



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS / UAEMa**



CARMEM DOLORES DE SÁ CATÃO

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE LIGAS DE NiTi TRATADAS A LASER:
PERSPECTIVA PARA APLICAÇÃO EM IMPLANTES DENTÁRIOS.**

CAMPINA GRANDE / PB
2011

CARMEM DOLORES DE SÁ CATÃO

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE LIGAS DE NiTi TRATADAS A LASER:
PERSPECTIVA PARA APLICAÇÃO EM IMPLANTES DENTÁRIOS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciências e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook – UAEMa/UFCG

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Araújo – DEM/UFCG

C357o Catao, Carmem Dolores de Sa
Obtencao e avaliacao de ligas de NiTi tratadas a laser :
perspectiva para aplicacao em implantes dentarios / Carmem
Dolores de Sa Catao. - Campina Grande, 2011.
154 p. : il.

Tese (Doutorado em Ciencia e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciencias
e Tecnologia.

1. Ligas Ni-Ti 2. Liga com Memoria de Forma 3. Laser 4.
Hidroxiapatia 5. Implantes Dentarios 6. Osseointegracao 7.
Tese I. Fook, Marcus Vinicius Lia, Dr. II. Araujo, Carlos
Jose de, Dr. III. Universidade Federal de Campina Grande -
Campina Grande (PB) IV. Título

CDU 620.1:616.314(043)

CARMEM DOLORES DE SÁ CATÃO

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE LIGAS DE NiTi TRATADAS A LASER:
PERSPECTIVA PARA APLICAÇÃO EM IMPLANTES DENTÁRIOS.**

Tese Aprovada em 10 de Outubro de 2011 pela Banca Examinadora constituída dos seguintes membros:

Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook
Orientador
UAEMa – UFCG

Profa. Dra. Vânia Caldas de Sousa
Examinadora Externa
DEMA – UFRGS

Profa. Dra. Renata de Souza Coelho Soares
Examinadora Externa
UACB – UFCG

Profa. Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto
Examinadora Externa
CCT – UEPB

Prof. Dr. Hélio de Lucena Lira
Examinador Interno
UAEMa – UFCG

“Sabemos que todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito” (Rm 8:28)

***“Portanto, se Deus é por nós, quem será contra nós?”
(Rm 8:31)***

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Anésio e Marlene, pelo apoio, encorajamento, amor e pelos ensinamentos que formaram os alicerces de minha história.

Ao meu namorado Neto, por toda contribuição, amor, compreensão, paciência e pela companhia ao longo desta trajetória.

A todos os amigos que no período de desenvolvimento deste trabalho me ajudaram com dedicação, compreensão e carinho, demonstrando que a superação nos momentos difíceis vale a pena, por estar ao lado de pessoas que realmente se importam e acreditam no nosso sucesso.

A Deus, por iluminar e orientar cada passo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida, por todos os benefícios que tem me concedido, por me capacitar a cada dia e por ser a minha fonte inesgotável de paz e esperança. O Senhor é a minha rocha, o meu escudo e a minha salvação. Obrigado Pai, por estar presente em todos os momentos da minha vida. Toda honra e toda glória é para Ti. “Porque agindo Deus, quem o impedirá?” (Is 43:13).

Aos meus pais Anésio e Marlene, por terem sido os meus primeiros mestres e modelos, pela criação e educação que me deram alicerce da minha vida. Obrigada pelos estímulos, reconhecimentos, pela confiança depositada, pela paciência, dedicação, carinho e imenso amor que tem me disposto ao longo da minha caminhada.

A todos os meus irmãos e familiares que indiretamente participaram da concretização desta fase da minha vida.

Ao meu namorado Neto, por me motivar a cada instante, por toda compreensão e contribuição na impressão dos meus trabalhos, por ser meu amável companheiro e estar comigo pacientemente durante esta jornada do doutorado.

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - UFCG, na pessoa do Prof. Dr. Gelmires de Araújo Neves e ao corpo docente que faz parte da estruturação deste curso, possibilitando a qualificação de diversos profissionais.

Ao meu estimado orientador Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook, muito obrigada por ter me aceitado como sua aluna de pós-graduação, por ter acreditado no meu potencial, por toda confiança depositada, pelo mestre, profissional e amigo que és. Obrigada pela paciência quando não pude me dedicar o quanto deveria. Obrigada pelos conselhos e “puxões de orelha” durante toda esta caminhada do doutorado, que muito contribuiu e tem contribuído para o meu engrandecimento pessoal e profissional. Obrigada por ser exemplo de determinação, profissionalismo, dinamismo, dedicação e humanidade. Saiba que este é apenas mais um passo dos muitos que ainda virão.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Carlos José Araújo, por ter me estimulado a desenvolver este trabalho em ligas com memória de forma, obrigada pelas imensas contribuições acadêmicas, pela disponibilidade em abrir as portas do Laboratório Multidisciplinar de Materiais e Estruturas Ativas (LaMMEA – UFCG) e ceder seus alunos da pós-graduação e iniciação científica para nos ajudar na elaboração das ligas de NiTi.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo apoio financeiro desta pesquisa através do Projeto “Casadinho” UFCG/ITA.

Aos colegas da Engenharia Mecânica, em especial a Zoroastro, Kleberton e Udson pelas gentilezas e imensas contribuições para as sínteses e caracterizações das ligas de NiTi. Obrigada pela paciência, boa vontade e atenção desprendida.

Ao professor João Batista do departamento de Engenharia Mecânica pelas disposições, apoios e orientações durante as etapas de metalografia e microscopia.

Ao coordenador do Laboratório de Caracterização de Materiais – Certbio – UAEMa – UFCG na pessoa do Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook, por não medir esforços para equipar e estruturar o laboratório, dispondo inúmeros recursos para elaboração e caracterização de biomateriais, os quais foram utilizados nesta pesquisa.

À professora Iracilda Zeppone Carlos, juntamente com a técnica de laboratório Marisa, pelas orientações nos ensaios de citotoxicidade e utilização do Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular do Departamento de Análises Clínicas da UNESP/Araraquara – Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

À professora Anahi Herrera Aparecida, juntamente com Nilson do Instituto de Química da UNESP/Araraquara, pelo empenho e atenção durante os tratamentos a LASER e Biomimético das ligas de NiTi.

A minha ex-aluna e amiga Isabel Rabello, por ter contribuído imensamente e de forma indispensável com este trabalho, sendo uma parceira e colaboradora efetiva. Muito obrigada pelo seu empenho na construção e desenvolvimento desta tese, acompanhando com toda dedicação os ensaios realizados na UNESP/Araraquara. Só tenho a lhe agradecer por ter depositado a sua confiança em mim e mais ainda por ter aceitado o desafio de trabalhar na mesma linha de pesquisa deste trabalho.

A todos os meus colegas do Grupo de Biomateriais da UFCG, em especial a Isabel, Carol, Wladymyr, Márcio, Rita, Betinho, Glória e Imarally, que tiveram participação efetiva neste trabalho.

Aos todos os demais colegas de pós-graduação (Rossemberg, Eva, Vieira, Adriana, Shirlyne, João Paulo, Greyce, Thiago, Waldênia, Ana Sílvia, Daniel, Lúcia Helena, Alcione, Criseuda, Roberta, Zilda, Nadja e Olímpia) que compartilharam de momentos e experiências vividas nesta jornada do doutorado.

Aos professores Edilane Laranjeira, Andreas, Margarida Saeki e em especial, a Profa. Roberta Oliveira, por terem participado das avaliações e correções deste trabalho, realizando as considerações pertinentes para o enriquecimento desta pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, pela colaboração, disposição e avaliações indispensáveis.

Aos gestores da Prefeitura Municipal de Boqueirão, Prefeitura Municipal de Lagoa Seca, Universidade Estadual da Paraíba, União de Ensino Superior de Campina Grande e, atualmente, Universidade Federal de Campina Grande, pela compreensão prestada nos momentos em que tive que me ausentar para realização deste doutorado.

As minhas amigas e ex-auxiliares de consultório, Flávia e Rivanilza, pela compreensão e coordenação das atividades nos momentos que não pude estar presente.

A minha grande amiga e irmã Renata que muito tem me ensinado na vida acadêmica e muito tem contribuído para o meu engrandecimento pessoal. Rena, muito obrigada por fazer parte da minha vida.

Aos meus amigos, Raiff, David, Andreza, Ana Karolina, Cláudia, Carol, Lula, Gymenna e Belinha por todo apoio e pelas palavras de conforto e motivação.

Aos meus amigos e professores Marcus Sá, Alcione Farias, Alan e Belinha pelos maravilhosos anos de convivência, aprendizado e muito trabalho na disciplina de prótese dentária na Universidade Estadual da Paraíba.

A todos aqueles que por ventura tenha esquecido, mas que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, saibam que estão guardados no meu coração.

RESUMO

As ligas de níquel-titânio (NiTi) têm sido amplamente utilizadas em dispositivos da área médica e odontológica devido as suas propriedades de biocompatibilidade, efeito memória de forma e superelasticidade. A implantodontia tem buscado biomateriais que ofereçam além da resistência mecânica, adequada relação entre bioatividade/biocompatibilidade quando em contato com tecidos biológicos. Desta forma, o presente trabalho buscou obter e analisar ligas de NiTi sob ação do LASER com e sem deposição química de apatita, a fim de avaliar as propriedades mecânicas, físico-químicas, morfológicas e biológicas, para aplicação em implantes dentários. Foram obtidas três composições da liga: equiatômica (NiTi-A), com maior concentração de Ni (NiTi-B) e com maior concentração de Ti (NiTi-C). Parte das amostras tiveram suas superfícies irradiadas pelo LASER (*Yb:YAG*), em atmosfera normal, com e sem recobrimento de apatita pelo Método Biomimético empregando as soluções SBF (*Simulated Body Fluid*) 0 e 6. As amostras foram caracterizadas pelas técnicas de Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDX), Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Molhabilidade, Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Microdureza Vickers, Análise Dinâmico-Mecânica (DMA) e Análise de Citotoxicidade. A análise de DRX apresentou diminuição da cristalinidade das amostras sujeitas as modificações superficiais, característica da formação de óxidos de titânio e da camada de apatita. As espectroscopias revelaram um aumento na concentração do oxigênio e carbono nas ligas após a ablação, sugerindo que a energia do LASER favorece a difusão de átomos de oxigênio e acarreta a formação de óxidos de titânio. As amostras recobertas apresentaram uma razão molar de Ca/P de 1,0, caracterizando a formação de um filme de apatita de baixa cristalinidade. As ligas de NiTi irradiadas, associados ou não à apatita, apresentaram mudanças superficiais com propriedades morfológicas e de molhabilidade que contribuem para uma maior interação do biomaterial com o meio biológico e redução no tempo de osseointegração. Os resultados de DSC revelaram transformações de fases distintas, onde a uma temperatura próxima à corpórea (37°C) as amostras NiTi-A, B e C apresentaram-se austenítica/martensítica, predominantemente austenítica e martensítica, respectivamente. Quanto as propriedades mecânicas, a liga NiTi-C apresentou o menor valor de microdureza Vickers (273,14 HV \pm 4,15) em decorrência da estrutura cristalina do tipo monoclinica (martensítica) presente. Quanto a análise de DMA, as ligas apresentaram módulo de elasticidade inferiores a 21,5 GPa, próximo ao do osso. Os ensaios de citotoxicidade demonstraram viabilidade para as ligas de NiTi, principalmente quando submetidas ao tratamento a LASER isoladamente e associado ao recobrimento biomimético em SBF-6. Portanto, com base nos resultados apresentados, conclui-se que as ligas de NiTi-C modificadas superficialmente apresentam propriedades mecânicas, características morfológicas e biológicas favoráveis para aplicação como biomaterial, além de serem economicamente viáveis para implantes odontológicos.

Palavras-chave: Ligas Ni-Ti; Liga com Memória de Forma; LASER; Hidroxiapatita; Implantes Dentários; Osseointegração.

ABSTRACT

The nickel-titanium (NiTi) alloys has been widely used in devices of the area medical and dental treatment due to their properties of biocompatibility, shape memory effect and superelasticity. The implantology has sought biomaterials that offer in addition to the mechanical resistance, proper relationship between bioactivity/biocompatibility when in contact with biological tissues. This way, the present study aimed to obtain and analyze NiTi alloys under the LASER action with and without deposition chemistry of apatite, in order to evaluate the mechanical properties, physico-chemical, morphological and biological, for application in dental implants. We obtained from three alloy compositions: equiatomic (NiTi-A), with a higher concentration of Ni (NiTi-B) and with the greatest concentration of Ti (NiTi-C). Part of the samples had their surfaces irradiated by LASER (Yb:YAG), in normal atmosphere, with and without coating of apatite by Method Biomimetic employing the solutions SBF (Simulated Body Fluid) 0 and 6. The samples were characterized by the techniques of X-Ray Diffraction (XRD), Energy Dispersive Spectroscopy X-ray (EDX), optical microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), Wettability, Differential Scanning Calorimetry (DSC), Vickers microhardness, Dynamic Mechanical Analysis (DMA) and Cytotoxicity Analysis. The XRD analysis showed decrease in crystallinity of the samples subjected to surface modifications, characteristic of the formation of titanium oxides and apatite layer. The spectroscopy revealed an increase in the concentration of oxygen and carbon in the alloys after ablation, suggesting that the laser energy favors the diffusion of oxygen atoms and results in the formation of oxides of titanium. The coated samples showed a molar ratio of Ca / P of 1.0, characterizing the formation of a film of apatite of low crystallinity. NiTi alloys irradiated with or without the apatite, showed changes in surface morphology and wettability properties that contribute to an increased interaction of the biomaterial with the biological environment and reduction in the time of osseointegration. The DSC results revealed distinct phase transformations, where a temperature close to the body (37 ° C) NiTi samples A, B and C had to austenitic / martensitic, austenitic and martensitic predominantly, respectively. In relation to mechanical properties, the NiTi-C alloy had the lowest value of Vickers hardness (HV 273.14 + 4.15) due to the type monoclinic crystal structure (martensite) present. The DMA analysis, alloys showed tensile modulus below 21.5 GPa, close to the bone. The cytotoxicity assays demonstrated the feasibility of NiTi alloys, especially when subjected to laser treatment alone and associated with the biomimetic coating in SBF-6. Therefore, based on the results presented, we conclude that NiTi-C alloy surface-modified showed mechanical properties, morphology and biological characteristics favorable for application as biomaterial, besides being economically viable for dental implants.

Keywords: Ni-Ti Alloys, Shape Memory Alloy; LASER, Hydroxyapatite, Dental Implant, Osseointegration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Requisitos básicos para implantes.....	30
Figura 2 - Estrutura cristalina da liga de NiTi.....	33
Figura 3 - Diagrama de fases do NiTi.....	34
Figura 4 - Estrutura cristalina da liga de NiTi.....	35
Figura 5 - Estrutura cristalina das fases da liga de NiTi, estrutura monoclinica na fase martensita e ccc na austenita.....	36
Figura 6 - Ciclo de transformações de fases da liga de NiTi.....	37
Figura 7 - Gráfico representativo da Histerese.....	38
Figura 8 - Gráfico representativo da diferença dos módulos de elasticidade das ligas metálicas para implantes e do osso.	41
Figura 9 - Representação esquemática do comportamento tensão-deformação de um implante comum.....	42
Figura 10 - Curva tensão-deformação ilustrando a inclinação, onde a razão da tensão pela deformação mede a resistência do material.....	45
Figura 11 - Obtenção dos módulos de armazenamento E' e de perda E''	45
Figura 12 - Representação esquemática da interação do titânio ativado com a solução SBF.....	58
Figura 13 (a) - Sequência da confecção dos corpos de prova.....	64
Figura 13 (b) - Fluxograma representativo da metodologia e caracterizações empregadas.....	65
Figura 14 - Máquina de fusão a plasma - Discovery All.....	66
Figura 15 - Processo de fusão a plasma pelo método <i>Skull Push-Pull</i> . (a) Elementos no cadinho de cobre; (b) Tocha de plasma; (c) Botão de LMF após fusão; (d) Cadinho após a injeção; (e) Coquilha de alumínio;.....	67
Figura 16 – (a) Coquilha de alumínio; (b) Bastões de NiTi após a injeção e molde; (c) Cortadeira metalográfica de precisão BUEHLER; (d) Obtenção das amostras.....	68
Figura 17 – (a) Equipamento LASER <i>Ytterbium:YAG</i> ; (b) Amostras de NiTi submetidas ao LASER.....	70
Figura 18 – Microscópio Óptico.....	74

Figura 19 – Microscópio de Eletrônico de Varredura.....	75
Figura 20 – Representação esquemática do ângulo de contato.....	75
Figura 21 – Comportamento de uma gota apresentando alta molhabilidade (a), molhabilidade média (b) e não molhabilidade (c).....	76
Figura 22 – Equipamento utilizado para análise de molhabilidade (a) e deposição do líquido de medida sobre a superfície da amostra (b).....	77
Figura 23 – Endentação do microdurômetro na amostra de NiTi.....	78
Figura 24 – Esquema representativo de aplicação do método Vickers.....	79
Figura 25 – Microdurômetro.....	79
Figura 26 – Analisador Dinâmico-Mecânico (a) e porta-amostra (tipo cantilever) (b).....	80
Figura 27 – Equipamento de Calorimetria Diferencial Exploratória.....	82
Figura 28 – Equipamento de Difração de Raios X.....	83
Figura 29 – Injeção de PBS no animal (a), coleta do exsudato peritoneal (b), contagem de células na câmara homocitométrica de Neubauer em microscópio óptico (c) e aspecto da viabilidade celular (macrófagos) peritoneais dos camundongos.....	86
Figura 30 – Inserção das amostras nos meios de cultura (a);	88
Figura 30 – Adição de 100µL de MTT (b) e células aderentes intensificando a cor azul dos cristais de formazan formados (c).....	89
Figura 31 - Difratoogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C polida.....	93
Figura 32 - Difratoogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C tratada a LASER.....	94
Figura 33 - Difratoogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C recobertas pelo método biomimético empregando a solução SBF- 0.....	95
Figura 34 - Difratoogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C recobertas pelo método biomimético empregando a solução SBF- 6.....	96
Figura 35 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X das ligas NiTi – A, B e C polidas.....	97
Figura 36 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X das ligas NiTi – A, B e C tratadas a LASER.....	100
Figura 37 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X da liga NiTi – A, B e C recobrimento de apatitas pelo Método Biomimético empregando a	

solução SBF-0.....	103
Figura 38 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X da liga NiTi – A, B e C recobrimento de apatitas pelo Método Biomimético empregando a solução SBF-6.....	104
Figura 39 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C brutas.....	107
Figura 40 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polidas.....	108
Figura 41 - Micrografia em aumentos de 20X e 50X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polida e atacada quimicamente – temperatura ambiente.....	109
Figura 42 - Micrografia em aumentos de 20X e 50X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polida e atacada quimicamente – resfriada.....	110
Figura 43 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER.....	111
Figura 44 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético em SBF 0.....	113
Figura 45 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético em SBF 6.....	113
Figura 46 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C brutas.....	115
Figura 47 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polidas.....	116
Figura 48 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER.....	117
Figura 49 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético com solução SBF-0.....	119
Figura 50 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e	

Biomimético em SBF-6.....	119
Figura 51 - Medida do ângulo de contato da amostra de NiTi.....	121
Figura 52 - Gráfico com a média e desvio padrão dos ângulos de contato obtidos para as amostras de NiTi brutas, polidas, tratadas a LASER e recobertas pelo Método Biomimético.....	122
Figura 53 - Termograma mostrando as temperaturas de transformação de fases numa análise DSC.....	125
Figura 54 - Gráfico mostrando as temperaturas de transformação austenítica inicial e final das amostras, após análise DSC.....	126
Figura 55 - Endentação do microdurômetro na amostra de NiTi.....	128
Figura 56 - Capacidade de amortecimento em função da temperatura para as amostras A, B e C sem tratamento de superfície. Unidade Adimensional..	130
Figura 57 – Variação do módulo de elasticidade em função da temperatura para as amostras A, B e C - Valores Absolutos.....	131
Figura 58 – Viabilidade celular dos macrófagos por meio do ensaio de MTT na presença de amostras de NiTi com diferentes características superficiais.....	134
Figura 59 – Produção de óxido nítrico por macrófagos de camundongos Swiss na presença de amostras de NiTi com diferentes características superficiais.....	137

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características químicas do Ni e do Ti.....	34
Tabela 2 - Concentrações das espécies químicas, em mmol L ⁻¹ , das soluções simuladas em comparação com o plasma sanguíneo.....	57
Tabela 3 – Composição inorgânica de ossos e dentes (%)......	60
Tabela 4 – Relação Ca/P das fases de apatita.....	60
Tabela 5 - Composição nominal das ligas de NiTi.....	63
Tabela 6 - Distribuição das amostras de NiTi-A, B e C quanto às características superficiais.....	65
Tabela 7 – Parâmetros do feixe de LASER utilizados.....	69
Tabela 8 - Concentração iônica da solução SBF utilizadas tipo 0 e 6 (mmol.dm ⁻³).....	72
Tabela 9 – Ângulos de contato obtidos para as amostras de NiTi com e sem tratamento a LASER e recobertas pelo Método Biomimético.....	122
Tabela 10 - Valores das temperaturas de transformação das composições das ligas de NiTi.....	125
Tabela 11 - Valores da microdureza Vickers em HV das composições das ligas de NiTi.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACP	Fosfato de cálcio amorfo
Ad	Temperatura de transformação austenítica sob tensão
A _f	Temperatura final da transformação austenítica
ANOVA	Análise de Variância
A _s	Temperatura de início da transformação austenítica
ASTM	American Society for Testing and Materials
CAr	Campus Araraquara
CCC	Cúbica de Corpo Centrado
CCT	Centro de Ciências e Tecnologia
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CERTBIO	Laboratório de Caracterização de Biomateriais
CFC	Cúbica de Face Centrada
Co-Cr-Mo	Cobalto-cromo-molibdênio
CsCl	Césio-Cloro
d	Diagonal
DMA	Análise Dinâmico Mecânica
DRX	Difração de Raios X
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
E	Módulo de Elasticidade
E'	Módulo de armazenamento
E''	Módulo de perda
EDX	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X
EMF	Efeito Memória de Forma
FA	Fase austenítica
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas

FM	Fase martensítica
HA	Hidroxiapatita
H_t	Histerese da transformação
H	Dureza
Hv	Dureza vickers
ICDD	International Committee for Diffraction Data
ISO	International Standard Organization
LaMMEA	Laboratório Multidisciplinar de Materiais e Estruturas Ativas
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission Radiation
LMF	Ligas com memória de forma
LPS	Lipopolissacarídeo
Md	Temperatura de transformação martensítica sob tensão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
M_f	Temperatura de final da transformação martensítica
MIT	Martensita induzida por tensão
MO	Microscopia Óptica
M_s	Temperatura de início de transformação martensítica
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil- tetrazólio)
Nd-YAG	<i>Neodymium – Yttrium Aluminum Garnet Laser</i>
NiTi	Níquel-Titânio
NiTi-A	Níquel-Titânio Equiatômica
NiTi-B	Níquel-Titânio com maior concentração de Níquel
NiTi-C	Níquel-Titânio com maior concentração de Titânio
P	Carga aplicada
PBS	Solução salina tamponada com fosfatos
PSPP	<i>Plasma Skull Push-Pull</i>
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório

