637, 1999.

**KÖNIG Jr, B.; BECK, T. J.; KAPPERT, H. F.; KAPPERT, C. C.; MASUKO, T. S.**  
A study of different calcification areas in newly formed bone 8 weeks after insertion of dental implants in rabbit tibias. *Ann Anat*, v. 180, p. 471-475, 1998.

**KURODA, D.; NIINOMI, M.; MORINAGA, M.; KATO, Y. ; YASHIRO, T.** Design and mechanical properties of new  $\beta$  type titanium alloys for implant material. *Materials Science Engineering A*, v. 243, p. 244 – 249, 1998.

- LEITÃO, E.; BARBOSA, M. A. ; GROOT, K.** In vitro testing of surface-modified biomaterials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 9, p. 543 – 548, 1998.
- LEREINI, P.** Mechanical properties of cortical and cancellous bone. *Acta Orthop. Scand*, v. 59, n. 2, p. 215-216, 1988.
- LONG, H. J. R. M.** Review titanium alloys in total joint replacement – a Materials science perspective. *Biomaterials*, v. 19, p. 1621 – 1639, 1998.
- LOPEZ, G. D.** Biodeterioration and corrosion of metallic implants and prosthetic devices. *Medicine Buenos Aires*, v. 53, n. 3, p.260-274, 1993.
- McKAY, G. C.; MAcNAIR, R.; MAcDONALD, C.; GRANT, M. H.** Interaction of orthopaedic metals with na immortalized rat osteoblast cell line. *Biomaterials*, v. 17, p. 1339-1344, 1996.
- MARGOLIN, H.; WILLIAMS, J. C.; CHESNUTT, J. C.; LUETJERING, G.** A review of the fracture and fatigue behavior of Ti alloy. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON TITANIUM, 4., May 19-22, Warrendale: Titanium'80 Science and Technology, 1980. p.169-216.
- MARIANO, C. S. T. P. ; CAMPOS. L. L.** Dosimetria de campo na área de esterilização de materiais médico-hospitalares. In: FORUM NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM SAÚDE, 1., nov. 20-4, 1992, Caxambu. *Anais...* p. 585-587.
- MISHRA, A. K.; DAVIDSON, J. A. ; KOVACS, P. ; POGGIE, R. A.** Ti-13Nb-13Zr: a new low modulus, high strength, corrosion resistant near-beta alloy for orthopedic implants. In: BETA TITANIUM ALLOYS IN THE 1990'S, 22-24 Feb. 1993, Denver, Colorado, USA. *Proceedings...* Warrendale: The Minerals Metals & Materials Society, 1993. p. 61-72.

- MISHRA, A. K.; DAVIDSON, J. A. ; KOVACS, P.; POGGIE, R. A. ; FITZGERALD, T. J.** Mechanical and Tribiological Properties and Biocompatibility of Diffusion Hardened Ti-13Nb-13Zr – A New Titanium Alloy for Surgical Implants. In: Brown, S. A.; Lemons, J. E. Eds. *Medical Applications of Titanium and Its Alloys*. American Society for Testing and Materials, 1996. p. 96-113. (The Material and Biological Issues, ASTM STP 1272)
- MORAES, F. F.** Análise crítica da histologia na implantologia. In: SERSON, P. *Implantes Orais e Prática*. São Paulo: Círculo do Livro, 1989. p. 39-42.
- MURAKAMI, Y.** Critical review phase transformation and heat treatment. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON TITANIUM, 4., May 19-22, Warrendale: Titanium'80 Science and Technology, 1980. p. 153-167.
- MURTHY, K. K.; SUNDARESAN, S.** Phase transformation in a welded near- $\alpha$  titanium alloy as a function of weld cooling rate and post-weld heat treatment conditions. *Journal of Materials Science*, v.33, p. 817-826, 1998.
- NAKAMURA, A.; IKARASHI, Y.; TSUCHIYA, T. ; KANIWA, M.** In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RADIATION VULCANIZATION OF NATURAL RUBBER LATEX. *Proceedings*. Takasaki, Japan: Japan Atomic Research Institute, 1989. p. 79-87. JAERI-M 89-228
- NEWMAN, J. R.** Titanium castings. In: AMERICAN SOCIETY FOR METALS. *Metals Handbook*. 9. ed. Metals Park, OH, 1980. v. 3, p. 407-412.
- NIINOMI, M.** Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering A*, v. 243, p.231-236, 1998.
- NIINOMI, M.; KURODA, D.; FUKUNAGA, K.; MORINAGA, M.; KATO, Y.; YASHIRO, T.; SUZUKI, A.** Corrosion wear fracture of new  $\beta$  type

- biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering A* 263, p. 193-199, 1999.
- OKAZAKI, Y.; ITO, Y.; ITO, A ; TATEISHI T.** Effect of Alloying Elements on Medical Properties of Titanium Alloys for Medical Implants. *Materials Transactions*, v.34, p. 1217-1222, 1993.
- OKASAKI, Y.; ITO, Y. ; TATEISHI, T.** Effects of heat treatment on mechanical properties and corrosion fatigue strength in physiological saline solution of new titanium alloys for medical implants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIA ON ADVANCED MATERIALS AND TECHNOLOGY FOR THE 21<sup>ST</sup> CENTURY. Publicado no *Materials Transactions, JIM*, v. 37, n. 4, p. 843-849, 1996.
- OKASAKI, Y.; RAO, S.; TATEISHI, T.; ITO, Y.** Cytocompatibility of various metal and development of new titanium alloys for medical implants. *Materials Science and Engineering A*, v. 243, p. 250-256, 1998.
- OKESON, J. P.** *Fundamentos de oclusão e desordens têmporo mandibulares*. São Paulo: Artes Medicas, 1992. p. 88.
- OREFFO, R. O. C. ; TRIFFITT, J. T.** In vitro and in vivo methods to determine the interactions of osteogenic cells with biomaterials . *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 10, p. 607-611, 1999.
- PARK, J. B.** *Biomaterials - An Introduction*. New York: Plenum Press,1980.
- PHILLIPS, R. W.** *Materials dentários de skinner*. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978.
- POGGIE, R. A.; KOVACS, P. ; DAVIDSON, J. A.** Oxygen diffusion hardening of Ti-Nb-Zr alloys. *Materials and Manufacturing Processes*, v. 11, n 2, p. 185-197, 1996.

- PYPEN, C. M. J. M.; DESSEIN, K.; HELSEN, J. A.; GOMES, M.; LEENDERS, H.; BRUIJN, J. D.** Comparison of the cytotoxicity of molybdenum as powder and as alloying element in a niobium – molybdenum alloy. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v.9, p. 761-765, 1998.
- RAHN, B. A.** Die Polycrome Sequenzmarkierung. Freiburg i. Br., Habilitations-Schrift. (Tese de Doutorado) 1976.
- ROBARE, E. W.; BUGLE, C. M.; DAVIDSON, J. A.; DAIGLE, K. P.** Development of processing methods for Ti-13Nb-13Zr. In: WEISS, I; SRINIVASAN, R.; BANIA, P. J.; EYLON, D.; SEMIATIN, S. L. Eds. *Advances in the technology of titanium alloy processing*. The Minerals, Metals and Materials Society, 1997. p.283-291.
- RODRIGUES Jr., D.; NUNES, C. B.; SANDIM, M. J. R.; PINATTI, D. G.** In: SIMPÓSIO ANUAL DA ACIESP SOBRE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO NÍÓBIO, 20., 14 e 15 de dezembro de 1995, São Paulo. *Anais...* São Paulo, FIESP, 1995.
- ROGERO, S. O.; BAZZI, A. S.; FERNANDES, K. C.; IKEDA T. I.; CRUZ, A. S.; HIGA, O. Z.** Estudo comparativo de testes de citotoxicidade em membranas de hidrogel obtidas por meio de radiação ionizante. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS – CBCIMAT, 13., 6 a 9 de dezembro 1998, Curitiba – Paraná. *Anais...* p. 3719 - 3725.
- RUANO, R.; JORGE, A. G.; JAEGER, M. M. M.** Estudo “*in vitro*” da biocompatibilidade da hidroxiapatita usada em implantologia. *RPG*, v.3, n. 2, p. 135-141, 1996.
- RUPP, F.; GERSTORFER, G.; GECKERLER, K. E.** Dental implant materials: surface modification and interface phenomena. *Advanced Material*, v.8, n. 3, p. 254-257, 1996.

- SANCHEZ, D. J.; COLOMINA, M. T.; DOMINGO, J. L.** effects of vanadium on activity and learning in rats. *Physiology & Behavior*, v. 63, p. 345-350, 1998.
- SCHENK, R. K. ; OLAH, A. J.** Histomorphometrie. In: KÜHLENCORD S. *Handbuch der Inneren Medizin*. Berlin, Heidelberg: Springer , 1980. p. 437-494.
- SCHOROEDER, A.; SUTTER, F.; KREKELER, G.** *Implantologia dental*. São Paulo: Panamericana, 1994.
- SEAGLE, S. R.** The state of the USA titanium industry in 1995. *Materials Science and Engineering A*, v. 213, p. 1-7, 1996.
- SEAGLE, S. R.; YU, K. O. ; GIANGIODANO, S.** Considerations in processing titanium. *Materials Science and Engineering A*, v. 263, p. 237-242, 1999.
- SELIGSON, D.; MEHTA, S.; MISHRA, A. K.; FEIZGERALD, T. J.; CASTLEMAN, D. W.; JAMES, A. H.; VOOR, M. J.; BEEN, J.; NAWAB, A.** In vivo study of stainless steel and Ti-13Nb-13Zr bone plates in a sheep model. *Clinical Orthopedics and Related Research*, p. 213-223, 1997.
- SEPULVEDA, P.; ROGERO, S. O.; HIGA, O. Z.; BRESSIANI, J. C.** Production of porous hydroxyapatite by gel-casting of foams and citotoxic evaluation. *Journal of Biomedics Material Research*, v. 50, p. 27-34, 2000.
- SITTIG, C.; TEXTOR, M.; SPENCER, N. D.** Surface characterization of implant materials c.p. Ti, Ti-6Al-4V with different pretreatments. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 10, p. 35-46, 1999.
- SMITH & NEPHEW RICHARDS Inc.** James A. Davidson; Paul Kovacs. *Biocompatible low modulus titanium alloy for medical implnats*. EP 0437079A1, 17.07.91. Bulletin 91/92.