SBF	<i>Simulated Body Fluid</i>
SE	Superelasticidade
SMA	<i>Shape Memory Alloy</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TA	Transformação austenítica
Tan δ	Tangente do ângulo fase δ
Ti _{cp}	Titânio comercialmente puro
Ti-6Al-4V	Titânio-Alumínio-Vanádio
TM	Transformação martensítica
Torr	133,322368 pascals – Unidade de pressão
TR	Transformação reversa
UAEM	Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica
UAEMa	Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UNESP	Universidade Estadual Paulista Prof. Júlio de Mesquita Filho
Yb-YAG	<i>Pulsed Ytterbium Fiber Laser</i>
E	Deformação
σ	Tensão

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	22
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	26
3.1 BIOMATERIAIS.....	26
3.2 BIOMATERIAIS NA ODONTOLOGIA.....	28
3.3 CARACTERÍSTICAS DAS LIGAS DE NiTi.....	31
3.3.1 Propriedades intrínsecas dos elementos constituintes da liga de NiTi.....	32
3.3.2 Propriedades Estruturais da liga de NiTi.....	35
3.3.3 Histerese Térmica.....	37
3.3.4 Efeito de Memória de Forma (EMF).....	39
3.3.5 Superelasticidade.....	40
3.3.5.1 Propriedades Mecânicas da liga NiTi.....	41
3.3.5.2 Análise Dinâmico-Mecânica versus Ligas com Memória de Forma	44
3.3.6 Biocompatibilidade.....	46
3.4 INFLUÊNCIA DA SUPERFÍCIE DO BIOMATERIAL NA INTERAÇÃO COM O MEIO BIOLÓGICO.....	48
3.4.1 Energia de Superfície dos Implantes.....	49
3.4.2 Tratamento de Superfície da liga NiTi.....	50
3.4.2.1 Superfície de ligas de NiTi modificadas por LASER.....	52
3.4.2.2 Superfície de ligas de NiTi modificadas pelo Método	

Biomimético.....	55
4 MATERIAIS E MÉTODO.....	63
4.1 MATERIAIS.....	63
4.1.1 Ligas de Níquel-Titânio (NiTi).....	63
4.1.2 Fonte de macrófagos.....	64
4.2 SEQÜÊNCIA DA METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	64
4.3 MÉTODO.....	66
4.3.1 Obtenção da liga pela Técnica <i>Plasma Skull Push Pull</i>	66
4.3.2 Modificação de Superfície das Ligas de NiTi por LASER.....	69
4.3.3 Modificação de Superfície das Ligas de NiTi pelo Método Biomimético.....	70
4.4 CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DAS LIGAS DE NiTi COM E SEM TRATAMENTOS SUPERFICIAIS.....	72
4.4.1 Caracterização Microestrutural.....	72
4.4.1.1 Microscopia Óptica – MO.....	72
4.4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV.....	74
4.4.1.3 Molhabilidade.....	75
4.4.1.4 Microdureza.....	77
4.4.1.5 Análise Dinâmico Mecânica – DMA	80
4.4.1.6 Calorimetria Diferencial Exploratória – DSC.....	81
4.4.1.7 Difração de Raios X – DRX.....	82
4.4.1.8 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X – EDX.....	83
4.4.2 Análise de Biocompatibilidade das Ligas de NiTi	84
4.4.2.1 Determinação da Citotoxicidade pelo MTT.....	84
4.4.2.2 Esterilização do Material para o Teste de Citotoxicidade.....	85
4.4.2.3 Obtenção das células do Exsudato Peritoneal.....	85
4.4.2.4 Avaliação da viabilidade celular de células peritoneais aderentes..	88
4.4.2.5 Determinação da produção de Óxido Nítrico.....	90
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DOS DADOS.....	90
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
5.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X – DRX.....	92
5.2 ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X – EDX.....	96
5.3 MICROSCOPIA ÓPTICA - MO	107
5.3.1 Microscopia Óptica das ligas de NiTi bruta e polida sem ataque químico..	107

5.3.2 Microscopia Óptica das ligas de NiTi com ataque químico.....	108
5.3.3 Microscopia Óptica das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER.....	111
5.3.4 Microscopia Óptica das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER e recobrimento com apatita pelo Método Biomimético.....	112
5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV.....	114
5.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura das ligas de NiTi bruta e polida.....	114
5.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER.....	116
5.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER e recobrimento com apatita pelo Método Biomimético.....	117
5.5 MOLHABILIDADE	121
5.6 CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA – DSC.....	124
5.7 MICRODUREZA.....	127
5.8 ANÁLISE DINÂMICO-MECÂNICA – DMA.....	129
5.9 ANÁLISE DE BIOCMPATIBILIDADE – ENSAIO DE CITOTOXICIDADE....	133
5.9.1 Avaliação da Viabilidade Celular de Macrófagos.....	133
5.9.2 Teste de Produção de Óxido Nítrico.....	136
6 CONCLUSÕES	139
PROPOSTAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	140
REFERÊNCIAS	141

1 INTRODUÇÃO

O rápido desenvolvimento tecnológico tem permitido grandes avanços na área clínica, com uma significativa melhoria da qualidade e aumento da expectativa de vida da população. Associado a estes avanços, o conhecimento dos mecanismos fisiológicos possibilitou o desenvolvimento e aperfeiçoamento de biomateriais, presentemente utilizados por milhões de pessoas e cujo objetivo é substituir ou restaurar funções de tecidos danificados ou doentes. A diversidade de aplicações destes biomateriais compreende desde implantes dentários ou de articulações, placas e parafusos ortopédicos, até válvulas cardíacas, lentes de contato, aparelhos intrauterinos, fios de sutura, enchimentos para cirurgia plástica, entre outros (TOMÁS, 1995).

Um biomaterial deve apresentar um comportamento mecânico adequado, possuir o mínimo de reação com o organismo e ser biocompatível. Pode-se definir um biomaterial compatível, aquele que não influencia negativamente o seu ambiente biológico, com ausência de reações tóxicas, alérgicas ou carcinogênicas, onde suas propriedades físicas deverão ser mantidas quando utilizadas *in vivo* (WIDU et al., 1999).

A resistência à corrosão e à degradação estão intimamente relacionadas com a boa qualidade e desempenho do implante, tornando-se necessário o conhecimento das suas características e consequências do uso em longo prazo, bem como desempenho e resposta do hospedeiro ao mesmo. A avaliação do material *in vitro* é determinante, uma vez que é fundamental para o estudo *in vivo*, em animais e no ser humano. Estes estudos *in vitro* são realizados em condições que simulam ambientes fisiológicos, a partir dos quais é possível avaliar o seu desempenho, nomeadamente face à corrosão (WILLIAMS, WILLIAMS, 1996).

Os materiais empregados para a substituição de tecidos no corpo humano podem ser classificados atendendo à sua natureza química, em metálicos, plásticos, cerâmicos e compostos. A busca por materiais metálicos mais apropriados para implantes ortopédicos e dentários deve-se às diferentes falhas que os mesmos ainda apresentam como as falhas de natureza fisiológica (biocompatibilidade), mecânica (resistência) e química (corrosão), resultando na tentativa de se elaborar novas ligas metálicas com propriedades satisfatórias para aplicações específicas (RATNER, 2004).

Dentre os biomateriais utilizados em implantodontia, o titânio comercialmente puro (Ti_{cp}) vem sendo amplamente empregado devido a sua adequada resistência a corrosão e biocompatibilidade. Essas propriedades têm possibilitado a sua aplicação na fabricação de implantes endósseos proporcionando uma resposta tecidual favorável (UCHIDA et al., 2003).

A baixa resistência mecânica do Ti_{cp} , quanto à fratura induzida por fadiga, tem estimulado o desenvolvimento de novas ligas de titânio, como a liga Ti-6Al-4V (Titânio-Alumínio-Vanádio) amplamente utilizada para implantes, devido a sua satisfatória resistência mecânica, menor módulo de elasticidade e adequada resistência à corrosão em uso clínico. Contudo, tem-se verificada elevada citotoxicidade do vanádio e relação entre o alumínio e a demência senil de Alzheimer (DAVIDSON et al., 1994). Por isso, o crescente desenvolvimento de ligas a base de Ti, sem Al e V tem se tornado necessário, surgindo recentemente, as ligas de Níquel-Titânio (NiTi) para aplicações biomédicas (KOTENKO et al., 2008).

O NiTi é uma liga com adequadas propriedades, que podem variar de acordo com a proporção em massa atômica dos elementos constituintes e dos tratamentos térmicos empregados. Apresentam diversas aplicações clínicas como: próteses, *stents*, instrumentos cirúrgicos como cateteres, agulhas, tubos guia, capilares, fios ortodônticos, limas endodônticas (instrumentos utilizados para tratar o conduto radicular), implantes dentários, entre outros. Estas aplicações biomédicas estão relacionadas às propriedades inerentes da liga como a superelasticidade, o efeito memória de forma (*SMA – Shape Memory Alloy*) e biocompatibilidade, sendo as duas últimas particularmente diferenciadas, devido ao fato de lhes conferirem a possibilidade de alterar suas fases sob condições específicas e retornar à sua forma original, além de não apresentar rejeição ao organismo (VILLARINHO et al., 2010).

O conjunto destas propriedades torna esse material cada vez mais atrativo e empregado principalmente na área clínica. Na odontologia o desafio é idealizar um implante odontológico com a liga de NiTi na busca de aprimorar as propriedades desta estrutura como resistência ao impacto, a fratura, bem como, devolver ao sistema implante versus osso, o mecanismo de amortecimento, estímulo ósseo, através da propriedade de superelasticidade da liga e reduzir os casos de insucessos com este tipo de tratamento, trazendo a esta liga outros benefícios que o titânio isoladamente não possui, como uma satisfatória absorção de energia que irá

preservar todo o sistema osso implante e proporcionará uma superfície bioativa (KOTENKO et al., 2008).

O sucesso dos sistemas de implantes no tecido ósseo depende da formação de uma interface mecanicamente estável entre o biomaterial e o hospedeiro (PULEO, 1999). A rugosidade da superfície das ligas de titânio influencia as respostas teciduais e celulares, por isso tem sido foco de muitas pesquisas (COOPER, 2000; LE GUE'HENNEC et al., 2007). Inúmeras são as técnicas de modificação de superfície das ligas de titânio. Dentre elas pode-se citar: deposição de biomaterial reabsorvível como micropartículas de hidroxiapatita, plasma *spray* de titânio, jateamento com partículas (óxido de alumínio, de silício, de titânio), ataque ácido, irradiação de LASER em alta intensidade (GYÖRGY et al., 2003; SISTI et al., 2006). O tratamento superficial a LASER pode resultar em um filme microporoso aderente ao substrato, enquanto o recobrimento pelo método biomimético, através da imersão em SBF (*Simulated Body Fluid*) pode resultar na formação de uma camada de fosfato de cálcio (apatita) (GODLEY et al., 2004).

A formação de uma camada de apatita biologicamente ativa na interface material-osso é um dos métodos capazes de tornar a superfície de um material bioativa. Esta apatita é semelhante, em composição e estrutura, à fase mineralizada do tecido ósseo e atua atraindo células e proteínas para iniciar as reações que resultam na formação da estrutura óssea (KOKUBO et al., 2000 a).

Baseado no exposto, a presente pesquisa buscou obter e avaliar composições de ligas de NiTi tratadas a LASER e recobertas com apatita, através de análise de citotoxicidade, técnicas de caracterizações físico-químicas e morfológicas, visando aplicação em implantes odontológicos. Buscando a redução no período de osseointegração, através da melhoria das propriedades biomecânicas da liga de titânio, otimizando o sucesso com este tipo de tratamento e propondo mais uma inovação no sistema de implantes odontológicos através da aplicação das ligas de NiTi.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver composições de ligas de NiTi tratadas a LASER Yb: YAG com e sem recobrimento de apatita para aplicação em implantes dentários.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter e comparar as composições das ligas com as propriedades mecânicas, físico-químicas e biológicas;
- Analisar a topografia das amostras de NiTi com tratamento de superfície a LASER;
- Analisar comparativamente a topografia das amostras de NiTi com tratamento de superfície a LASER e recobrimento com apatita através do Método Biomimético empregando as soluções SBF-0 e 6;
- Comparar o potencial de molhabilidade das ligas antes e após as modificações de superfície;
- Avaliar a citotoxicidade das composições pesquisadas nas diversas condições;

3 REVISÃO DA LITERATURA

A busca pela substituição de tecidos ou órgãos perdidos vem desde muito tempo na história da humanidade (RAVAGLIOLI, KRAJEWSKI, 1992). São conhecidos relatos, através dos tempos, sobre a procura de soluções para a substituição de partes de corpo, utilizando vários tipos de materiais (TAVARES, 1993). Porém, só a partir da II Grande Guerra se iniciou efetivamente a investigação e o desenvolvimento de novos materiais, em decorrência das necessidades crescentes de materiais com melhores propriedades para aplicações industriais e tecnológicas. Os avanços verificados nesta área tiveram reflexos importantes na evolução das soluções terapêuticas e de diagnóstico no campo médico (AFONSO, 1998).

As dificuldades encontradas pelos médicos militares, durante a guerra do Vietnã, frente à necessidade de reconstruções ou reparações de grandes perdas de tecido ósseo, como consequência de mutilações severas, motivou o aparecimento de soluções alternativas, que incluíam o recurso a novos materiais biocompatíveis, tanto metálicos como cerâmicos ou poliméricos. Cientistas e clínicos têm buscado o desenvolvimento e investigação de materiais de alta tecnologia para aplicações biomédicas. O aumento da necessidade de substituição de tecidos e órgãos tem induzido o desenvolvimento de biomateriais, em busca do biomimetismo (JOHN et al., 1993).

3.1 BIOMATERIAIS

Os biomateriais começaram a ser utilizados pela necessidade de repor segmentos biológicos de variadas complexidades. Ao longo dos anos, tem-se observado uma evolução deste campo, que vai da remoção e substituição dos tecidos até a sua regeneração (HENCH, 1998).

Os biomateriais são partes importantes dentro da variedade de produtos para a saúde, e é definido como todo material utilizado para substituir, no todo ou em parte, os sistemas biológicos. Assim, pode-se ter biomateriais metálicos, cerâmicos, poliméricos, compósitos ou biorecobrimentos. Uma das definições correntes diz que “Biomateriais são materiais utilizados em dispositivos médicos ou em contato com sistemas biológicos” (RATNER, 2004), enquanto que na definição clássica,

biomaterial é “parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (HELMUS, TWEDEN, 1995).

Estes materiais devem ser biocompatíveis, ou seja, atender ao requisito de funcionalidade para o qual foram projetados, não estimulando ou provocando reações alérgicas ou inflamatórias, não sendo cancerígenos e precisam possuir estabilidade química (exceto nos casos em que se objetiva alcançar a biodegradabilidade), devem oferecer resistência mecânica, apresentar peso, densidade e resistência à fadiga, portar um adequado *design*, ser relativamente econômico e reprodutível (MORATO, NARVAEZ, TORIBIO, 2004). Com isso, é conveniente agrupar os materiais pelo campo de aplicação a que se destinam, ao invés de usar a classificação tradicional em termos de propriedades gerais que eles apresentam. Classicamente as aplicações são divididas em três grupos que se destinam à substituição de tecidos moles; substituição de tecidos duros e materiais para sistemas cardiovasculares (SOARES, 2002).

Os biomateriais utilizados clinicamente induzem diferentes respostas do tecido e, em função do tipo de interface tecido/implante desenvolvida, podem ser classificados em: **Bioinertes**, que são biomateriais bem tolerados pelo organismo, praticamente não liberando nenhum tipo de componente, não causando nenhuma reação. No entanto, esses materiais tendem a ser envolvidos por uma cápsula fibrosa que o isolam do meio vivo. A espessura da camada fibrosa depende de muitos fatores, como as condições do implante, tecido e carga mecânica existente na interface. **Bioativos**, que são os materiais que favorecem a ligação química entre o material implantado e o tecido ósseo (osseointegração), sem a presença de invólucros fibrosos. Em função da similaridade química entre tais materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a eles, permitindo a osteocondução através de recobrimento por células ósseas. Quando o material bioativo é implantado no corpo, uma série de reações bioquímicas e biofísicas ocorre na interface implante/tecido. Essas reações eventualmente resultam em uma ligação interfacial de natureza química e não física. Os materiais bioativos podem ainda ser classificados em osteoindutores, que promovem resposta intracelular e extracelular na interface, e osteocondutores, que promovem uma superfície biocompatível favorecendo o desenvolvimento das células ósseas. **Bioabsorvíveis** são biomateriais fagocitados pelo organismo após certo período de contato com o tecido. Possuem papel fundamental em aplicações clínicas, pois são desnecessárias novas

intervenções cirúrgicas para a retirada de material implantado. E **biodegradáveis**, que são degradados pelo organismo durante um período de tempo, e seus produtos da degradação não são tóxicos (HENCH, WILSON, 1993).

A seleção de um material biocompatível deve iniciar com a identificação das propriedades requeridas para a aplicação em questão. Como essas propriedades são extremamente sensíveis a variações de estrutura do material em escala micro ou nanométrica, é fundamental que se tenha um entendimento de como se correlaciona a microestrutura com as propriedades desejadas (SOARES, 2002).

3.2 BIOMATERIAIS NA ODONTOLOGIA

Processos patológicos e/ou de envelhecimento acarretam perda de função ou alteração na morfologia no organismo. O defeito produzido pode ser tratado e/ou corrigido por duas alternativas: transplantação, na qual podem ser utilizados tecidos ou órgãos; e implantologia, que utiliza materiais artificiais para restaurar a função e/ou a morfologia (AFONSO, 1998).

O aparecimento de defeitos ósseos amplos e a perda precoce e extensa de dentes são situações que sempre preocuparam os clínicos, onde as modalidades terapêuticas permitiam recuperações estéticas e funcionais limitadas. A procura de soluções mais satisfatórias levou à introdução dos biomateriais na odontologia. Nesta área, os biomateriais são utilizados na reconstrução ou preenchimento de defeitos ósseos (FURUSAWA, MIZUNUMA, 1997), na prevenção da reabsorção de osso alveolar após exodontias (remoção cirúrgica de dentes) (VASCONCELOS et al., 1993) e na substituição isolada ou múltipla de dentes (GARCIA, DOREMUS, 1992).

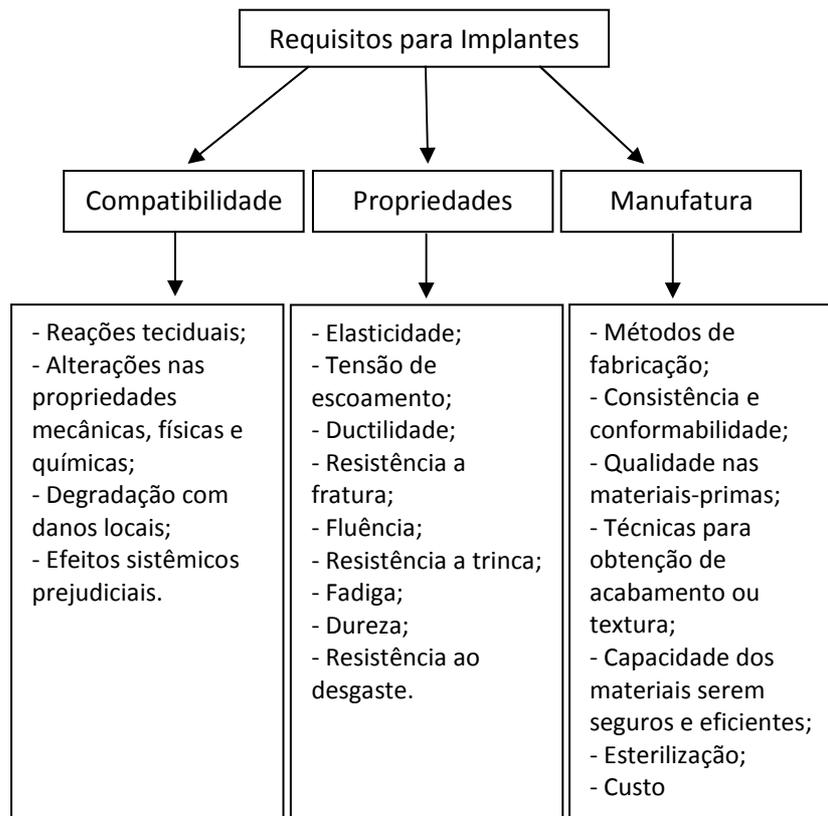
Estão disponíveis diversos materiais para utilização na odontologia, os mais utilizados são os ossos (**autógenos** – enxertos transplantados de um lugar para outro em um mesmo indivíduo; **alógenos** – enxertos transplantados entre indivíduos da mesma espécie, porém diferentes geneticamente; **xenógenos** – enxertos retirados de um doador de outra espécie; podendo ser descalcificados ou desmineralizados), polímeros, metais e materiais cerâmicos. As propriedades mecânicas, bem como a composição química destes materiais variam significativamente, tendo como limitação a obtenção de elevada biocompatibilidade e boas características mecânicas num mesmo material (AFONSO, 1998). Os

polímeros têm sido utilizados na forma de suturas reabsorvíveis e de membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis, para aumento ou preenchimento de defeitos ósseos, através da técnica de regeneração guiada de tecidos (BECKER et al., 1995).

Os materiais cerâmicos, por apresentarem propriedades tais como: bioatividade e biocompatibilidade podem formar ligações firmes com o osso, porém, possuem pobres propriedades biomecânicas. Alguns destes materiais, por possuírem uma composição química semelhante à do tecido ósseo e uma boa adesão a este, criaram grandes expectativas na utilização como substitutos dos tecidos duros (GROSS et al., 1997). Contudo, as limitações das suas propriedades mecânicas reduziram o campo da sua aplicação. A substituição de tecidos em zonas não sujeitas a cargas (defeitos ósseos) (PAVEK et al., 1994; FURUSAWA, MIZUNUMA, 1997) e o revestimento de implantes metálicos, no sentido de potencializar a capacidade de adesão rápida ao tecido ósseo são as principais indicações destes materiais (KENT, FINGER, LARSEN, 1990; GROSS et al., 1997).

A utilização de metais ou ligas metálicas para aplicações médicas e odontológicas requer condições estruturais e superficiais que propiciem funcionalidade e biocompatibilidade. O titânio e suas ligas têm sido muito utilizados como biomateriais, pois exibem algumas propriedades interessantes como resistência à tenacidade, biocompatibilidade, resistência a corrosão, estabilidade química em ambiente fisiológico e módulo de elasticidade mais próximo ao do osso, se comparado com o aço inoxidável ou com a liga cobalto-cromo-molibdênio (Co-Cr-Mo) (RATNER, 2004). Chu et al. (2002) propuseram um modelo em que características biológicas de materiais e de fabricação são requisitos específicos exigidos para dispositivos ósseos implantáveis (Figura 1).

Figura 1 - Requisitos básicos para implantes.



Fonte: Adaptado de Chu et al., (2002).

Os metais têm sido empregados como alternativa na substituição de dentes perdidos, por possuir a vantagem de serem implantados e fixados mecanicamente ao osso. No início dos anos 70, com os trabalhos de investigação do grupo de Brånemark, deu-se início à utilização de implantes constituídos por titânio comercialmente puro. Os bons resultados da investigação experimental e clínica contribuíram para o aumento e generalização do uso deste material em medicina, conhecendo-se estudos de longo prazo que demonstram o seu sucesso (ALBREKTSSON et al., 1993).

A utilização de biomateriais na elaboração de implantes dentários tem mais de 40 anos, envolvendo diferentes materiais e apresentando tamanhos, forma e desenhos distintos, proporcionando um avanço da implantodontia (LINKOW, 1996). Infelizmente, nos últimos anos, a generalização da sua utilização clínica não foi acompanhada pelos benefícios da experimentação e investigação científica no que diz respeito à influência das propriedades físico-químicas dos materiais (ALBREKTSSON et al., 1993). Um material ideal para utilizar em implantodontia, deve possuir capacidade de adesão firme ao tecido ósseo e apresentar

características mecânicas adequadas ao desempenho das funções dos tecidos ou órgãos dentários que visa substituir (OHGUSH et al., 1992).

Os implantes dentários devem ter propriedades biomecânicas adequadas para suportar as forças mastigatórias e uma boa integração nos tecidos onde são colocados. Devem ainda suportar as forças a que são submetidos durante a sua função na cavidade oral e transmitir essas forças ao tecido ósseo envolvente de forma equilibrada, contribuindo para a sua diferenciação e aumento de resistência. No desenvolvimento de biomateriais para esta função, é fundamental estudar e compreender as interações que ocorrem após a sua implantação no tecido ósseo. Outro aspecto importante é a identificação dos fatores que direta ou indiretamente condicionam a formação da interface entre o osso e o implante (AFONSO, 1998).

Apesar de terem sido alcançadas altas taxas de sucesso na reabilitação com implantes orais, ainda há falhas que podem estar associada à biomecânica do implante, ao hospedeiro ou até mesmo técnica operatória, que podem representar aumento do tempo terapêutico, gerar custos adicionais e causar desconforto para o paciente e constrangimento para o profissional (BEZERRA, 2002).

Baseado nas deficiências apresentadas pelo titânio comercialmente puro (Ti_{cp}), como baixa resistência mecânica – fratura por fadiga, associada à elevada citotoxicidade do vanádio presente na liga titânio-alumínio-vanádio (Ti-6Al-4V) (DAVIDSON et al., 1994), tem-se buscado o desenvolvimento de novas ligas de Ti, que proporcionem adequadas propriedades biomecânicas. As ligas de NiTi podem atender aos requisitos de biofuncionalidade através de variações na composição da liga, tratamentos térmicos e superficiais adequados, que resultam em propriedades mecânicas e biológicas favoráveis as aplicações desejadas (KOTENKO et al., 2008).

3.3 CARACTERÍSTICAS DAS LIGAS DE NiTi

O NiTi é uma classe de materiais denominada ligas com memória de forma (LMF). O interesse e sucesso das aplicações desta liga estão relacionados com as propriedades inerentes como: Histerese Térmica, Memória de Forma Térmica, Superelasticidade (memória de forma mecânica) e Biocompatibilidade. Estas propriedades são determinadas por transformações cristalográficas envolvendo as fases martensita e austenita, as quais podem ser modificadas por mudanças na

composição da liga, trabalhos mecânicos e tratamentos térmicos (MERTMANN, 2000).

Somente em meados de 1990, produtos de NiTi passaram a ser comercializados e empregados na área clínica. Nas áreas médica e odontológica, a tendência à adoção de procedimentos cada vez menos invasivos, tem impulsionado fortemente o desenvolvimento da tecnologia de produção destes materiais. Nessas áreas, as ligas do sistema NiTi vêm substituindo com vantagens alguns materiais de comportamento convencional, como os aços inoxidáveis e algumas ligas de titânio, além de se mostrarem mais adequadas que outras ligas metálicas com propriedades superelásticas. Tal fato deve-se a alguns aspectos peculiares do comportamento deste material, como compatibilidade biomecânica específica (comportamento mecânico similar ao de materiais biológicos); biocompatibilidade (resistência à corrosão e baixa toxicidade); superelasticidade; efeito de memória de forma; atribuindo resistência a deformações localizadas (dobramento e torção); capacidade de recuperar grandes deformações sob tensão constante; resistência à fadiga; histerese; compatibilidade com imagens por ressonância magnética e propriedades inovadoras em comparação as ligas metálicas convencionais (RYHÄNEN, 1999; FIGUEIREDO, 2006).

Devido ao fato do corpo humano constituir um ambiente isotérmico, o material tem sido mais utilizado na sua forma superelástica. Muitos dispositivos biomecânicos têm sido produzidos com essas ligas, tais como *stents* auto-expansivos, filtros de veia cava, sistemas de oclusão de septo atrial, instrumentos cirúrgicos endoscópicos variados, fios ortodônticos, limas endodônticas, implantes dentários e próteses ortopédicas de material esponjoso. Entretanto, procedimentos médicos-odontológicos sempre envolvem riscos em algum grau, e os mais importantes estão relacionados com a resposta do tecido biológico vizinho (biocompatibilidade) e com a vida mecânica útil do componente (vida em fadiga) (FIGUEIREDO, 2006).

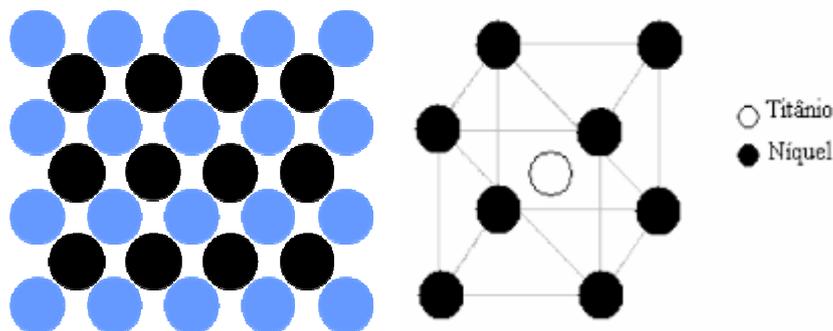
3.3.1 Propriedades intrínsecas dos elementos constituintes da liga de NiTi

Uma liga é um sólido ou líquido metálico formado por combinação íntima de dois ou mais elementos (CALLISTER, 2002). Das ligas que apresentam memória de forma, a liga de NiTi é uma das mais importantes, foi denominada de NITINOL no início dos anos 70 pelo engenheiro metalúrgico William F. Buehler, por causa dos

componentes da liga que são Níquel-Titânio e também em homenagem ao laboratório onde foram desenvolvidas as pesquisas (Naval Ordnance Laboratory), na cidade de Silver Springs, Maryland, EUA, em 1965.

A liga de NiTi é determinada pela miscibilidade dos átomos de Ni e Ti, que é caracterizada por uma solução sólida substitucional, onde os átomos compartilham uma única rede comum de posições atômicas (Figura 2) (WAYMAN, DUERIG 1990).

Figura 2 - Estrutura cristalina de liga de NiTi.



Fonte: Adaptado de WAYMAN e DUERIG 1990.

Para que ocorra esta solução sólida substitucional na liga, é necessário que os elementos que a compõem portem características determinadas pelas regras de Hume-Rothery (COTTRELL, 1993), como: **Fator do tamanho atômico:** Quanto mais o átomo de soluto difere, em tamanho, do átomo de solvente, mais estreito é o intervalo de composição em que a solução primária existe. Se o diâmetro atômico do soluto diferir em mais de 14% do correspondente ao solvente, a solubilidade é pequena, neste caso, o fator tamanho é desfavorável. **Fator eletroquímico:** Quanto mais eletropositivo é um componente e quanto mais eletronegativo é o outro, maior é a tendência para formação de compostos, em vez de soluções sólidas, e menor é a solubilidade. **Fator de valência:** Sendo todos os fatores iguais, um metal de valência mais baixa dissolve melhor em outro de valência mais alta do que o inverso. **E Fator de Estrutura Cristalina:** estrutura cristalina que cada elemento da liga apresenta (COTTRELL, 1993).

Desta forma, a liga de NiTi enquadra-se nestas regras, pois os raios atômicos do Ni e do Ti portam uma diferença menor que 14%, a eletronegatividade entre os átomos é menor que 1,7 e a diferença de valência entre os elementos está entre 1 e 2 (Tabela 1).

Tabela1 - Características químicas do Ni e do Ti.

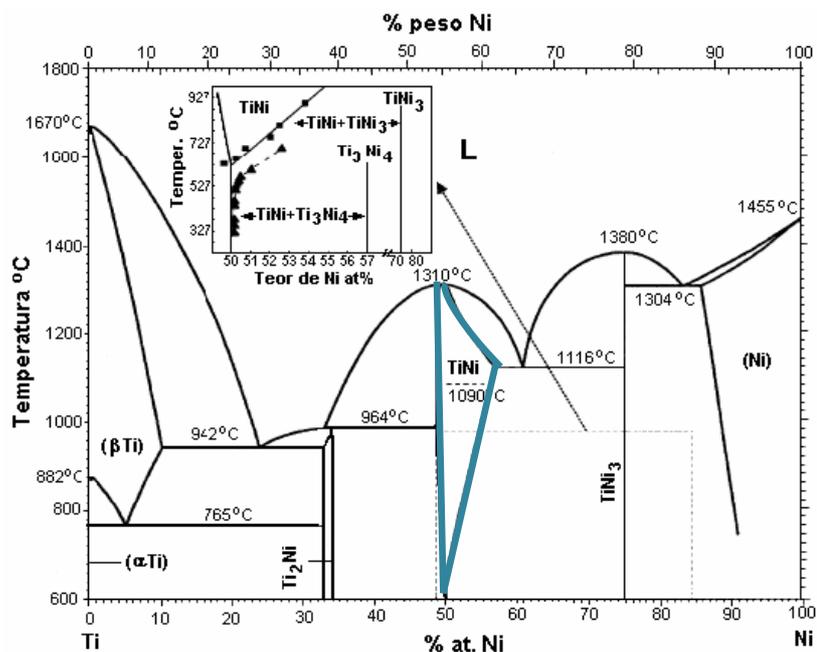
Metal	Estrutura Cristalina	Raio atômico (nm)	Valência mais comum	Temperatura de Fusão (°C)
Níquel	CFC	0,1246	2+	1455
Titânio β	CCC	0,1445	1,5+	1660

Fonte: Adaptado de Cottrell, (1993).

As propriedades de efeito memória de forma (EMF) e superelasticidade (SE) são apresentadas por ligas NiTi, aproximadamente equiatômicas, quando submetidas a transformações martensíticas termoelásticas, induzidas por variações de temperatura e/ou tensão a partir de fase austenítica B2 ordenada (FIGUEIREDO, 2006).

A Figura 3 apresenta um diagrama de equilíbrio para o sistema NiTi. Na região central, limitada pelas fases Ti_2Ni e $TiNi_3$, encontra-se a fase de interesse, NiTi, que a $1090^\circ C$ no resfriamento (linha pontilhada) sofre uma transição desordem-ordem, da fase cristalina cúbica de corpo centrado (ccc) para B2 ordenada. Abaixo de $650^\circ C$ a região da fase B2 torna-se muito estreita, determinando sua composição aproximadamente equiatômica (OTSUKA, WAYMAN, 1998; FIGUEIREDO, 2006).

Figura 3 - Diagrama de fases do NiTi



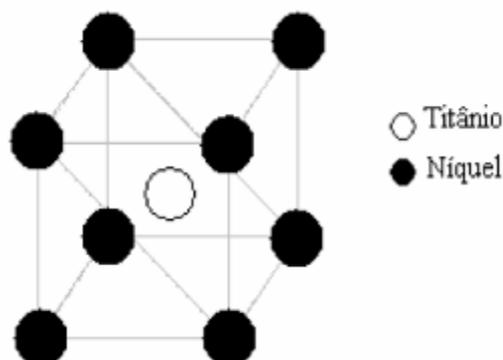
Fonte: OTSUKA, REN, 2005

3.3.2 Propriedades Estruturais da liga de NiTi

Sob uma perspectiva microscópica a transformação do estado sólido pode ocorrer de duas formas: difusional e displasiva. Transformações difusionais são aquelas nas quais uma nova fase pode somente ser formada pelo movimento randômico dos átomos a relativas longas distâncias. O progresso desse tipo de transformação é dependente do tempo e da temperatura. Em contraste, transformações displasivas não requerem longas movimentações dos átomos: neste caso os átomos são rearranjados em uma nova fase ou estrutura cristalina mais estável (WAYMAN, DUERIG, 1990).

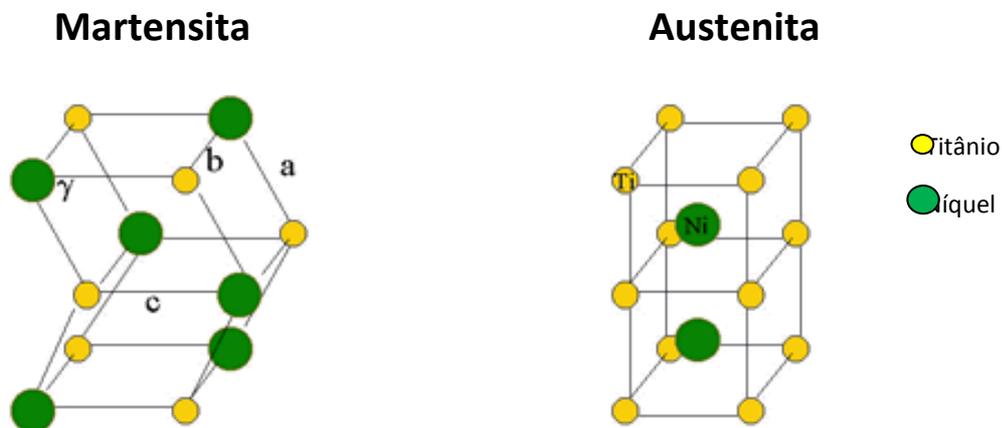
As transformações martensíticas são geralmente do tipo displasivas, e são formadas depois do resfriamento de uma fase de alta temperatura chamada de austenítica. A fase austenítica apresenta uma estrutura cúbica simples similar ao estrutura do tipo AX do CsCl, que é um material cerâmico (Figura 4 e 5). A fase martensítica apresenta uma estrutura monoclínica B19 (Figura 5), que se apresenta sob a forma lenticular ou de plaquetas alongadas (WAYMAN, DUERIG 1990). Por extensão, as estruturas criadas com estas características de transformações são chamadas de “martensitas” e as transformações cristalográficas sem difusão que lhes dão origem são chamadas de “transformações martensíticas” (CHIAVERINI,1996).

Figura 4 - Estrutura cristalina da liga de NiTi.



Fonte: WAYMAN, DUERIG, 1990

Figura 5 - Estrutura cristalina das fases da liga de NiTi, estrutura monoclínica na fase martensita e ccc na austenita.



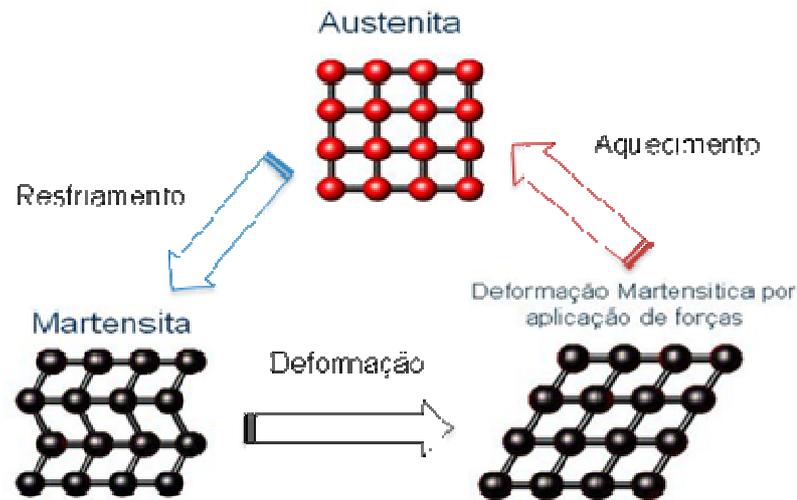
Fonte: Adaptado de Wayman, Duerig, (1990).

As ligas NiTi na fase B2 ordenada, fase β , são susceptíveis de sofrer transformação martensítica tanto por resfriamento abaixo da temperatura M_s (Martensita Inicial), quanto por efeito de aplicação de tensão, dentro de uma determinada faixa de temperatura, superiores a M_s . A fase B2 é cúbica de corpo centrado (ccc), com ordenamento de longo alcance, sendo sua célula unitária constituída por quatro átomos de Ti nos vértices do cubo e um átomo de Ni em seu centro, ou vice-versa (SHAW, KYRIAKIDES, 1995). A transformação martensítica de uma liga NiTi aproximadamente equiatômica, após recozimento, produz diretamente uma estrutura monoclínica B19 (OTSUKA, REN, 1999). A transição da estrutura austenítica para a martensítica da liga de NiTi promove um rearranjo dos átomos de Ni e Ti, provocando uma expansão da liga e no sentido contrário, promove uma contração. O fator de empacotamento na fase austenítica é maior (0,692) do que na fase martensítica (0,535), por isso a importância do conhecimento da estrutura cristalina da liga nas diferentes fases, para melhor entendimento das propriedades mecânicas do material, pois um maior fator de empacotamento determina uma maior rigidez do material.

A transformação de fase austenítica para martensítica, ou da fase matriz para a fase produto, em princípio é quem caracteriza o efeito memória de forma (EMF), que consiste na habilidade do material em memorizar sua forma depois de deformado plasticamente e retornar ao seu formato original com o aquecimento. No caso das ligas com memória de forma (LMF), a transformação martensítica é

reversível e termoelástica (OTSUKA, WAYMAN, 1998), o que leva a recuperação de forma imposta pela deformação plástica. A Figura 6 ilustra a transformação martensítica termoelástica que ocorre no interior do material durante um ciclo termomecânico de EMF (resfriamento→deformação→aquecimento).

Figura 6 - Ciclo de transformações de fases da liga de NiTi.



Fonte: SILVA, 2009.

Transformações martensíticas são transformações volumétricas de natureza cisalhante, que ocorrem pelo movimento cooperativo de átomos, quando o material é resfriado ou deformado. Tais transformações distinguem-se das maclações, pelo fato de que nestas não há mudança de fase, mas reorientação atômica volumétrica da mesma fase, produzindo deformação plástica que é determinada pela aplicação de tensão. Em ambos os casos, cada volume realinhado do material sofre uma mudança de forma que distorce a matriz circunvizinha (REED-HILL, ABBASCHIAN, 1994).

3.3.3 Histerese Térmica

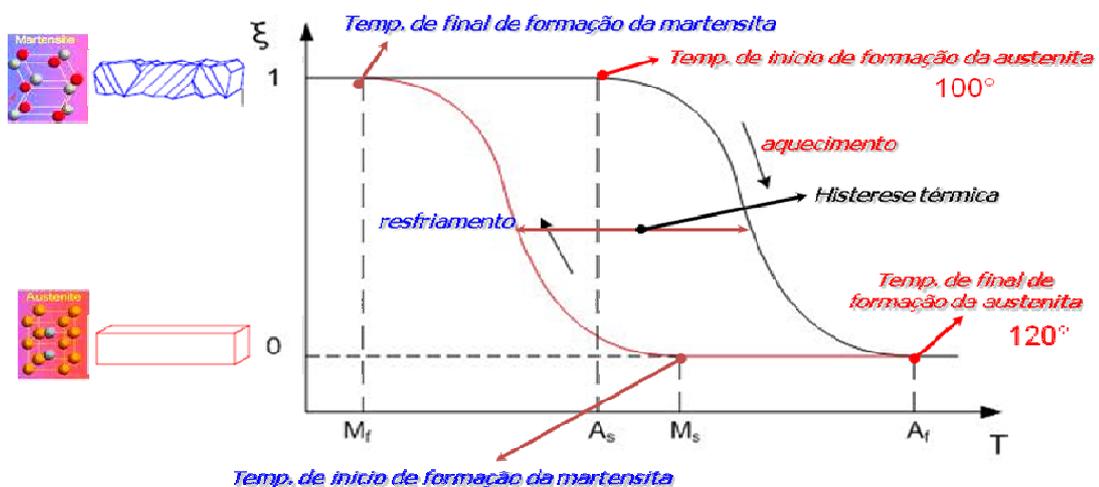
A diferença entre as temperaturas de transformação no aquecimento e no resfriamento é chamada de histerese. O intervalo de temperatura da transformação martensita-austenita que acontece durante o aquecimento, é um pouco maior que a transformação no resfriamento. Histerese é geralmente definida como a diferença entre as temperaturas nas quais o material está 50% transformado em austenita no

aquecimento e 50% transformado em martensita no resfriamento. Em geral, a histerese das transformações martensíticas termoelásticas variam entre 278K (5°C) e 323K (50°C) dependendo do tipo de LMF e do seu processamento termomecânico (RYHÄNEN, 1999).

As temperaturas críticas da transformação são: M_s : Temperatura de início de transformação martensítica; M_f : Temperatura de final da transformação martensítica; A_s : Temperatura de início da transformação austenítica; A_f : Temperatura final da transformação austenítica; H_f : Histerese da transformação (RYHÄNEN, 1999).

A Figura 7 apresenta, esquematicamente, temperaturas características das transformações martensítica e austenítica, que podem ser obtidas através das medidas de alterações em propriedades físicas do material, tais como a resistividade elétrica. Nesta figura, M_s é a temperatura, no resfriamento, na qual tem início a transformação da fase austenítica (FA) para fase martensítica (FM) e M_f é a temperatura final desta transformação, abaixo da qual o material é essencialmente martensítico; (A_s) é a temperatura, no aquecimento, de início da transformação reversa FM em FA e A_f é a temperatura em que termina esta transformação, acima da qual todo o material está na FA (austenítica); T_1 é a histerese de temperatura. Entre M_s e M_f , no resfriamento, e entre A_s e A_f , no aquecimento, estão presentes simultaneamente as duas fases, austenita e martensita (OTSUKA, WAYMAN, 1998).