- STANDARD TEST METHOD OF TENSION TESTING OF METALLIC MATERIALS**, Anual Book of American Society for Testing and Materials Standards, Section 3, v. 03.01, Designation E8M-90a, p. 146-160, 1991.
- STEINEMANN, S.** Corrosion of surgical implant - in vivo and in vitro test. In: WINTER, G.; LERAY, J.; GROOT, K. Eds. *Evaluation of Biomaterials*. N. Y.: John Wiley and Sons, 1980, p. 1.
- STEVENS, A.; LOWE, J. S.** *Histologia*. São Paulo: Manole, 1995. p. 233-237.
- SONG, Y.; XU, D. S.; YANG, R.; LI, D.; WU, W. T.; GUO, Z. X.** Theoretical study of the effects of alloying elements on the strength and modulus of  $\beta$ -type bio-titanium alloys. *Materials Science Engineering A*, v. 260, p. 231 – 274, 1999.
- VALLET-REGI, M.** Introduction to the world of biomaterials. *Anales de Quimica*, v.93, p. S6-S14, 1997.
- VALERETO, I. C. L.; ROSSA, C. JR.; MARCANTONIO, E. JR.; ZAVAGLIA, A. C.** A study of histological response from Ti-6Al-7Nb alloy dental implants with and without plasma-sprayed hydroxyapatite coating in dog. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, v. 12, p. 273-276, 2001.
- WANG, K.** The use of titanium for medical applications in the USA. *Materials Science and Engineering*, v. A213, p.134-137, 1996.
- WEISS, I. ; SEMIATIN, S. L.** Thermomechanical processing of beta titanium alloys – na overview. *Materials Science and Engineering A*, v. 243, p. 46-65, 1998.
- WILLIAMS, D. F.** *Biocompatibility of clinical implant materials*. Florida: Plenum Press, 1981.

**WILLIANS, D. F.** Biofuncionalidade e biocompatibilidade. *Medical and Dental Materials*. New York: VCH, 1992.

**WILLIANS, D. F.** On the biocompatibilidade of high technology materials. In: BIOMEDICAL MATERIALS, Dec. 3-6, v.55, 1985, Boston. *Proceedings Materials Research Society Symposias*. Massachusetts, 1993. p. 117-127.

**WILLIANS, D. F.** The science and applications of biomaterials. *Advances in Materials Thechnology Monitor*, v. 1, n.2, p. 1-10, 1994.

**YU, S. Y. ; SCULLY, J. R.** Corrosion and passivity of Ti-13Nb-13Zr in comparison to other biomedical implant alloys. *Corrosion*, v. 53, n.12, p. 965-976, 1997.

**ZARDIACKAS, L. D.; MITCHELL, D. W.; DISEGI, J. A.** Characterization of Ti-15Mo Beta Titanium Alloy for Orthopedic Implant Applications. In: BROWN, S.A.; LEMONS, J.E., Eds. *Medical Applications of Titanium and its Alloys*. American Society for Testing and Materials, 1996. p.60-75. (The Material and Biological Issues, ASTM STP 1272.)

**ZAVAGLIA, C. A. C.** *Aplicações de biomateriais em próteses ortopédicas*. Campinas, 1993. Tese (Livre Docência) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

**ZITTER, H. ; PLENK Jr., H.** Electrochemical behaviour of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibilidade. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 21, p. 881-896, 1987.

**ZITTER, H.; MAURER, K.L.; GARTNER, T. ; WILFING, R.** Materials for implants. *Berg-und Huttenmnnische Monalshefte*, v. 135, n.5, p.171-181, 1990.

**ANEXO**

Cópia do Certificado do protocolo Cirúrgico expedido pela Comissão de  
Ética em Experimentação Animal (CEEA)



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS


Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil  
Telefone : (55) (011) 3813-0900 – telefax : (55) (011) 3818-7438  
e-mail: [icbsedir@icb.usp.br](mailto:icbsedir@icb.usp.br)

## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para uso de animais em experimentação nº 111/2000, sobre o projeto intitulado “*Caracterização da Biocompatibilidade da ligação Ti 13Nb 13Zr*” sob a responsabilidade Bruno König Jr está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA) em reunião de 15/03/2001.

(We certify that the protocol nº 111/2000 about “*Characterization of the Biocompatibility of the alloy Ti 13Nb 13Zr*” with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the BIOMEDICAL SCIENCES INSTITUTE/USP- ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH (CEEA) in 15/03/2001 meeting.)

São Paulo, 20 de março de 2001.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Estela Maris A. F. Bevilacqua  
Coordenadora da CEEA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Maria Inês Nogueira  
Secretária da CEEA