Figura 7 - Gráfico representativo da Histerese.



Fonte: ARAÚJO, 2009.

A transformação de fase inerente é a base para as propriedades raras destas ligas, em particular, memória de forma e superelasticidade (ZHOU et al., 2000). Uma mesma martensita pode ser formada com diversas orientações, denominadas variantes, a partir da mesma fase austenítica (FA). Encontram-se facilmente essas variantes em martensitas auto-acomodadas, obtidas por resfriamento sem aplicação de tensões. Diferentes variantes têm diferentes orientações locais e as interseções coerentes de tais variantes são contornos de macla, os quais podem ser movidos facilmente por aplicação de tensão (SHAW, KYRIAKIDES, 1995).

Tensões aplicadas podem afetar o comportamento na transformação, uma vez que atuam na estabilidade da fase em que se encontra o material. Assim, um material na FA submetido a tensões pode ter suas temperaturas de transformação aumentadas, como efeito da desestabilização da austenita. Neste caso, transformação martensítica (TM) e transformação austenítica (TA) ocorrem a temperaturas superiores a M_s e A_s respectivamente. Esta elevação das temperaturas de transformação não é ilimitada, sendo conhecida por M_d a maior temperatura na qual ocorre transformação martensítica sob tensão; analogamente, denomina-se A_d (transformação austenítica sob tensão) a menor temperatura de início da TR (transformação reversa) quando sob tensão. A martensita produzida nessas circunstâncias é denominada martensita induzida por tensão (MIT) e tanto a presença quanto a organização de variantes são afetadas (OTSUKA, REN, 1999).

3.3.4 Efeito de Memória de Forma (EMF)

Ligas com memória de forma (LMF) possuem capacidades de adaptação a estímulos externos como carregamentos ou temperaturas. A principal característica das LMFs são suas habilidades de memorizar configurações originais após terem sido deformadas; por aquecimento as ligas recuperam grandes deformações. Sua habilidade de sustentar grandes forças e deformações, para alterar sua forma, para mudar sua dureza e recuperar características com a mudança de temperatura ou aplicação de carga, e o potencial para agir como acionadores, têm feito destas ligas potenciais candidatas para aplicações estruturais ativas e inteligentes (LAGOUDAS et al., 1999).

Quando uma liga com memória de forma está em sua forma martensítica, ela é facilmente deformada para uma nova forma. Entretanto, quando a liga é aquecida

através da sua temperatura de transformação, acima de A_f , ela reverte para austenita e recupera sua forma inicial (MERTMANN, 2000).

3.3.5 Superelasticidade

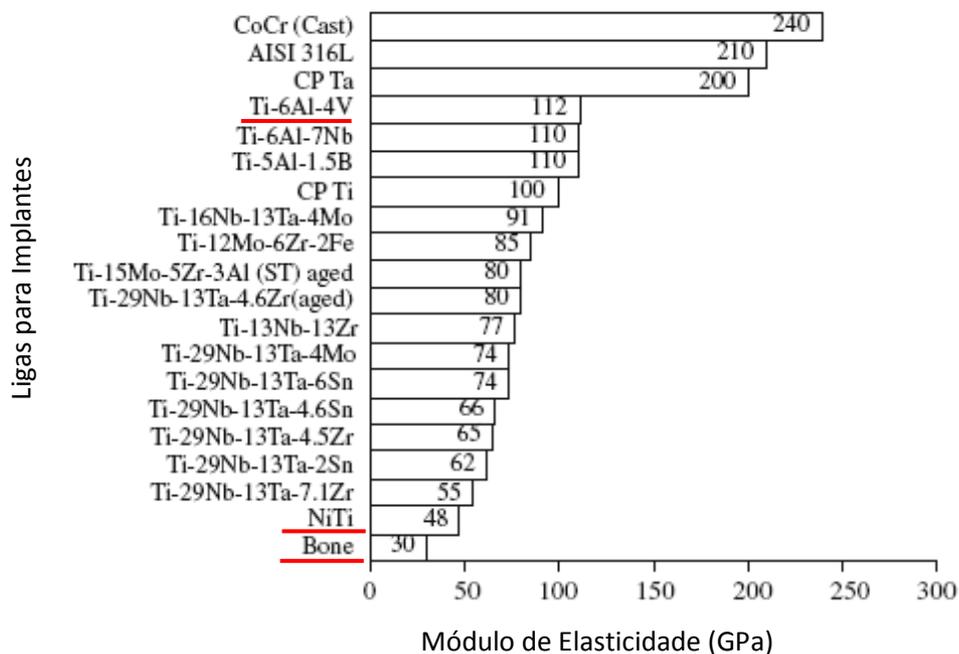
Pseudoelasticidade é a capacidade de recuperar grandes deformações apenas com a retirada das tensões, por transformação de fase ou rearranjo de variantes da martensita, sem que haja necessidade de variação de temperatura. Quando a pseudoelasticidade ocorre pela transformação de fase ($FA \leftrightarrow FM$), ou seja, produção de martensita induzida por tensão acima da temperatura A_f do material emprega-se o termo **superelasticidade** (SE) para identificá-lo. Quando o fenômeno ocorre com o material na FM ($FM \leftrightarrow FM$), o mecanismo atuante é o rearranjo de variantes martensíticas (demaclação), através do movimento reversível de contornos de macla (subestruturas da martensita). É empregado o termo “**efeito borracha**”, durante este efeito, se for aplicada tensão, a deformação correspondente é recuperada com o descarregamento, devido à reversibilidade do movimento dos contornos de macla (SHAW, KYRIAKIDES, 1995; OTSUKA, WAYMAN, 1998; McNANEY et al., 2003).

A aplicação de uma tensão mecânica externa, com o material mantido a $T > A_f$, introduz energia mecânica suficiente para originar a formação de martensita a partir da estrutura austenítica. A deformação macroscópica é produzida como resultado da formação de variantes de martensita induzidas pelo estímulo mecânico. Quando a tensão é relaxada, a martensita deixa de ser a fase mais estável e se transforma novamente em austenita. A superelasticidade das LMF pode ser usada várias vezes, de forma cíclica, sem que o material sofra deformações plásticas permanentes (PELTON et al., 2000). Desta forma, a liga de NiTi é capaz de suportar grandes deformações quando submetido a tensões, mas volta a sua forma original quando a tensão aplicada cessa (FREIHERR, 1998).

O módulo de elasticidade é a medida de rigidez de um material, sendo indicada pela razão entre tensão e deformação. Desta forma, o estudo da rigidez dos materiais é importante como critério de sua seleção para determinadas aplicações. Sabe-se que o módulo de elasticidade das ligas de titânio para aplicação como implantes médicos e odontológicos é muito maior quando comparado ao do sistema ósseo que irá recebê-lo (Figura 8), enquanto que as ligas de NiTi, na fase

martensítica, apresentam módulo de elasticidade próximo ao tecido ósseo humano. Em implantes odontológicos, esta propriedade pode favorecer na potencialização da osseointegração e na redução do índice de fratura tanto do material quanto do osso que o aloja, já que esta propriedade pode permitir a dissipação das forças e redução de impacto durante a mastigação (GEETHA et al., 2009).

Figura 8 - Gráfico representativo da diferença dos módulos de elasticidade das ligas metálicas para implantes e do osso.



Fonte: GEETHA et al., 2009

Nas ligas com memória de forma, a estrutura austenítica se transforma em martensita com a aplicação de tensão. Com o aumento da magnitude da tensão aplicada, aumenta também a quantidade de martensita. Deformações superiores a 10% podem ser acomodadas por transformação martensítica induzidas por tensão. A estrutura martensítica formada pela superelasticidade é idêntica à formada através do processo de memória de forma (PELTON et al., 2000).

3.3.5.1 Propriedades mecânicas da liga de NiTi

O comportamento mecânico das ligas com EMF é grandemente determinado pela faixa de temperaturas em que se dá a solitação mecânica. Superelasticidade

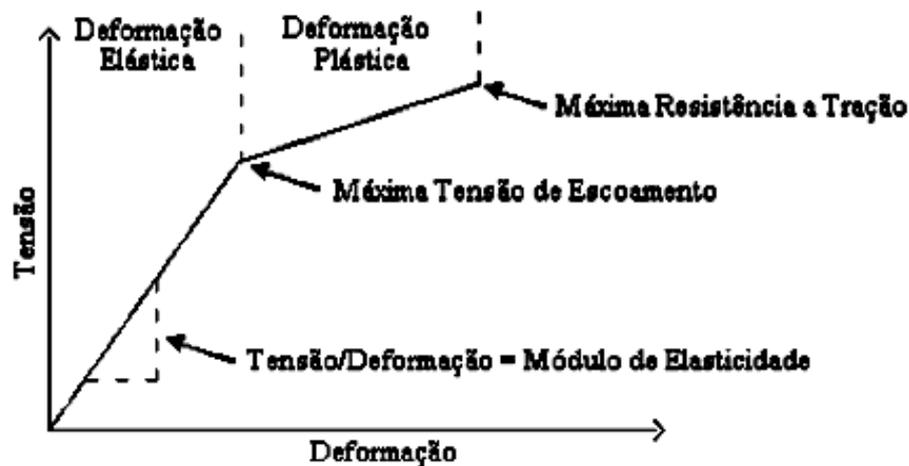
e efeito memória de forma são fenômenos estreitamente relacionados e complementares: o que não é recuperado quando a carga é retirada, pode ser recuperado com aquecimento acima de A_f (KRISHNAN et al., 1974).

LIU *et al.* (1998) reportaram discrepâncias entre as curvas tensão-deformação de ensaios de tração e compressão em uma liga NiTi martensítica, sob uma mesma taxa de deformação. A análise das microestruturas comprovou que o mecanismo de deformação da liga estudada é diferente para tensões de tração e compressão. No caso de tração, ocorre principalmente movimento de interfaces de placas de martensita (demaclação), enquanto, no caso de compressão, ocorre principalmente nucleação e movimento de deslocções.

Para aplicações de biomateriais na área ortopédica, bem como na área de implantes odontológicos, as duas propriedades de maior importância são resistência mecânica e reatividade química. Existem basicamente duas exigências mecânicas para o material e o projeto do implante. A tensão de serviço deve ser seguramente abaixo da tensão de escoamento do material e, sob carregamentos cíclicos, a tensão de serviço deve ser abaixo do limite de fadiga (RYHÄNEN, 1999).

O material exibe comportamento elástico até que uma tensão suficiente é aplicada para alcançar a tensão de escoamento, ponto no qual ocorre deformação permanente. No intervalo elástico, a razão tensão-deformação determina o módulo elástico, como mostra a Figura 9. O metal quebra quando a tensão excede a máxima resistência à tração (RYHÄNEN, 1999).

Figura 9 - Representação esquemática do comportamento tensão-deformação de um implante comum.



Fonte: RYHÄNEN, 1999.

Os implantes devem ser projetados para que as fraturas mecânicas sejam evitadas. Trincas sempre existem em materiais, e os componentes devem ser tolerantes à sua presença. Fraturas mecânicas podem ser prevenidas através de projetos nos quais se preveja a presença de trincas aplicando-se conceitos de fator de segurança. Entretanto, apesar da necessidade óbvia de aproximações para uma perspectiva de engenharia, fatores de segurança, têm sido raramente empregados na indústria biomédica (McKELVEY et al., 1998).

As modificações superficiais dos metais utilizados para implantes buscam otimizações das propriedades mecânicas, melhores respostas do hospedeiro versus implante, biocompatibilidade e menores reações teciduais, sendo necessários os inúmeros testes de citotoxicidade, como também os ensaios mecânicos, para que não venham ocorrer complicações quando na aplicação clínica (HONG, KLEIN, GROOT, 1994).

As ligas comumente utilizadas para implantes ortopédicos e dentários são ligas de titânio onde suas propriedades mecânicas ultrapassam as exigências para um material de implante. Os implantes ortopédicos e dentários requerem uma liga com resistência a força e deformação maior que a do osso, porém com módulo de elasticidade próximo ao do mesmo (McKELVEY et al., 1998).

O Quadro 1 apresenta uma relação de valores de propriedades físicas, mecânicas e de transformação de ligas binárias de NiTi com memória de forma, fornecidas por um fabricante.

Quadro 1 - Propriedades das ligas de NiTi.

Propriedades de transformação	
Faixa de temperatura de transformação.....	-200 to 110°C
Calor latente de transformação.....	5,78 cal/g
Deformação de transformação (para material policristalino)	
para 1 ciclo.....	max 8%
para 100 ciclos.....	6%
para 100.000 ciclos.....	4%
Histerese**.....	.30 a 50 °C
Propriedades físicas	
Ponto de fusão.....	1300 °C
Densidade.....	6,45 g/cm ³
Condutividade térmica	
austenita.....	0,18 W/cm. °C
martensita.....	0,086 W/cm. °C
Coeficiente de expansão térmica	
austenita.....	11,0x10 ⁻⁶ / °C
martensita.....	6,6 x10 ⁻⁶ / °C
Calor específico.....	0,20 cal/g. °C
Resistência à corrosão***.....	excelente
Propriedades elétricas e magnéticas	
Resistividade [resistência = resistividade x comprimento / área da seção transversal]	
austenita.....	aprox. 100 micro-ohms x cm
martensita.....	aprox. 80 micro-ohms x cm
Permeabilidade magnética.....	< 1.002
Susceptibilidade magnética.....	3,0x10 ⁶ emu/g
Propriedades mecânicas	
Módulo de elasticidade****	
austenita.....	aprox. 83 GPa
martensita.....	aprox. 28 a 41 GPa
Limite de escoamento	
austenita.....	195 a 690 MPa
martensita.....	70 a 140 MPa
Limite de resistência	
Inteiramente recozido.....	895 MPa
encruado.....	1900 MPa
Coeficiente de Poisson.....	0.33
Alongamento até fratura	
Inteiramente recozido.....	25 to 50%
encruado.....	5 to 10%
Formabilidade a quente.....	muito boa
Formabilidade a frio.....	difícil devido ao rápido encruamento
Usinabilidade.....	difícil (preferência por técnicas abrasivas)
** Valores para completa transição martensita-austenita. A histerese pode ser significativamente reduzida por transformação parcial ou ligas ternárias.	
*** Similar a aço inoxidável série 300 ou titânio	
**** Altamente não-linear com a temperatura	

Fonte: <http://www.sma-inc.com/> Shape Memory Applications, Inc.

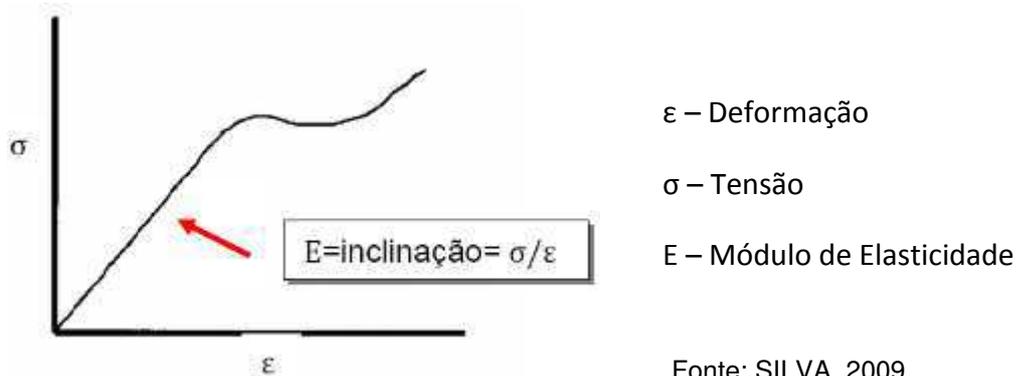
3.3.5.2 Análise Dinâmico-Mecânica (DMA) versus Liga com Memória de Forma

A análise dinâmico-mecânica (*Dynamical Mechanical Analysis - DMA*) é uma ferramenta muito importante na caracterização dos materiais que apresentam forte dependência da temperatura e freqüência de aplicação de carregamento mecânico, como é o caso dos polímeros e das LMF (SILVA, 2009).

Na caracterização mecânica de materiais, frequentemente utiliza-se ensaio de tensão-deformação, conforme ilustrado na Figura 10. Tradicionalmente, esse ensaio mecânico é realizado a uma temperatura fixa. A inclinação da linha determina a relação entre a tensão e a deformação e é a medida da resistência do material a

deformação, o módulo de elasticidade. O módulo é dependente da temperatura e tensão aplicada e indica como o material irá funcionar em uma aplicação real (SILVA, 2009).

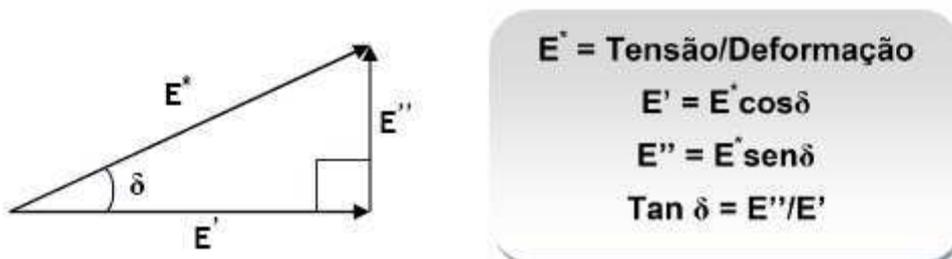
Figura 10 - Curva tensão-deformação ilustrando a inclinação, onde a razão da tensão pela deformação mede a resistência do material.



Em ensaio dinâmico-mecânico (DMA) uma carga é imposta repetidamente ao sistema, de forma que o módulo pode ser obtido cada vez que a tensão é aplicada. A varredura através de uma temperatura ou faixa de frequência permite determinar o valor do módulo de elasticidade a cada segundo em função dos parâmetros de ensaio (MENARD, 1999).

Pode-se separar a deformação em fase e fora de fase correspondente a senóide resposta da tensão aplicada. Como o módulo de elasticidade é tensão/deformação, o módulo complexo E^* pode ser calculado. A partir do E^* e da diferença da medição de diferença de fase δ , o módulo de armazenamento E' e o módulo de perda E'' podem ser calculados como mostrado na Figura 11 (SILVA, 2009).

Figura 11 - Obtenção dos módulos de armazenamento E' e de perda E'' .



O módulo de armazenamento (E') é a componente elástica e está relacionada à rigidez da amostra. Já o módulo de perda (E'') é a componente viscosa e está relacionada com a habilidade da amostra de dissipar energia mecânica através do movimento molecular. A tangente da diferença de fase, $\tan \delta$, é outro parâmetro comum que fornece informação sobre a relação entre as componentes elásticas e inelásticas. Todos esses parâmetros podem ser calculados em função do tempo, temperatura, frequência ou amplitude (tensão ou deformação) dependendo da aplicação. A relação entre os módulos de perda (E'') e armazenamento (E'), tangente do ângulo fase δ , também é chamada de amortecimento (*damping*). Conseqüentemente, o amortecimento é dado por $\tan \delta = E''/E'$. O amortecimento é uma propriedade adimensional e traduz quanto de energia o material consegue dissipar. Portanto, com o amortecimento, pode-se comparar se o material absorve ou libera energia (SILVA, 2009).

O comportamento das LMF diante da excitação mecânica é bastante peculiar visto que apresenta um alto grau de amortecimento, o que pode levar a um melhor controle de vibração e aumentar consideravelmente o tempo de vida útil dos produtos fabricados a partir desses materiais ativos. A liga NiTi está classificada entre os materiais metálicos com alta capacidade de amortecimento (VANDEURZEN et al., 1981). Essa elevada capacidade de amortecimento é atribuída à mobilidade da interface martensita/austenita e contornos de maclas apresentados por essas ligas. As ligas de base NiTi possuem alta capacidade de amortecimento durante a transformação de fase e na fase martensítica, ao passo que sua fase austenítica manifesta uma dissipação de energia bem mais baixa (LU et al., 2003).

3.3.6 Biocompatibilidade

A biocompatibilidade de um material não inclui apenas os fenômenos de interação entre os tecidos envolventes e o implante nos quais são colocados. Engloba, também, a biofuncionalidade, que é a resposta que os tecidos irão apresentar durante as solicitações a que são submetidos após implantação de um material (HONG, KLEIN, GROOT, 1994).

Nos materiais empregados em implantes intra-ósseos, a biocompatibilidade é analisada principalmente pela reação do osso ao material, onde, o ideal é quando se obtêm a osteogênese total, com a união físico-química do osso ao implante. Esta

interação está relacionada com cada estágio do fenômeno da osseointegração: (a) em um primeiro momento, a propriedade física “energia de superfície”, relacionada ao grau de molhabilidade da superfície do corpo pelo sangue, é de extrema importância e definirá o tipo e quantidade de contato que o novo tecido terá com o implante; (b) no segundo estágio, o potencial eletroquímico da superfície passa a determinar o grau de capacidade de adesão do implante ao novo tecido; (c) no terceiro estágio está relacionado com o tipo de troca iônica entre a superfície do implante e o organismo, que definirá o tipo de tecido (mineral e orgânico) ao redor do implante; e o último estágio (d) enfatiza que a topografia da superfície do implante definirá a capacidade de retenção pelo novo tecido formado, pela área de superfície específica, e manutenção desta retenção quando sob carga mecânica, pela ausência de arestas concentrando tensões pontualmente (VALLET-REGI, 2004).

A biocompatibilidade e biofuncionalidade são propriedades que juntas, atualmente, conceituam os biomateriais, ou seja, a capacidade de desempenhar adequadamente a função desejada com a necessária aceitação pelo organismo, dada as suas propriedades mecânicas, físicas, e químicas, o que compatibiliza o conceito apresentado por Williams (1991).

A alta resistência à corrosão, biocompatibilidade e citocompatibilidade do NiTi têm feito desta liga um grande atrativo para aplicações na área clínica. Os átomos de níquel são ligados quimicamente ao Ti, estabelecendo uma forte ligação entre os metais, o que torna o risco de reação com o organismo extremamente baixo, até mesmo em pacientes com sensibilidade ao níquel (MERTMANN, 2000).

O NiTi é um composto bimetálico, a força de ligação entre níquel e titânio é muito maior na liga NiTi do que entre os elementos da liga de aço inoxidável. Entretanto, como NiTi oxida, ele forma uma camada de TiO_2 (óxido de titânio) sem a presença de níquel na superfície que pode influenciar tanto na adesão celular como na proteção da liga. Teste de polarização em solução de Hank (solução salina balanceada, enriquecida com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular) têm repetidamente mostrado que o NiTi é quimicamente mais estável e menos susceptível a corrosão que o aço inoxidável (SPECK, 1980). Este material tem sido usado amplamente em áreas biomédicas. Porém, ainda é um biomaterial de uso controverso devido ao seu elevado teor de Ni (cerca de 50% at.), uma vez que a lixiviação de íons de níquel *in vivo* pode causar

reações citotóxicas. Portanto, é necessário melhorar a resistência a corrosão da liga de NiTi e suprimir a liberação de íons Ni através de técnicas de modificação de superfície (QIU et al., 2011).

3.4 INFLUÊNCIA DA SUPERFÍCIE DO BIOMATERIAL NA INTERAÇÃO COM O MEIO BIOLÓGICO

A biomecânica do implante é imperativa para alcançarmos sucesso clínico em longo prazo. A capacidade do implante de suportar cargas é dependente da qualidade da interface osso-implante. Conseqüentemente, modificações no desenho do corpo do implante e na sua superfície aumentam o sucesso pela promoção de uma maior área de superfície, contribuindo, assim, para o aumento na força da interface osso-implante, o crescimento ósseo mais acelerado, a melhor estabilidade inicial do implante e uma distribuição mais efetiva do estresse (HSU et al. 2007).

A composição química, as características físicas e a morfologia superficial desempenham um papel muito importante nas interações entre os materiais e os tecidos onde são implantados. A superfície do material é o local que primeiro entra em contato com os fluidos orgânicos e com o decorrer do processo de cicatrização tecidual, é a região onde vão ocorrer todos os fenômenos de regeneração óssea que levam à manutenção e ao sucesso clínico do implante (BLITTERSWIJK et al., 1991).

O primeiro evento que ocorre durante a interação dos biomateriais com os tecidos onde são implantados é a adsorção do sangue e das proteínas plasmáticas na superfície dos implantes (MALIK et al., 1992). A influência das variáveis físico-químicas na superfície do material e na adsorção e deposição de proteínas específicas é um dos fatores primários relevantes no processo de regeneração tecidual (HAZAN, BRENER, ORON, 1993).

O biomaterial ao ser implantado num organismo vivo deverá formar uma interface entre o biomaterial e o tecido ou entre o biomaterial e o sistema de fluidos orgânicos. As interações que ocorrem ao longo da interface podem ser consideradas um fator de destaque na determinação da biocompatibilidade do material (WILLIANS, 1989).

A biocompatibilidade pode ser parcialmente determinada pela sensibilidade da resposta do hospedeiro a composição química do material, bem como pelas propriedades de corrosão e molhabilidade superficial (KILPADI, LEMONS, 1994). A

molhabilidade superficial de um implante está diretamente relacionada com a energia superficial e é influenciada pelo grau de contacto com o meio fisiológico. O aumento da molhabilidade potencializa as interações entre a superfície do implante e o meio biológico envolvente, pois estudos evidenciam que, as superfícies de titânio não polidas apresentam uma tensão superficial significativamente mais baixa do que as superfícies polidas (KILPADI, LEMONS, 1994). A molhabilidade das superfícies dos implantes de titânio está condicionada a composição da camada oxidada, ao grau de contaminação e a morfologia superficial (ONG et al., 1997).

A rugosidade superficial tem um efeito marcante nas células e muitos aspectos da atividade celular são afetados por esta característica superficial, incluindo a proliferação celular, a diferenciação e a síntese da matriz orgânica (MARTIN et al., 1995).

3.4.1 Energia de Superfície dos Implantes

Qualquer tratamento de superfície cujo processo envolva transferência de energia pode alterar a energia livre de superfície do material, modificando assim as características de molhabilidade desta superfície e conseqüentemente sua funcionalidade biológica (KILPADI, WEIMER, LEMONS, 1998).

Lim et al. (2001) relataram um importante fenômeno: a adesão das células na superfície dos implantes. Foi estudada a relação entre rugosidade e ângulo de contato para analisar energia superficial, em vários tipos de materiais: Ti_{cp} , liga de Ti (Ti-6Al-4V) e liga de níquel-titânio (NiTi), foi submetido a tratamento mecânico, químico, por oxidação e mecânico-químico. O ângulo de contato foi medido usando água destilada, cloreto de sódio a 1%, neutrófilos humanos e células osteoblásticas, observando-se que quanto maior a rugosidade, menor o ângulo de contato e maior a molhabilidade.

Estudos têm sido realizados com o intuito de explicar a influência da energia de superfície de um material de implante sobre o comportamento celular. A teoria mais plausível é a de que a energia de superfície tem um efeito seletivo sobre a configuração e conformação das proteínas que são adsorvidas sobre uma superfície e importantes durante o processo de adesão celular, o que justifica os estudos

relacionados ao tratamento de superfície de ligas metálicas com aplicação biomédica (BAIER, MEYER, 1988).

A idealização de materiais que possibilitem o melhor desempenho funcional, maior durabilidade e biocompatibilidade, tem conduzido o desenvolvimento de compósitos de superfície. No caso de implantes para substituir tecidos rígidos, a associação de metal/cerâmica e polímero/cerâmica tem levado a pesquisas que possibilitem associar as adequadas propriedades físicas e mecânicas dos metais e polímeros, porém materiais inertes, com a bioatividade das cerâmicas, resultando nos biocompósitos de superfície. Estabelecer as condições da superfície do material bioinerte para obter uma efetiva ligação com o material bioativo e, deste com o meio biológico, compreende avaliar aspectos como rugosidade, molhabilidade, falhas, composição química, cristalinidade e o meio biológico local (FOOK, 2005).

3.4.2 Tratamento de Superfície da Liga de NiTi

Com o objetivo de aumentar a área de superfície e a qualidade de adesão da interface osso-implante, têm sido propostos processos de modificação de superfície, baseados no princípio de que uma melhor e mais rápida osseointegração pode ser alcançada por meio da alteração topográfica do implante (KLOKKEVOLD et al., 1997).

Um dos principais objetivos da pesquisa em implantes é o desenvolvimento de propriedades que induzam a uma reparação óssea rápida, guiada e controlada, a fim de acelerar o fenômeno de reparação, onde os implantes deveriam influenciar na formação de uma matriz óssea interfacial, denominada de neo-óssea, com composição, estrutura e propriedades biomecânicas adequadas e semelhantes àquelas da matriz óssea original. Estas adequações permitiriam não somente a recuperação mais rápida do paciente, mas também a fixação estável entre o osso e o implante, a qual forneceria a possibilidade da aplicação de carga mecânica mastigatória de modo imediato sobre o implante. Isto induz a um grande diferencial na diminuição do tempo de tratamento, aumento da casuística de sucesso, melhor efeito psicológico no paciente além da diminuição dos custos clínicos (PULEO, NANCI, 1999). Segundo Kilpadi, Weimer e Lemons (1998), os diversos processos de modificação de superfície nos implantes de titânio levam a necessidade de se

caracterizar estas superfícies, a fim de correlacioná-las às respostas biológicas correspondentes.

Os implantes metálicos empregados no sistema ósseo possuem uma resistência mecânica adequada, mas de acordo com seu comportamento biológico são considerados biotoleráveis, havendo a necessidade da capacidade de ligar-se intimamente ao tecido ósseo (RIGO et al., 1999). Desta forma, mostra-se a real necessidade de uma melhora na fixação do implante ao osso que pode ser otimizada com a aplicação de métodos de tratamento de superfície, com ou sem revestimento de cerâmicas bioativas (LIU et al., 2010).

Apesar da adequada biocompatibilidade, o titânio e suas ligas apresentam-se bioinertes, a união que existe entre esses biomateriais e o tecido é mecânica e não química, exigindo um longo período para a osseointegração, levando muitas vezes a movimentação da interface osso-implante. Dessa forma, várias pesquisas estão sendo desenvolvidas para aumentar e acelerar a osseointegração a partir da modificação de superfície (XUE, 2005).

Superfícies rugosas utilizadas em áreas endósseas de implantes dentários aumentam a superfície total disponível para aposição óssea e estabilidade mecânica, devido à interligação osso/implante (COCHRAN, 1999). Porém, ainda há controvérsias se o aumento da estabilidade mecânica dos implantes rugosos é devido ao aumento de tecido interligado no âmbito da rugosidade superficial ou devido à integração óssea (VERCAIGNE et al., 1998).

Nos últimos anos, tem havido uma tendência para substituir superfícies tratadas mecanicamente por superfícies tratadas com produtos químicos, a fim de acelerar a osseointegração (BORNSTEIN et al., 2003). Tratamentos alcalinos e térmicos são métodos típicos de modificação na superfície do titânio e suas ligas para melhorar a bioatividade (KOKUBO et al., 2003).

Os implantes dentários de Ti_{cp} usinado já apresentam bons resultados da interação com o tecido biológico. Entretanto, são realizadas modificações na superfície dos implantes para potencializar a osseointegração. As modificações mais utilizadas são: aspersão térmica com TiO_2 , jateamento por partículas (Ti, Al ou Si), o ataque ácido e, mais recentemente, a técnica de tratamento de superfície a LASER (DINATO, POLIDO, 2001), bem como oxidação térmica, pulverização a plasma, a oxidação anódica e deposição biomimética (LIU et al., 2010).

O tratamento de superfície a LASER tem ganhado destaque por ser uma técnica que não deixa vestígios de contaminação na superfície, já que os processos de texturização podem causar contaminação do implante, caso a neutralização dos agentes ácidos utilizados no processo seja insuficiente, ou a eliminação de elementos abrasivos aplicados nas técnicas de abrasão mecânica não seja realizada de maneira eficiente (DINATO e POLIDO, 2001).

3.4.2.1 Superfície de Ligas de Titânio Modificada por LASER

Em 1917, Einstein elaborou o fundamento para o LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission Radiation*) por meio da introdução do fenômeno de emissão estimulada. Este fenômeno ocorre pela transição de um átomo para um estado de menor energia sob a influência de radiação eletromagnética (OKAZAKI et al., 1998).

O princípio de amplificação está na criação de uma grande população de elétrons, átomos, íons ou moléculas, estimulados a saírem do seu estado natural para um estado de maior energia (estado excitado). Quando retornam ao seu estado original, estes elétrons emitem fótons com uma energia correspondente a energia de transição entre os níveis eletrônicos do átomo. Através de um processo em cadeia, uma avalanche de emissões estimuladas de fótons e a amplificação do fenômeno acontecem. O feixe de fótons criado pode ser transmitido através de um espelho semitransparente. Além disso, a luz emitida é monocromática e direcional, permitindo assim se obter um foco extremamente preciso (BARRETA, 1995).

Um dos processos industriais de modificação de superfície é o processo de injeção de partículas a LASER, geralmente de intensidade alta, com 2 kW ou mais de potência. O feixe de LASER é transportado por meio de fibra ótica resultando em uma distribuição homogênea de intensidade. Após sair da fibra ótica, o feixe é colimado de forma a focar a amostra no diâmetro desejado. Entre o sistema de lentes e a amostra existe o soprador de gás que tem por função gerar uma armadura de gás inerte para proteger as lentes e evitar a oxidação da superfície da amostra (HERMAN, 1998; FAEDA, 2009).

György et al. (2002) utilizando LASER de alta intensidade com pulso simples, em amostras de titânio de alta pureza, demonstraram que os parâmetros de potência do feixe aplicado influenciaram na fusão da superfície. Desta forma, as principais características de uma emissão LASER são: (a) tipo: contínuo ou pulsado,

(b) comprimento de onda, (c) se pulsado, o formato do pulso, a variação da largura do pulso, da energia do pulso, e das potências de pico e média de frequência. Os principais parâmetros de controle do feixe de LASER quando na irradiação de uma superfície são: (a) potência, (b) frequência, (c) velocidade de varredura e (d) passo (BRAGA, 2007).

As altas densidades são fundamentais para se obter modificações de superfície em sólidos, desta forma, os LASERs, CO₂, Yb-YAG (*Pulsed Ytterbium Fiber Laser*) e Nd-YAG (*Neodymium – Yttrium Aluminum Garnet*) podem ser usados em aplicações de corte, solda e modificação de superfície. A princípio somente o LASER de CO₂ era usado para modificar superfícies. Pelo advento do LASER de alta potência no mercado, esta limitação foi eliminada e existe uma tendência nas indústrias da substituição do LASER de CO₂ pelo laser de Nd-YAG e Yb-YAG. Isso ocorre pela vantagem de transporte do feixe por fibras óticas flexíveis e a maior absorção do LASER pelo metal, o que compensa a sua menor eficiência com relação ao LASER de CO₂ (VAN NOORT, 1987).

A ablação é o processo de conversão da energia eletromagnética do feixe de LASER de alta potência em energia eletrônica, térmica, química e mecânica na superfície interagida do sólido. O material ejetado pode conter átomos, íons, agrupamento de matéria, elétrons e fótons. O mecanismo da ablação é caracterizado pelas taxas de remoção de material, excedendo uma monocamada atômica por pulso, deixando uma superfície residual não-estequiométrica; o átomo, íon ou agrupamento destes quando liberado é em função da densidade de excitação eletrônica; existe um fluxo limite abaixo do qual ocorre somente a emissão de partículas sem destruição da superfície original e altos fluxos são acompanhados pela formação de uma tênue camada ionizada de plasma dando origem ao fenômeno ablação através da interação plasma-superfície e fotoquímica do plasma induzido por LASER (MILLER, 1994).

Considerando a justificativa básica de se modificar a superfície de um implante pelo aumento da área de sua superfície ativa (KLOKKEVOLD et al., 1997), todo e qualquer processo para tal deverá ser o mais limpo possível quanto à contaminação residual deixada. Gaggl et al. (2000) apresentaram um estudo comparativo realizado entre a superfície modificada por LASER e aquelas modificadas pelos processos mais utilizados nos implantes existentes no mercado, onde o processo a LASER se mostrou como o mais limpo.

A irradiação da superfície de implantes de titânio usinado e jateados com Al_2O_3 sob efeito do LASER pulsado de alta intensidade, proporcionaram uma temperatura muito acima do ponto de fusão modificando a morfologia original da superfície dos implantes, mostrando que o tratamento com LASER remove as impurezas da superfície, cria uma topografia isomórfica e promove uma formação óssea mais intensa (PETÖ et al., 2002).

Moritz et al., (2003) mostraram o efeito da aplicação de feixe de LASER de CO_2 sobre as camadas de TiO_2 , previamente depositadas em substrato de vidro e de titânio, quanto às características de depósito posterior de hidroxiapatita (HA) sob imersão em solução SBF (*Simulated Body Fluid*). Concluíram que porosidades e espessuras da camada podem ser adequadas por meio dos parâmetros do feixe de LASER aplicado, acima de 18 W de potência, e o tratamento a LASER oferece uma nucleação mais rápida de HA em SBF quando comparado com a superfície de TiO_2 termicamente tratada em forno. A aplicação do LASER sobre a camada de TiO_2 também serve para a desinfecção da mesma.

Pesquisas experimentais têm mostrado que implantes com superfícies tratadas podem levar a uma integração mais rápida, um melhor contato osso-implante e maior torque para sua remoção quando comparados a implantes de superfície lisa (DE CARVALHO et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2004).

Outro importante fator está relacionado à energia de superfície que é o grau de molhabilidade da mesma. Hao et al. (2003) concluíram em seu estudo que a molhabilidade foi influenciada mais pelas mudanças microestruturais e quantidade de oxigênio do que pela rugosidade superficial. Dinca et al. (2006) comprovaram a não atividade citotóxica, a baixa adesão de microorganismo apesar do aumento da molhabilidade em relação ao titânio puro e aumento da resistência à corrosão em ligas NiTi preparadas por processo a LASER, comprovando a resposta biológica promissora para superfícies de implantes tratadas a LASER.

A ablação da superfície por LASER caracteriza-se por ser fácil de administrar, apresentar baixo custo, ser uma técnica limpa e reprodutível, a fusão e a solidificação rápida produz irregularidades uniformes, que podem ser controladas por vários fatores, tais como: parâmetro de feixes de laser e atmosfera durante irradiação (SISTI, 2011). O tratamento a LASER parece ser um método promissor para os implantes dentários, resultando em uma precoce osseointegração (DE CARVALHO et al., 2009; GYÖRGY et al., 2003; LAVISSE et al., 2002).

3.4.2.2 Superfície de Ligas de Ti Modificadas pelo Método Biomimético

Diversos tipos de biomateriais especialmente as biocerâmicas de fosfato de cálcio, continuam sendo pesquisadas e cada vez mais são utilizadas em procedimentos para a reconstrução e recomposição tecidual, devido às suas características e propriedades, principalmente biocompatibilidade, osteocondutibilidade, osteoindutibilidade intrínseca e ainda pela sua semelhança estrutural, química e física com a matriz mineral óssea (STORZ, GASTHUBER, WOYDT, 2001).

Pelo grande número de materiais cerâmicos utilizados como biomateriais e os diversos aspectos envolvidos na interação com os tecidos vivos, tem-se procurado classificá-los em grupos. Assim, em termos gerais, as biocerâmicas são classificadas como bioinertes e bioativas (VALLET-REGI, 1997). De acordo com a Conferência da Sociedade Européia para Biomateriais realizada na Inglaterra em 1986 (WILLIAMS, 1987) o termo bioinerte não é adequado, já que todo material induz algum tipo de resposta do tecido hospedeiro. No entanto, o termo ainda é comumente utilizado e definido por Wilson (1997) como um material que representa uma resposta interfacial mínima, que não resulta na ligação ou rejeição do tecido hospedeiro, podendo formar uma cápsula fibrosa ao seu redor. Como exemplo de cerâmicas bioinertes tem-se: alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), zircônia (ZrO_2) e dióxido de titânio (TiO_2) (VALLET-REGI, 1997). Por outro lado uma cerâmica bioativa é definida como aquela que induz uma atividade biológica específica, como a hidroxiapatita (HA) - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, o fosfato tricálcico - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e os biovidros (WILLIAMS, 1987).

A hidroxiapatita (HA) merece destaque por ser o constituinte principal da fase mineral dos tecidos calcificados. É um fosfato cerâmico ou biocerâmica que tem composição e estrutura similar a fase mineral de ossos e dentes (KAWACHI, BERTRAN, DOS REIS, 2000). O seu equivalente sintético possui propriedades de biocompatibilidade e de osseointegração, o que coloca esse material entre os mais importantes substitutos do osso humano em implantes e próteses. Nas aplicações tecnológicas, a HA é utilizada no preenchimento de cavidades, em forma de grãos densos ou porosos, bem como no revestimento de implantes metálicos, esses geralmente feitos de titânio. Nesse último caso, procura-se melhorar as características dos implantes, combinando-se a resistência mecânica do metal à atividade biológica do material cerâmico (SPIEKERMANN, 2000).

No início da década de 70, iniciou a busca por implantes que agregassem tanto propriedades bioativas, apresentadas pelos fosfatos de cálcio, como também boas propriedades mecânicas, provenientes geralmente dos metais, sendo que o primeiro implante com essas características foi obtido em 1972. Desde então, algumas técnicas de recobrimentos foram propostas com a finalidade de conjugar as propriedades do titânio e suas ligas, como a sua resistência à fratura, que é cerca de 40 vezes maior do que a hidroxiapatita, com a bioatividade de algumas cerâmicas, para, dessa forma, obter um material compósito, o qual pode ser utilizado como biomaterial (AOKI, 1994).

Esse método, que foi desenvolvido por Abe et al. (1990), consiste na imersão do substrato em uma solução SBF que simula a parte inorgânica acelular do fluido corpóreo, a fim de mimetizar o processo de formação de apatitas biológicas. Com tal método, pode-se avaliar a bioatividade de diversos materiais, além de ser utilizado para revestir materiais bioinertes (MULLER, MULLER, 2006). Esta técnica tem sido proposta por apresentar algumas vantagens em relação às demais (LIU et al., 2004; LU e LENG, 2005).

Por ser realizada em condições fisiológicas, a temperatura utilizada fica em torno de 37 °C, o que possibilita revestir materiais sensíveis à temperatura como os polímeros; apresenta baixo custo; pode ser utilizado para revestir materiais que apresentem geometria complexa; e os revestimentos apresentam boa uniformidade e adesão, devido à existência de ligação química que é responsável pela união do revestimento ao substrato, além disso, existe a possibilidade de incorporar moléculas orgânicas, como proteínas, na estrutura dos cristais (RESENDE, 2007).

Quando o método biomimético é utilizado para revestir implantes metálicos, um dos pontos críticos é a questão do tempo, que é considerado relativamente grande para recobrir todo o substrato. Em função dessa problemática, vários trabalhos têm sugerido alguns tratamentos com o objetivo de diminuir o tempo de formação da apatita, como por exemplo, imergir os substratos em soluções cujas concentrações são maiores que as dos fluidos corpóreos, ou apenas de algumas espécies (BARRERE et al., 2002, KASUGA et al., 2002).

As soluções simuladoras do fluido corpóreo acelular, com concentração igual ou próxima à do plasma sanguíneo, têm reproduzido bem os resultados obtidos *in vivo* (KASUGA et al., 2002).

Dentre as soluções desenvolvidas com a mesma finalidade, encontram-se a de Ringer (JUN et al., 2003), Neuman (MARQUES, 2003) e a de Kokubo (FENG et al., 1999). Sendo a solução de Kokubo a mais utilizada, pois é a que mais se aproxima da composição iônica do plasma. As soluções simulam apenas a parte inorgânica acelular do fluido corpóreo, componentes como proteínas, glicose, vitaminas e outros são excluídos (SISTI, 2004). A seguir, estão apresentadas na Tabela 2 as composições dessas soluções.

Tabela 2 - Concentrações das espécies químicas, em mmol L⁻¹, das soluções simuladas em comparação com o plasma sanguíneo.

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Plasma sanguíneo humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
Kokubo (SBF convencional) *	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5
Kokubo (SBF revisada) **	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
Ringer	133,5	5,0	2,6	1,0	142,2	2,4	1,14	-
Neuman	125,0	25	0,48	0,4	130,0	24,0	1,8	-

*Tampão utilizado: tris-(hidroximetil)aminometano / ácido clorídrico

**Tampão utilizado: HEPES [2-(4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazinil ácido sulfônico etano)].

Fonte: MARQUES, 2003.

Apesar de numerosos estudos terem sido conduzidos sobre o titânio a fim de compreender a formação da camada de apatita sobre a sua superfície, o seu mecanismo ainda não está definido (LU, LENG, 2005). Os mecanismos de formação de apatita sobre diversas superfícies são considerados essenciais para desenvolver materiais bioativos com novas funções físicas, químicas e biológicas (KOKUBO et al., 2000).

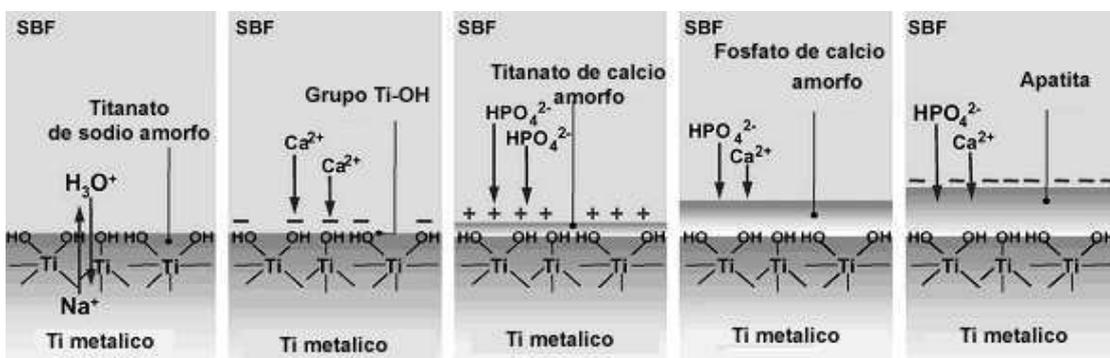
A superfície de alguns implantes metálicos, especificadamente do titânio, não induz naturalmente a nucleação de fosfato de cálcio em ambiente fisiológico simulado ou em soluções supersaturadas em cálcio e fósforo. Para contornar esta situação, vários métodos têm sido propostos para tratar a superfície do titânio de forma a ancorar alguns grupos específicos na sua superfície, que são responsáveis por induzir a nucleação dos fosfatos de cálcio. Dentre estes grupos, destacam-se as hidroxilas (Ti-OH, Si-OH, Zr-OH, Nb-OH, Ta-OH), carboxílas (-COOH) e os ortofosfatos H₂PO⁴⁻. Estes grupos funcionais possuem pares de elétrons livres que

atraem os íons cálcio da solução, formando assim uma camada de cálcio amorfo. Sendo que o método mais reportado na literatura é o tratamento alcalino com NaOH, que promove a formação do TiOH, favorecendo assim a formação do revestimento de fosfato de cálcio quando imersa em solução que simula o fluido corpóreo ou supersaturada em cálcio e fósforo (FENG et al., 1999, LEE et al., 2003).

Os tratamentos alcalinos e térmicos foram empregados pela primeira vez por Kim et al., (1996) para melhorar a bioatividade de biomateriais metálicos. Ao submeterem o Ti_{cp} a uma solução de NaOH (5M) a 60°C, durante 24 horas, seguido de tratamento térmico a 600°C por 1 hora, os autores observaram a formação de uma camada de titanato de sódio microporosa. Quando implantados *in vivo*, essa camada de titanato de sódio estimulava a formação de uma camada de apatita biologicamente ativa, capaz de se ligar ao osso. Nessa técnica, inicialmente as amostras são imersas em solução de NaOH a 5 ou 10 M por 24 horas, seguido de lavagem em água destilada e limpeza em ultra-som por 5 minutos e depois secas em estufa a 40°C por 24 horas. Finalmente as amostras são aquecidas entre 600 - 800°C por 1 hora, a uma pressão de 10^{-4} a 10^{-5} torr, devido à forte tendência de oxidação do titânio (LEGEROS et al., 2002; LEE et al., 2002).

Um dos mecanismos proposto para explicar a formação dos núcleos de fosfatos de cálcio sobre o titânio tratado com NaOH é descrito a seguir, e pode ser representado pela Figura 12.

Figura 12 - Representação esquemática da interação do titânio ativado com a solução SBF.



Fonte: Adaptada de KOKUBO et al., 2007.

Quando o titânio é submetido a um tratamento alcalino, o óxido presente na sua superfície reage com NaOH presente na solução segundo a Equação 1.

Gerando assim uma camada de titanato de sódio amorfo, que quando submetido a um tratamento térmico torna-se cristalino.



Após imersão desse material em SBF, haverá troca iônica dos íons Na^+ da camada amorfa com os íons H_3O^+ presentes na solução, o que resultará na formação de uma camada de Ti-OH sobre a superfície do titânio. Em virtude da troca iônica, o pH da solução aumentará, pois os íons H_3O^+ são removidos da solução, o que favorecerá o processo de nucleação de alguns fosfatos. Em seguida os grupos Ti-OH reagem com os íons cálcio da solução (formando um composto de cálcio amorfo), que por sua vez reagirão com os íons fósforo e carbonato da solução dando origem à camada de apatita (JONASOVA et al., 2004).

Apatita é um termo geral para minerais com composição $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$. Diferentes elementos podem ocupar os sítios M, Z e X. Na natureza, as apatitas podem ser encontradas em rochas ígneas. No sistema biológico são encontradas como constituintes de ossos e dentes de vertebrados, na forma de fosfatos de cálcio, onde os sítios M e Z são ocupados pelos elementos Ca e P, respectivamente, podendo o sítio X ser ocupado pelos íons OH^- , F^- , CO_3^{2-} e Cl^- . Particularmente referente ao íon CO_3^{2-} , este pode ocupar também o sítio Z das apatitas. Em ambos os sítios, a incorporação deste íon origina apatitas carbonatadas, que são denominadas de tipo A ou tipo B, dependendo do sítio ocupado por este íon. Quando o íon CO_3^{2-} encontra-se ocupando o sítio X, a apatita carbonatada é denominada do tipo A; já, quando este íon substitui, total ou parcialmente, o elemento P, presente no sítio Z, a apatita carbonatada é denominada do tipo B (AOKI, 1991).

A Tabela 3 apresenta a composição de elementos inorgânicos em ossos e dentes.

Tabela 3 - Composição inorgânica de ossos e dentes (%).

Elementos	Osso	Dentina	Esmalte
Ca	34	35	37
P	15	16	17
Mg	0,5	1,0	0,4
Na	0,8	0,4	0,6
K	0,2	0,1	0,2
C	1,5	1,1	0,8
Cl	0,2	Traços	0,3
F	0,08	0,03	0,01

Fonte: AOKI, 1991.

As biocerâmicas de fosfato de cálcio têm sido amplamente utilizadas em aplicações médicas, ortopédicas e odontológicas, como recobrimentos ou materiais densos para a reposição e reparação do tecido ósseo, devido à similaridade química e estrutural com a apatita biológica, que propicia a interação direta com este tecido (CAMPBELL, 2003). A classificação dos fosfatos de cálcio pode ser dada através da razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo - Ca/P, a qual varia de 0,5 a 2,0, conforme mostra a Tabela 4. Os fosfatos de cálcio podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} , sob condições alcalinas ou ácidas (AOKI, 1991).

Tabela 4 - Relação Ca/P das fases de apatita.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Ca/P
Fosfato Tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico (α , α' , β , γ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Monohidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	CaHPO_4	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato Heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Dihidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio (α , β , γ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5

Fonte: AOKI, 1991.

A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é um fosfato de cálcio hidratado, com razão molar Ca/P de 1,67 e compõe cerca de 95% da fase mineral dos ossos e dentes humanos. Sua similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos a torna um dos materiais biocompatíveis mais conhecidos, pois favorecem o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondução) e possibilitam ligações químicas entre ela e o tecido ósseo (bioatividade) com a conseqüente proliferação de osteoblastos. Sua superfície permite ainda a interação de ligações do tipo dipolo, possibilitando a adsorção de moléculas de água, proteínas e colágenos, o que induz a regeneração tecidual (LEGEROS, 1991).

Wang et al., (2003) relataram que tratamento alcalino é fundamental para favorecer a nucleação da apatita na superfície da liga Ti-6Al-4V após imersão na solução SBF. Mostraram que a mesma liga sem tratamento e exposta na solução SBF por 8 semanas não apresentou depósito, concluindo que o tratamento alcalino torna a superfície da liga bioativa.

Li et al. (2002) avaliaram revestimentos da superfície do titânio modificado quimicamente com NaOH a 5 M por 72 h a 80°C, e imersão em SBF por 28 dias, obtiveram revestimentos de fosfatos de cálcio com espessura da faixa de 30-40µm.

Chen et al. (2008) analisaram a formação de apatita sobre a superfície de Ti_{cp} tratado com uma solução de NaOH a 5 M por 48 h a 80°C, seguido de por lavagem em água deionizada e imersão das amostras em fluido corporal simulado (SBF) de acordo com Kokubo et al. (2007) por 14 e 28 dias. Verificaram que nas amostras imersas em SBF por 14 dias ocorreu formação de partículas esféricas de apatita de 5-10 µm, e as amostras imersas em SBF por 28 dias foram recobertas por partículas esféricas de apatita de 10-20 µm.

Lee et al. (2002) analisaram amostras da liga Ti-6Al-4V tratadas em NaOH a 5 M por 24 h, seguido por tratamento térmico a 600°C e 800°C por 1 h e imersão em SBF. Os autores verificaram que em ambas as superfícies ocorreram a formação de uma camada porosa de titanato de sódio, porém após os tratamentos térmicos diferenças significativas foram encontradas. O aquecimento a 600°C proporcionou a formação de um filme de titanato de sódio cristalino, o que favoreceu o crescimento de apatita, enquanto o aquecimento a 800°C o crescimento de apatita foi bem menor.

Wei et al. (2002) estudaram diversos parâmetros de tratamento alcalino com posterior tratamento térmico e imersão em solução de SBF, na tentativa de agilizar a formação de apatita na liga Ti-6Al-4V. As amostras foram tratadas em soluções de NaOH (3, 5, 10 e 15 M) em temperaturas de 60 ou 80°C; por 1, 3 ou 7 dias. Verificou-se que o melhor tratamento para a liga Ti-6Al-4V ocorreu em solução de NaOH 5 M a 80°C por 3 dias. As amostras tratadas nestas condições foram posteriormente submetidas a tratamento térmico a 500, 600 e 700°C por 1 hora, a fim de consolidar a camada de hidrogel de titanato de sódio e melhorar sua adesão ao substrato. O tratamento térmico realizado a 600°C por 1 hora resultou na melhor adesão e melhor taxa de formação de apatita. Após a imersão em SBF, a formação de apatita sobre a liga Ti-6Al-4V ocorreu em apenas 3 dias, período bem mais curto que os 7 dias, relatado por Kim et al. (1996).

Kokubo et al. (1998) demonstraram que superfícies de titânio e suas ligas, em soluções alcalinas e com tratamento térmico produzem uma apatita similar à humana quando imersas em uma solução sintética de composição iônica semelhante à do plasma sanguíneo, SBF (*Simulated Body Fluid*). O NaOH resulta na formação de uma camada de gel hidratada de titanato contendo íons alcalinos em sua superfície. Este gel é desidratado e densificado para formar uma camada de titanato alcalino amorfo por meio do tratamento térmico a 600 °C. Quando esta superfície é colocada em SBF, os íons alcalinos são liberados da superfície de titanato e os íons H_3O^+ entram na superfície resultando na formação do hidrogel de óxido de titânio. A liberação dos íons Na^+ aumenta a concentração da solução SBF e pelo aumento do pH e do óxido de titânio há nucleação da apatita na superfície do titânio.

4 MATERIAIS E MÉTODO

Este trabalho de tese teve caráter teórico-experimental, sendo interdisciplinar no âmbito da Ciência e Engenharia de Materiais e foi executado usando as infra-estruturas do Laboratório Multidisciplinar de Materiais e Estruturas Ativas (LaMMEA) da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica (UAEM), do Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEMa) e o CERTBIO, ambos do CCT/UFCG e em parceria com o Instituto de Química da UNESP/Araraquara-SP e Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular do Departamento de Análises Clínicas da UNESP/Araraquara – Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Ligas de Níquel-Titânio (NiTi)

O trabalho envolveu a preparação de ligas de NiTi cuja composição química nominal projetada está apresentada na Tabela 5.

Tabela 5 - Composição nominal das ligas de NiTi.

Código da LMF	Composição nominal (% em peso)
NiTi – A	55 Ni – 45 Ti (Equiatômica)
NiTi – B	55,3 Ni – 44,7 Ti (Maior concentração de Ni)
NiTi – C	54,7 Ni – 45,3 Ti (Maior concentração de Ti)

As amostras foram confeccionadas no LaMMEA com as composições nominais mencionadas anteriormente, selecionadas a partir de ligas comerciais da área biomédica. Os elementos usados na produção das ligas NiTi foram o níquel eletrolítico comercial puro (>99,9%) e o titânio biomédico ASTM F67-00 (grau 2).

4.1.2 Fonte de Macrófagos

Nesta pesquisa foram utilizados camundongos machos, não isogênicos tipo Swiss, de 5 a 8 semanas de idade, pesando entre 20 e 28g, provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP. Os animais para o teste foram mantidos em gaiolas de policarbonato, em grupos de 5, com condições estáveis de ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$, $56 \pm 2\%$ de umidade relativa do ar) e ciclos de claro/escuro a cada período de 12 horas, recebendo ração (Purina®) balanceada e água “*ad libitum*”, por um período de 96 horas. Os animais foram eutanasiados em câmara de CO_2 . Cada camundongo serviu de fonte de macrófagos peritoneais. Todas as etapas que utilizaram células vivas dos animais foram realizadas em duplicata. Os procedimentos realizados com os animais foram conduzidos conforme normas da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e obtiveram parecer do Comitê de Ética local (parecer nº08/2010 CEP/FCF/CAr).

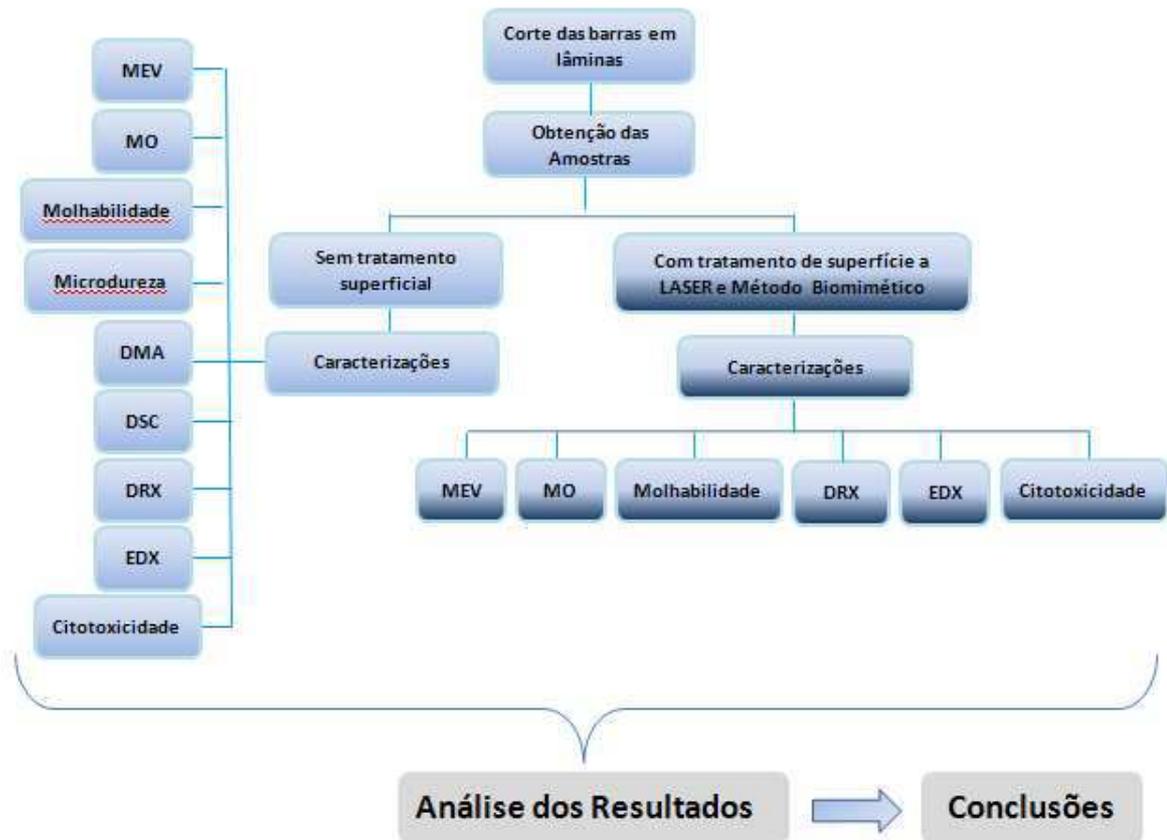
4.2 SEQUÊNCIA DA METODOLOGIA EXPERIMENTAL

O desenvolvimento do trabalho seguiu uma ordem de execução desde a síntese da liga de NiTi até as caracterizações. Para melhor compreensão, as etapas estão detalhadas nos fluxogramas das Figuras 13 (a) e (b).

Figura 13 (a) - Sequência da confecção dos corpos de prova.



Figura 13 (b) - Fluxograma representativo da metodologia e caracterizações empregadas.



As amostras de cada composição (NiTi - A, B e C) foram distribuídas segundo os critérios expostos na Tabela 6, com posteriores análises através das caracterizações microestruturais, físico-químicas, mecânicas e análise de biocompatibilidade.

Tabela 6 - Distribuição das amostras NiTi-A, B e C quanto às características superficiais.

Características Superficiais das Amostras
Bruta
Polimento
Polimento e LASER
Polimento, LASER e Biomimético (SBF tipo 0)
Polimento, LASER e Biomimético (SBF tipo 6)

4.3 MÉTODO

4.3.1 Obtenção das Ligas de NiTi pela Técnica *Plasma Skull Push Pull*

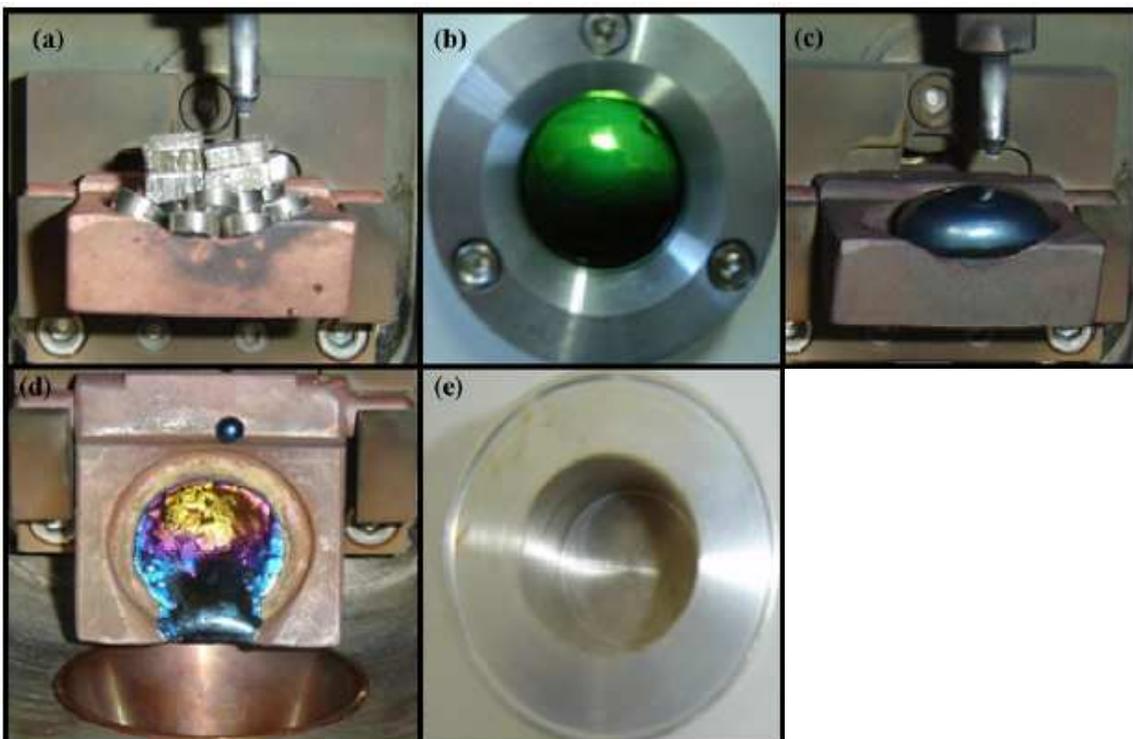
As ligas do sistema NiTi avaliadas neste trabalho de tese foram fabricadas pelo método Plasma Skull Push-Pull (PSPP) através do equipamento de fusão Discovery All da EDG Equipamentos, que utiliza o plasma térmico como meio de transmissão de energia para fundir a maioria dos metais (exceto metais com alto teor de zinco), inclusive titânio, níquel, cromo e cobalto. Nesse equipamento, o gás utilizado é o argônio, que pertence à classe dos gases nobres, cuja característica principal é a de ser inerte, ou seja, não se combina com nenhum outro elemento químico, e é encontrado na natureza em pequenas proporções. Atmosferas de argônio permitem fundir metais e suas ligas totalmente livres de oxidação. Para evitar a contaminação do metal fundido pelo material do cadinho, é utilizado o processo *Skull* de fusão, em que o material é fundido sobre uma fina camada dele mesmo (DISCOVERY, 2005). O equipamento Discovery utiliza também no processo de fundição e conformação o sistema *Push-Pull* (empurra-puxa, injeção de metal fundido no molde) onde o molde é submetido a uma pressão de 0,2 MPa (2 kg/cm²) na parte superior e vácuo na parte inferior resultando em uma fundição de alta qualidade e total segurança. A máquina de fusão a plasma pode ser visualizada na Figura 14.

Figura 14 - Máquina de fusão a plasma - Discovery All.



A Figura 15 mostra a sequência de obtenção de LMF pela técnica *Plasma Skull Push-Pull*. Os elementos utilizados na fabricação foram o níquel eletrolítico comercialmente puro (>99,9%) e titânio biomédico ASTM F67-00 (grau 2). Inicialmente os elementos puros foram colocados em um cadinho de cobre em ordem decrescente de ponto de fusão (Ti~1700°C e Ni~1400°C), como mostra a Figura 15 (a). Um eletrodo rotativo de tungstênio originou uma tocha de plasma em atmosfera de argônio, conforme mostra a Figura 15 (b), provocando a fusão dos elementos puros e formando o botão da LMF mostrado na Figura 15 (c). O processo de fundição foi repetido 5 vezes para efeito de homogeneização do produto final. Uma vez o metal completamente fundido, foi realizada automaticamente a injeção em uma coquilha cilíndrica de alumínio (Figura 15 e), contendo um molde, para que, ao final, se obtivesse um produto conformado, como mostra a Figura 15 (f), em forma de bastão.

Figura 15 - Processo de fusão a plasma pelo método *Skull Push-Pull*. (a) Elementos no cadinho de cobre; (b) Tocha de plasma; (c) Botão de LMF após fusão; (d) Cadinho após a injeção; (e) Coquilha de alumínio;



Fonte: ARAÚJO et al., 2009.

Após os ciclos de fundições para homogeneização dos componentes da liga, o molde bipartido de obtenção das amostras (Figura 16 b) foi adaptado a coquilha de alumínio (Figura 16 a) e levado até o equipamento para sofrer a injeção da liga metálica para se obter os corpos de prova em forma de bastão, que posteriormente foram cortados na cortadeira metalográfica de precisão da marca BUEHLER, modelo Isomet (Figura 16 c). Este equipamento possui um sistema no qual o material a ser cortado é constantemente lubrificado com um fluido de corte com o objetivo de diminuir o atrito entre o disco diamantado de corte e a amostra, reduzindo o grau de deformação da mesma. Por fim, foram obtidas as amostras de NiTi em forma de disco com diâmetro de 5 mm e espessura aproximada de 2 mm (Figura 16 d).

As análises das amostras brutas e polidas foram realizadas utilizando-se as técnicas de Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Molhabilidade, Microdureza, Análise Dinâmico Mecânica (DMA), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Difração de Raios X (DRX) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX).

Figura 16 – (a) Coquilha de alumínio; (b) Bastões de NiTi após a injeção e molde; (c) Cortadeira metalográfica de precisão BUEHLER; (d) Obtenção das amostras.



4.3.2 Modificação de Superfície das Ligas de NiTi por LASER

Previamente a aplicação do LASER, as amostras foram polidas com uma seqüência de lixas de carbetto de silício nas granulometrias 180, 240 e 500 mesh, em seguida foram limpas em banho de ultrassom com água destilada por 10 min, posteriormente, foram secas a 60°C por 3 h, tratamento prévio para as amostras que receberam apenas o polimento e para as que receberam o polimento e a modificação de superfície por LASER e pelo Método Biomimético. Para a irradiação as amostras foram posicionadas de maneira que o centro da área de irradiação apresentasse a menor inclinação do feixe. As amostras foram expostas a irradiação a LASER por um minuto, seguindo os parâmetros descritos na Tabela 7, baseados no trabalho de Souza-Filho et al. (2011), seguida de lavagem em ultrassom com água destilada por 10 minutos e secagem a 60°C por 3h.

Tabela 7 – Parâmetros do feixe de LASER utilizados.

Propriedade do Feixe	Definitivo
Potência do feixe (w)	0-255
Velocidade de varredura (mm/s)	0-100
Espaço entre varreduras (mm)	0,01
Passo (número)	único
Freqüência de pulso (KHz)	20
Área média de exposição (mm²)	19

Os procedimentos de irradiação a LASER foram realizados no equipamento laser pulsado Yb:YAG , com potência: 20W pulsado e freqüência de 20Hz (*Pulsed Ytterbium Fiber LASER*, Sistema Omnimark 20F, Omnitek Tecnologia Ltda., São Paulo, Brasil) (Figura 17 a), do Departamento de Química do Instituto de Química Araraquara UNESP. Todas as amostras foram irradiadas com a mesma distância focal e pelo mesmo operador em atmosfera ambiente (Figura 17 b).

A análise da modificação de superfície por LASER foi realizada utilizando-se as técnicas de Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Molhabilidade, Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX) e teste de citotoxicidade.

Figura 17 – (a) Equipamento LASER *Ytterbium:YAG*; (b) Amostras de NiTi submetidas ao LASER.



4.3.3 Modificação de Superfície das Ligas de NiTi pelo Método Biomimético

O Método Biomimético consiste basicamente em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética, denominada *Simulated Body Fluid – SBF*, de composição iônica e pH semelhantes ao do plasma sanguíneo, pelo período de 7 dias a 37°C. Este método permite recobrir o substrato com uma camada uniforme de hidroxiapatita semelhante à apatita biológica encontrada no tecido ósseo humano (ABE, 1990).

Desde a sua primeira formulação, este método tem sofrido significantes variações, objetivando acelerar o processo de deposição e modificar a cristalinidade do recobrimento, incluindo pré-tratamentos do substrato e utilização de soluções com concentrações variadas. Outra alteração consistiu na modificação da composição da solução biomimética, com o objetivo de possibilitar a obtenção de diferentes fases de apatitas. O método foi inicialmente desenvolvido com o propósito de se obter no recobrimento somente a hidroxiapatita. Com o crescente interesse na utilização de outros fosfatos de cálcio como recobrimento, foram desenvolvidas soluções biomiméticas, as quais foram denominadas de SBF modificadas, possibilitando a obtenção das diferentes fases de apatita de importância biológica e

o planejamento da composição do recobrimento de acordo com a solução utilizada (APARECIDA, 2006).

Assim, o grupo de amostras recobertas com hidroxiapatita (HA) foi irradiado previamente com o objetivo de aumentar a interação química da HA com a superfície da liga de NiTi, seja pela presença de mistura óxidos de titânio estequiométricos e não estequiométricos, seja pela apresentação morfológica do NiTi irradiado na superfície. O que favorece a formação de grupos de apatitas sobre a superfície nano estruturada do NiTi (BHARATI, 2005; ZHANG, 2008).

Desta forma, para o recobrimento por deposição de HA, primeiramente os substratos foram lavados durante 10 minutos, em ultrassom com água destilada, para retirar as possíveis impurezas adquiridas no contato da amostra no momento de irradiação pelo feixe de LASER. Em seguida, as amostras foram submetidas à modificação química da superfície, ao serem imersas em 50 mL de solução de NaOH ($5,0 \text{ Mol.L}^{-1}$) na estufa por um período de 24 horas a $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$, com o objetivo de obter uma camada de titanato de sódio, a qual atua como sítios nucleantes para a deposição de apatitas, obtendo desta forma, uma superfície com atividade iônica adequada para induzir a deposição do filme biocerâmico. Após a imersão na solução de hidróxido de sódio (NaOH) as amostras foram lavadas em água destilada e banho em ultrassom por 10 minutos, para fazer a remoção de NaOH residual da superfície evitando-se a contaminação das soluções seguintes e, posteriormente, foram secas em estufa a $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 horas.

Após o estabelecimento das condições superficiais, as amostras foram submetidas ao recobrimento pelo Método Biomimético, por meio da imersão em soluções SBF-0 ou SBF-6 com molaridade 1,5 M, cujas concentrações iônicas estão descritas na Tabela 8. Estas soluções foram empregadas com o objetivo de analisar o efeito destas composições sobre a fase de apatita depositada. As soluções SBFs foram aplicadas, pois estimulam a formação de apatita como também reduzem o período de indução de fosfato de cálcio amorfo (ACP), proporcionando uma uniformidade da morfologia da superfície da liga após a deposição da apatita (APARECIDA, 2006).

Tabela 8 - Concentração iônica da solução SBF utilizadas tipo 0 e 6 (mmol.dm⁻³).

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻
SBF 0 (convencional)	142,0	5,0	1,2	2,5	147,8	1,0	0,5	4,2
SBF 6 (modificado)	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	-	5,0

Fonte: APARECIDA, 2006

As amostras permaneceram imersas nestas soluções por um período de 7 dias, em estufa a 37°C e pH 7,4, para a formação de uma apatita uniforme e homogênea sobre a superfície da amostra. As soluções foram trocadas periodicamente em intervalos de 24 horas (primeiro dia), em seguida a cada 48 horas, com o propósito de favorecer as condições de supersaturação da solução e, conseqüentemente, induzir a formação do recobrimento (APARECIDA, 2006; FOOK, 2005).

As caracterizações das superfícies foram realizadas utilizando-se as técnicas de Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Molhabilidade, Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDX) e teste de citotoxicidade.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DAS LIGAS DE NiTi COM E SEM TRATAMENTOS SUPERFICIAIS

4.4.1 Caracterização Microestrutural

4.4.1.1 Microscopia Óptica - MO

Muitos métodos são utilizados na determinação da estrutura interna dos metais, mas o exame metalográfico por meio de microscópio óptico constitui um dos mais importantes. A microscopia óptica é utilizada na metalurgia, possibilitando análises microestruturais de metais e ligas metálicas em geral servindo como ponto de referência para a microscopia eletrônica (APARECIDA, 2006).

Para a realização das caracterizações microestruturais das amostras sem os tratamentos de superfície, foram realizadas as etapas metalográficas convencionais de corte, embutimento, lixamento, polimento mecânico e ataque químico.

As amostras foram embutidas usando resina acrílica (Vipi Flash – VIPI) a frio em suporte plástico. Após o embutimento as amostras foram lixadas manualmente e polidas em uma politriz automática da marca AROTEC. Foram utilizadas lixas de carbeto de silício nas granulometrias 600 e 1200 mesh e foram polidas com uma suspensão de alumina (Al_2O_3) de granulação: 4 ($1,0 \mu$ de cor azul), 3 ($0,3 \mu$ de cor rosa) e 2 ($0,02 \mu$ de cor verde), conforme norma ASTM E 3–95 (1990), com o intuito de obter uma superfície plana e polida.

Nos materiais metálicos, os contornos de grãos podem ser identificados numa amostra preparada do material, como linhas escuras. As amostras são, em primeiro lugar, polidas de modo a obter uma superfície lisa e em seguida, atacadas quimicamente (contrastadas) em solução de ácido hidrófluorídrico (2 ml), ácido nítrico (5 ml), ácido acético glacial (30 ml) e H_2O deionizada (63 ml); os contornos de grão são corroídos mais rapidamente que o próprio grão, originando assim, pequenos sulcos ao longo dos limites de grão. Quando examinadas num microscópio óptico, a luz incidente não será tão intensamente refletida pelos contornos de grão e, como consequência, estes aparecerão como linhas escuras na lente ocular do microscópio (EXNER, 1985).

A observação metalográfica foi realizada antes e após o ataque químico durante 15 segundos, neutralizando com álcool isopropílico e mantendo-as secas com ar quente, com o intuito de revelar a morfologia das fases presentes nas amostras (VILLARINHO et al., 2010; KNEWITZ, 2008). Para isto, foi utilizado o Microscópio Óptico marca Olympus, modelo BX51M instalado e localizado no laboratório da unidade acadêmica de engenharia mecânica (UAEM) da UFCG.

As amostras tratadas a LASER e pelo Método Biomimético não foram submetidas às etapas de metalografia, no entanto, foram analisadas através da microscopia ótica, a fim de avaliar a topografia superficial presente. Para isto, foi utilizado o Microscópio Óptico marca Hirox, modelo (SHX- 13M) (Figura 18), instalado no CERTBIO / Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais - UFCG.

Figura 18 – Microscópio Óptico



4.4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

A técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura permite observar e caracterizar diferentes tipos de materiais, a partir da emissão e interação de feixes de elétrons sobre uma amostra, sendo possível caracterizá-los do ponto de vista de sua morfologia e sua organização ultra-estrutural. A microscopia eletrônica analisa o material através da irradiação por um fino feixe de elétrons que interage com a superfície da amostra e origina uma série de radiações, tais como: elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios X característicos, elétrons Auger, fótons, etc. Estas radiações quando captadas corretamente irão fornecer características sobre a amostra (topografia da superfície, composição, cristalografia, etc) (FOOK, 2005).

Foram obtidas as imagens topográficas das amostras de NiTi antes e após o tratamento de superfície a LASER e pelo Método Biomimético através do MEV, empregando o equipamento de bancada modelo TM-1000 da marca Hitachi, com aumento de até 10000 x, profundidade focal de 1 mm, resolução de 30 nm e energia fixa de 15 kV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa) (Figura 19), localizado no CERTBIO / Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais - UFCG.

Figura 19 – Microscópio Eletrônico de Varredura.

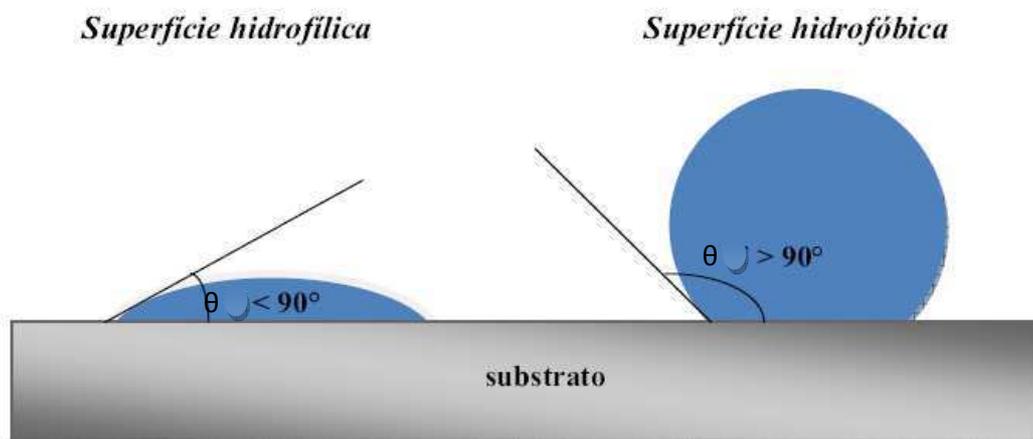


4.4.1.3 Molhabilidade

Diversos métodos são empregados para obter uma avaliação da interação entre as fases sólido/líquido, mas o ângulo de contato tem sido um parâmetro que apresenta excelente relação entre as interfaces (FOOK, 2005; LIMA, 2011).

A tensão superficial e a energia superficial estão relacionadas ao ângulo de contato θ , o qual é definido como o ângulo formado pela tangente entre duas interfaces em uma linha trifásica de contato, quando um líquido tem a capacidade de se espalhar sobre a superfície de um substrato (Figura 20) (McNAUGHT, WILKINSON, 1997).

Figura 20 - Representação esquemática do ângulo de contato.



Fonte: ESCADA, 2009.

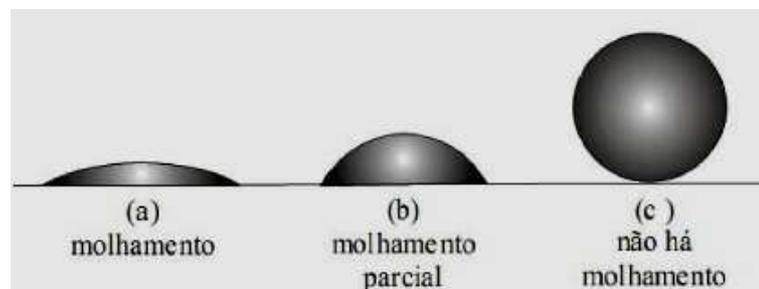
O resultado obtido neste ensaio depende das forças intermoleculares que se estabelecem entre as fases, resultando na medida chamada de ângulo de contato (θ). Por meio da medida do ângulo de contato entre a superfície do sólido e o plano tangencial à superfície líquida, pode-se obter a molhabilidade do líquido sobre um determinado substrato, conforme apresentado no Quadro 2 e Figura 21. A molhabilidade da superfície de um implante pode indicar a interação deste com as biomoléculas e células presentes no meio biológico (CULLITY, 1978; KENNEDY et al., 2006; LIMA, 2011)

Quadro 2 - Referências de ângulos de contato e condições de molhamento.

$\theta = 0^\circ$	Molhamento Completo
$0 < \theta < 90^\circ$	Molhamento Parcial
$\theta > 90^\circ$	Não há molhamento

Fonte: CULLITY, 1978

Figura 21 – Comportamento de uma gota apresentando alta molhabilidade (a), molhabilidade média (b) e não molhabilidade (c).



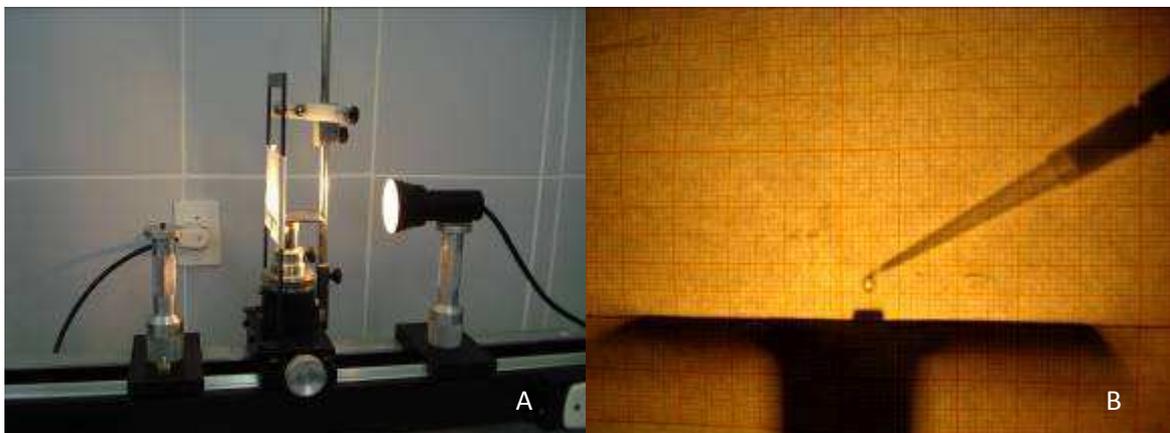
Fonte: FERREIRA, 2004

Se o ângulo de contato estático for um valor maior que 90° , o líquido tem tendência a não molhar a superfície e a fase é dita não molhante e diz-se que o material possui uma característica hidrofóbica. Com um valor aproximado a zero grau ($\theta = 0^\circ$), o líquido recobre toda a superfície formando um filme fino de fluido molhante, diz que o material apresenta uma característica hidrofílica, quando se emprega a água como líquido de referência para medir ângulo de contato. Quando o valor do ângulo for menor ou igual 90° , a molhabilidade é considerada parcial. Portanto, quanto menor for este ângulo, melhor será o molhamento (LIMA, 2011). Essa propriedade é denominada molhabilidade do material e está ligada com a energia de superfície do material. Em tecido vivo, como o osso, tem-se observado que tanto a

hidrofilicidade como a hidrofobicidade influenciam de forma marcante o comportamento celular (KENNEDY et al., 2006).

Para obtenção de um ângulo mais próximo do real, valores médios de grau de molhabilidade foram obtidos através de 5 mensurações nas amostras do estudo, visando avaliar a hidrofilicidade das ligas de NiTi com e sem modificação de superfície. A molhabilidade foi realizada em equipamento (Figura 22 a) desenvolvido e instalado no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais - UFCG. Os ensaios foram realizados à temperatura ambiente com umidade relativa do ar de 75%. Para medida de ângulo de contato foi necessário a deposição de uma gota (20 μ l) de água destilada na superfície das amostras de NiTi, aguardando-se 30 segundos de acomodação (Figura 22 b). A imagem foi capturada por uma câmara digital e remetida a um computador que através do Software Angle Calculator 1.0 faz a conversão do ângulo da interface líquido-sólido em unidade de tensão interfacial. Esta medida do ângulo de contato foi utilizada para caracterizar a molhabilidade das superfícies das amostras.

Figura 22 – Equipamento utilizado para análise de molhabilidade (a) e deposição do líquido de medida sobre a superfície da amostra (b).

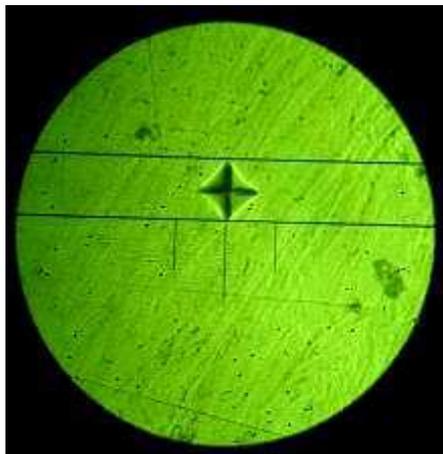


4.4.1.4 Microdureza

A dureza (H) é uma medida da resistência do material à deformação plástica, proporcionando uma indicação da resistência do material ao risco ou à abrasão. A microdureza das amostras foi determinada pela técnica de penetração Vickers. Nesta técnica, a determinação da microdureza é baseada no tamanho da impressão

causada na superfície do material pela carga aplicada pelo penetrador Vickers. Nesse ensaio é utilizado um penetrador de diamante padronizado, na forma de pirâmide com base quadrada e ângulo de 136° entre as faces opostas. As impressões produzidas em forma de pirâmide invertida, com base quadrada (Figura 23), sendo utilizadas para medir a dureza Vickers de materiais metálicos seguindo as normas ASTM E92-82 (2003). Os valores de H são apresentados como número de dureza Vickers (HV).

Figura 23 – Endentação do microdurômetro na amostra de NiTi.



O método de dureza utilizado foi o de microdureza Vickers, onde os testes foram executados à temperatura ambiente sob as condições de carga de 2N (200 gf) e tempo de penetração de 15 segundos. Com o auxílio do microscópio mensurador acoplado ao aparelho, a dimensão da diagonal (d), onde $d = d_1 + d_2 / 2$, das penetrações foram medidas e a dureza Vickers (Figura 24) determinada de acordo com a fórmula:

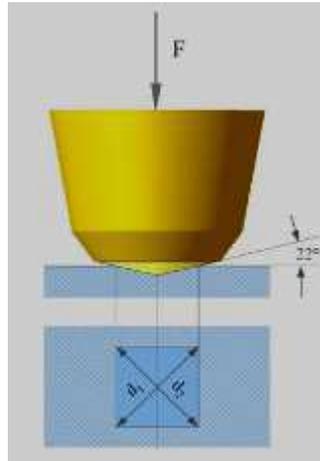
$$HV = 0,189 P/d^2$$

$$d = d_1 + d_2 / 2$$

Onde: P = carga aplicada (N);

d = comprimento da diagonal da impressão (mm) e $\theta = 136^\circ$.

Figura 24 – Esquema representativo de aplicação do método Vickers.

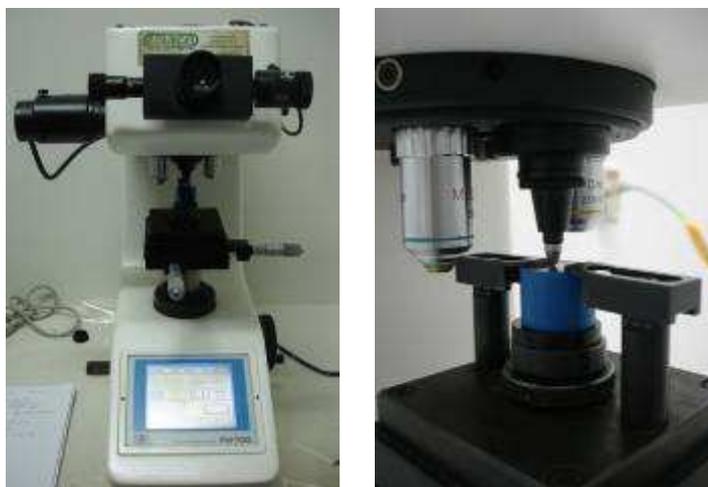


Fonte: Wikipédia.

As médias de dureza foram realizadas nas amostras de NiTi brutas. O cálculo foi realizado em seguida à realização de 5 penetrações em seu sentido longitudinal, tendo distância de aproximadamente 1 mm entre elas, varrendo a amostra de uma borda a outra, e posteriormente, foi obtida a média das aferições e o desvio padrão (VILLARINHO et al., 2010; KNEWITZ, 2008).

Os ensaios de microdureza foram realizados em um microdurômetro marca Future-Tech, modelo FM-700 (Figura 25), localizado no laboratório da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da UFCG. Esse experimento foi realizado com o intuito de verificar a relação da variação da composição química das ligas de NiTi e influência do tratamento de superfície a LASER sobre a propriedade de microdureza.

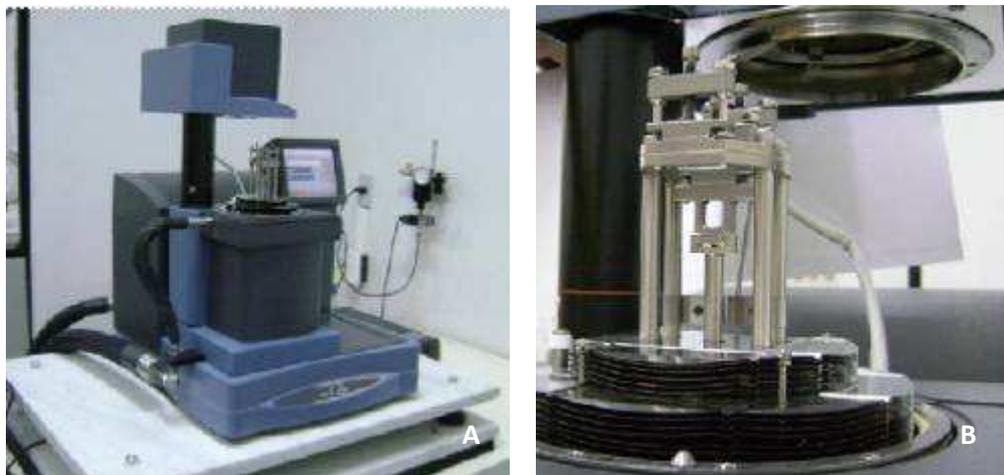
Figura 25 – Microdurômetro



4.4.1.5 Análise Dinâmico-Mecânica – DMA

Com o intuito de determinar a temperatura crítica de utilização das amostras de NiTi e obter algumas propriedades termomecânicas importantes, como o módulo de elasticidade e amortecimento, foi realizada uma análise dinâmico-mecânica utilizando um equipamento DMA, modelo Q 800 da TA Instruments (Figura 26 a e b), instalado no laboratório da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da UFCG. Esta técnica pode caracterizar materiais de diferentes graus de rigidez, partindo dos polímeros aos metais, bem como permite estudar o comportamento termomecânico dos materiais (em tração, compressão, flexão ou cisalhamento) a temperaturas variáveis sob carregamentos estáticos ou dinâmicos, as propriedades de amortecimento a temperatura, frequência e amplitude de solicitações variáveis e o fenômeno de dilatação térmica. Portanto, o DMA foi utilizado na caracterização termomecânica e dinâmica das ligas de NiTi propostas neste estudo.

Figura 26 – Analisador Dinâmico-Mecânico (a) e porta-amostra (tipo cantilever) (b).



O experimento em DMA consistiu na aplicação de uma força oscilatória em uma amostra e o estudo da resposta do material a esta carga aplicada. Os ensaios foram realizados no modo de viga simplesmente engastada (*single cantilever*). Os cilindros utilizados apresentavam comprimento útil e diâmetro de aproximadamente 17 e 5 mm, respectivamente. As temperaturas de transformação obtidas através das curvas dos testes dinâmicos foram determinadas por meio do uso do método do cruzamento das tangentes.

Segundo a literatura, visando o mínimo de dependência dos resultados obtidos em função das condições de medição, os parâmetros padronizados para a realização dos ensaios dinâmicos em materiais metálicos foram: frequência de 1 Hz, taxa de aquecimento de 5 °C/min e amplitude de oscilação de 5 µm, onde o equipamento impõe um deslocamento independente da força/carga aplicada (SILVA, 2009).

4.4.1.6 Calorimetria Diferencial Exploratória- DSC

Os métodos mais comuns utilizados para obtenção das transformações de fases são via DSC (Calorímetro Diferencial Exploratória) utilizando como procedimento seguido para preparação da amostra, bem como para calibração do equipamento, a norma ASTM F2004-00 *Standart Test Method for Transformation Temperature of Nickel-Titanium Alloys by Thermal Analysis* (ASTM, 2005a), e o BFR, *Bend and Free Recovery*, de acordo com a norma ASTM F2082-06 *Standard Test Method for Determination of Transformation Temperature of Nickel-Titanium Shape Memory Alloys by Bend and Free Recovery* (ASTM, 2009), para curvatura e livre recuperação pelo método de classificação de ligas Nitinol nas temperaturas A_f e A_s e o teste de resistividade. Neste trabalho abordou-se apenas o DSC.

As análises de DSC (Calorimetria Diferencial Exploratória do inglês *Differential Scanning Calorimetry*) deste experimento foram realizadas em equipamento DSC-50 Shimadzu (Figura 27) do laboratório da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da UFCG, o qual permitiu o cálculo do ΔH (variação da entalpia de transformação da reação), ou seja, mediu a quantidade de calor liberada ou absorvida durante a mudança de fase de uma amostra. A martensita se forma no resfriamento com liberação de calor, enquanto a austenita se forma no aquecimento em uma reação endotérmica. Essa técnica foi empregada para determinar as temperaturas de transformação de fase nas amostras de NiTi. Foi utilizado um equipamento DSC, trabalhando a uma taxa de aquecimento e resfriamento de 5 °C/min em uma faixa de temperatura situada entre - 50° C e 120° C sob atmosfera dinâmica de ar e de nitrogênio, com vazão de gás da ordem de 100 ml.min⁻¹, sob pressão atmosférica.

Figura 27 – Equipamento de Calorimetria Diferencial Exploratória



4.4.1.7 Difração de Raios X – DRX

As técnicas de difração de raios X são muito utilizadas na caracterização de materiais cristalinos, tais como metais, compostos intermetálicos, cerâmicas, minerais, polímeros, plásticos ou outros compostos orgânicos ou inorgânicos. As técnicas de difração podem ser usadas para identificar as fases presentes nas amostras de materiais inicialmente não-refinados a produtos acabados e fornecer informações sobre o estado físico das amostras, tais como o tamanho de grão, textura e perfeição cristalina. Muitas das técnicas de difração de raios X são rápidas e não destrutivas (APARECIDA, 2006).

Esta técnica apresenta várias investigações, incluindo análises de fases qualitativas e quantitativas, determinação da cristalinidade, micro-identificação, determinação de parâmetros de rede, caracterização de filmes finos, e em alguns casos, análise da estrutura do cristal (CULLITY, 1978; DIETER, 1961).

Neste trabalho, foi utilizado um difratômetro de raios X Shimadzu (modelo XRD 6000), instalado no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – UFCG, aplicando uma varredura angular entre 10 a 80°, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu ($K\alpha_1$) com passo de 0,05 (2θ), sendo que o tempo de passo foi de 1.0 segundo para cada amostra (Figura 28). A identificação das fases presentes foi realizada comparando-

se os dados obtidos com as fichas padrões da base de dados mantida pelo ICDD – *International Committee for Diffraction Data* (JOINT, 2003).

Figura 28 - Equipamento de Difração de Raios X



4.4.1.8 Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X – EDX

O EDX é um acessório essencial no estudo da caracterização microscópica de materiais, no qual os elementos químicos presentes numa amostra podem ser identificados através do espectro de raios X emitido pela amostra. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição química em amostras de tamanhos reduzidos ($< 5 \mu\text{m}$) (LIMA, 2011).

A caracterização físico-química das superfícies foi realizada por MEV associada à análise quantitativa por espectroscopia por energia dispersiva de raios X - EDX. As amostras com os diferentes tipos de superfície foram analisados utilizando-se o MEV modelo TM-1000 da marca Hitachi, acoplado ao EDX instalado no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais - UFCG. O EDX possibilita a observação do espectro inteiro de raios X de modo simultâneo à observação das imagens tridimensionais, o que permite a análise qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes principais da amostra, ou seja, o mapeamento da composição química das diferentes superfícies.

4.4.2 Análise de Biocompatibilidade das Ligas de NiTi

4.4.2.1 Determinação da Citotoxicidade pelo MTT

De acordo com o Órgão Internacional de Padronização (International Standard Organization), ISO 10993-5, o teste de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos (ROGERO et al., 2003).

Na presente pesquisa os testes de citotoxicidade foram realizados após a obtenção dos corpos de prova com e sem o tratamento de superfície a LASER e pelo Método Biomimético, através do contato direto entre as amostras e as linhagens celulares.

Para o ensaio de viabilidade celular foi utilizado o método baseado na capacidade que têm as células de clivar o anel tetrazólico presente no 3-(4,5-dimetil) tiazol-2-il-2,5-difenil brometo tetrazolio (MTT) pela ação de enzimas desidrogenases presentes na mitocôndria ativa, formando cristais de formazan (MOSMANN, 1983; WILSON, 2000).

Denizot e Lang (1986) e Santos, Daguano e Ribeiro (2007) descreveram o princípio desse método e de acordo com esses autores, as células absorvem o sal MTT, o qual é reduzido a cristais de formazan, no interior da mitocôndria através de ação enzimática. Esses cristais acumulam-se no interior da célula e, após abertura da mesma (lise), são liberados para o exterior da célula intensificando a cor azul no meio. A concentração de formazan produzido é avaliada através da absorbância e apenas as células viáveis são capazes de metabolizarem o MTT. O MTT convertido em formazan é solubilizado e pode ser lido por espectrofotometria em função desta conversão. Esta reação pode ser expressa em percentual de células vivas de acordo com a absorbância obtendo-se, o percentual de viabilidade celular em relação ao controle negativo (CASTRO et al., 2004; COSTA, SOUSA, 2005; SCHMALZ, ARENHOLT-BINDSLEV, 2009).

O MTT é um sal que é usado para desenvolver um ensaio quantitativo colorimétrico da proliferação e viabilidade celular das células de mamíferos. Este método pode ainda ser usado para medir a citotoxicidade, proliferação ou ativação das células. Os resultados são lidos em placas de cultivo num leitor de ELISA e demonstram um elevado grau de precisão (WILSON, 2000).

4.4.2.2 Esterilização do Material para o Teste de Citotoxicidade

Para a realização do teste de citotoxicidade utilizou-se as amostras polidas, tratadas a LASER e pelo Método Biomimético nas soluções SBF do tipo 0 e 6. Inicialmente as amostras foram separadas em tubo cônico estéril (Falcon), enumeradas e esterilizadas em autoclave vertical modelo Phoenix, a uma temperatura de 120°C por 20 minutos, para a eliminação de toda vida microbiana ou viral e em seguida secada em estufa FANEN 315 SE, a uma temperatura de 121°C por 1h.

4.4.2.3 Obtenção das células do Exsudato Peritoneal

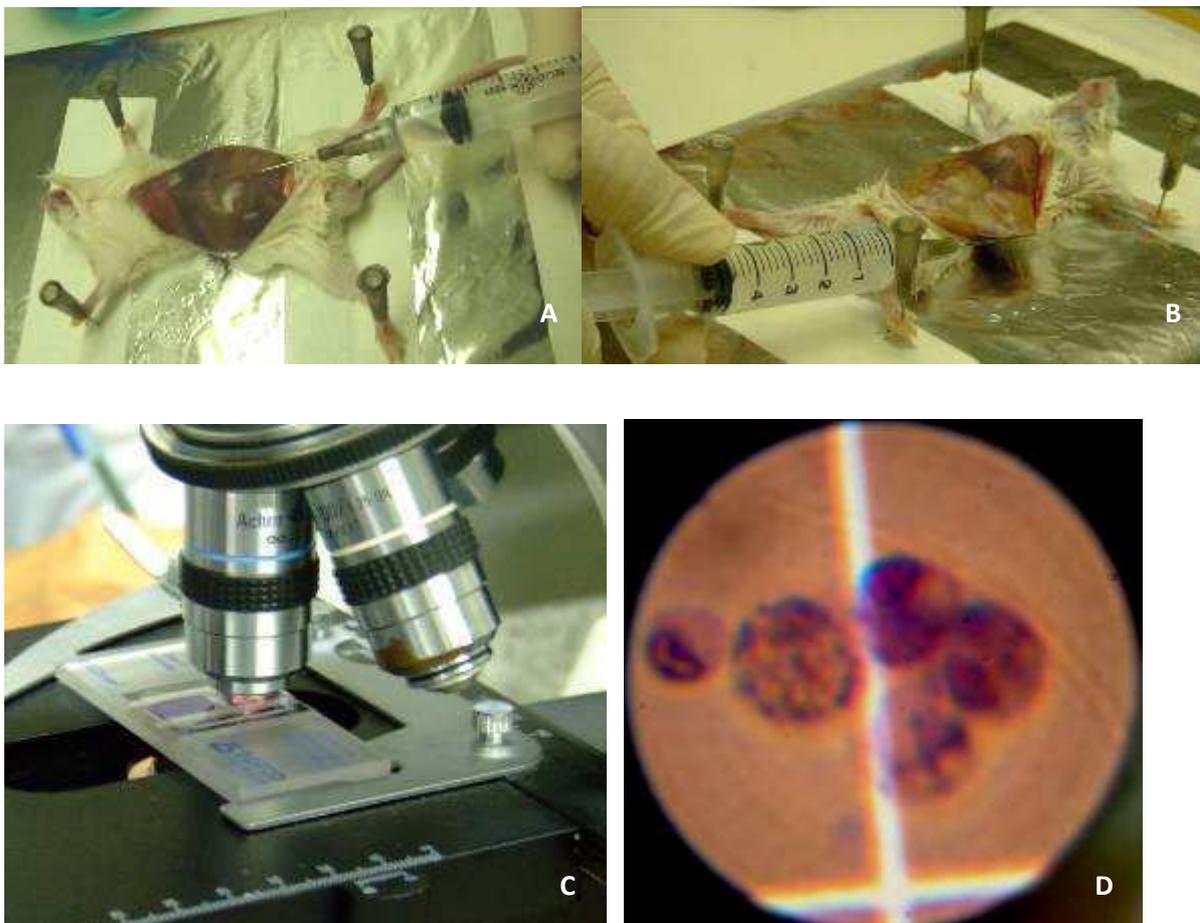
Os animais (Camundongos Swiss) foram previamente estimulados pela inoculação intraperitoneal de 3,0 mL de tioglicolato de sódio (Difco® Lab. LTDA) a 3,0%, três dias antes da coleta de células. Após esse período, os animais foram sacrificados por inalação em câmara de CO₂. Estes animais foram colocados em suporte e imobilizados pelas patas com o abdômen voltado para cima, tiveram a pele da região peritoneal retirada assepticamente, em câmara de fluxo laminar, Classe 100 (Veco®) e o peritônio exposto. Na porção mediana superior do abdômen foi injetado 5,0 mL de solução salina tamponada com fosfatos (PBS) estéril em pH 7,2 e a 4°C, com auxílio de seringa e agulhas também estéreis (Figura 29 a).

Após massagem manual vigorosa na região abdominal, para liberação dos macrófagos aderidos ao tecido, para o líquido, foram coletadas as células do exsudato peritoneal para o preparo da suspensão celular, com a mesma seringa e agulha (Figura 29 b) e dispensadas em tubo cônico estéril (Corning®, Inc., EUA) mantido em banho de gelo. As células coletadas foram lavadas três vezes com 5 mL de PBS, com pH 7,2 e centrifugadas a 2.000 rpm por 5 minutos a 4°C em uma centrífuga refrigerada modelo Universal 32R, marca *Hettich Zentrifugen*. Após as centrifugações, as células sedimentadas foram ressuspensas em 1,0 mL de meio de cultura RPMI-1640 (Sigma®) contendo 2β-mercaptoetanol (Sigma®) a 2×10^{-5} Mol.L⁻¹, penicilina 100 U/mL (Sigma®), estreptomicina 100 U/mL (Sigma®), L-glutamina 2m Mol.L⁻¹ (Sigma®) e 5% de soro fetal bovino (Cutilab®), sendo o meio

assim composto designado de RPMI-1640 completo (RPMI-1640-C) para cultura de células.

Para a padronização do número de células a serem utilizadas em cada experimento, foi realizada a contagem de macrófagos com o auxílio de uma câmara hemocitométrica de Neubauer (Boeco®, Germany). Desta forma, 10 μ l da suspensão de RPMI foram diluídos em 90 μ L do corante Líquido de Lázarus obtido através da mistura de solução de Violeta de Genciana (Synth), ácido acético glacial (Synth) e água milli-Q (água deionizada por meio do sistema que monitora a concentração de íons através da medição da resistividade elétrica da água), na proporção de: 0,02g/3mL/100mL, respectivamente (Synth). As células foram ajustadas à concentração de 5×10^6 células em meio RPMI-1640-C. A contagem do número de células foi realizada em microscópio óptico (Opton, 100x) (Figura 29 c e d).

Figura 29 – Injeção de PBS no animal (a), coleta do exsudato peritoneal (b), contagem de células na câmara homocitométrica de Neubauer em microscópio óptico (c) e aspecto da viabilidade celular (macrófagos) peritoneais dos camundongos.



4.4.2.4 Avaliação da viabilidade celular de células peritoneais aderentes

Numa placa de cultura de células estéril com 96 cavidades de fundo plano (Corning®, Inc.) foi adicionado 1,0 mL da suspensão celular e incubada a 37°C por 60 min em estufa contendo tensão constante de 5% de CO₂ (Forma Scientific). Após esta incubação, as células não aderentes foram retiradas e aos macrófagos que ficaram aderidos a placa, foi adicionado volume igual ao inicial de RPMI-1640-C em presença das amostras e noutras cavidades da mesma placa com as mesmas condições anteriores foram adicionadas 100 µL de uma solução de LPS (lipopolissacarídeo bacteriano de *Escherichia coli* da Sigma) como controle positivo e, somente meio de cultura RPMI-1640-C (controle negativo) em duplicata (Figura 30 a). A placa foi novamente incubada a 37°C em estufa contendo tensão constante de 5% de CO₂ (Forma Scientific) por mais 24 h.

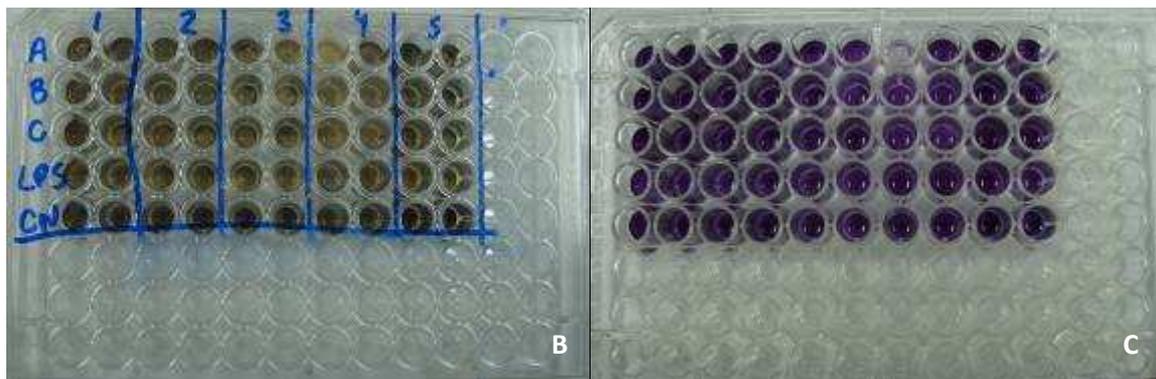
Figura 30 – Inserção das amostras nos meios de cultura (a).



As células aderentes foram tratadas com 100 µL de uma solução de MTT (Across Organics®) a 1 mg/mL em RPMI-1640 (Figura 30 b). A placa foi incubada por mais 3 horas, nas mesmas condições anteriores. Após esta incubação, os sobrenadantes foram descartados, as amostras retiradas e as células aderentes tratadas com 100 µL de isopropanol (Mallinckrodt®) para solubilizar os cristais de formazan formados (Figura 30 c). A leitura da densidade ótica foi determinada em espectrofotômetro (*Multiskan Ascent*®, *Labsystems Research Tech*®. Div., Helsinki, Finland) em UV/visível, a 540 nm, com filtro de referência de 620 nm. A viabilidade celular foi calculada em porcentagem, considerando-se o controle negativo como

100% de viabilidade. Este ensaio foi realizado no Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular, do Departamento de Análises Clínicas da UNESP, Araraquara - SP.

Figura 30 – Adição de 100µL de MTT (b) e células aderentes intensificando a cor azul dos cristais de formazan formados (c).



4.4.2.5 Determinação da produção de Óxido Nítrico

O óxido nítrico (NO) é encontrado desempenhando uma importante função como sinalização molecular em muitas partes do organismo, bem como sendo uma importante molécula citotóxica de resposta imune inata (KRÔNCKE, FEHSEL, KOLD-BACHOFEN, 1997). Sua ação decorre pela função homeostática, incluindo vasodilatação; neurotransmissão; inibição da adesão e da agregação plaquetária; pela ação de defesa contra agentes infecciosos tais como bactérias, fungos e parasitas, agindo também como destruidor de células tumorais. Muitas células imunes são capazes de produzir NO incluindo macrófagos (WEINBERG et al., 1995).

O reconhecimento de materiais estranhos ao organismo, durante o patrulhamento de infecções e de tolerância, é função dos macrófagos sendo feito, principalmente, através da produção de óxido nítrico pós-estímulo. Esta molécula é um potente antimicrobiano das células de defesa inata ou inespecífica. Um biomaterial não deve inviabilizar sua produção, para que não haja o desenvolvimento de infecções durante o seu uso. No caso de enxertos, isto é particularmente importante, para que não ocorra indução de rejeição, por ocorrência de uma resposta natural exarcebada (COSTA JR., 2008).

Neste trabalho, o óxido nítrico foi quantificado espectrofotometricamente pelo acúmulo de nitrito no sobrenadante da cultura celular através da reação de diazotação com o reagente de Griess (fornece um marcador e indicador quantitativo da produção de óxido nítrico) compostos de 1g de sulfanilamida (Merck), 0,1g de dicloro N(1-naftil) etilenodiamina (Merck), 2,5 mL de ácido ortofosfórico (Mallinckrodt Chemical) e 100 mL de água deionizada), conforme descrito por Green (1982); Reis et al. (2001); Yao, Vlessidis, Evmiridis (2004).

Para determinação da produção de óxido nítrico, as condições são as mesmas descritas no item anterior para viabilidade celular, sendo que, após a incubação da placa a 37°C com 5% de CO₂ por 24 horas, alíquotas de 50µL dos sobrenadantes das culturas de celulares do exsudato peritoneal são transferidas para uma placa de cultura de células, não estéril, contendo 96 poços de fundo plano (Corning, Inc.) e acrescidos de igual volume de reagente de Griess. Após 10 minutos de incubação, em temperatura ambiente e ao abrigo de luz, a absorbância será determinada em UV/visível com filtro de 540 nm em espectrofotômetro (Microplate Reader, Multiskan Ascent, Labsystems). As concentrações de NO liberado nos sobrenadantes das culturas celulares foram calculadas, a partir de uma curva padrão, previamente estabelecidas, com concentrações molares conhecidas de nitrito de sódio e os valores foram expressos em µmols de nitrito/ 5x10⁶ células (MOSMANN, 1983; VITRAL et al., 2008).

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DOS DADOS

Para análise dos dados foram obtidas as medidas: média, desvio padrão, coeficiente de variação, quartis e valores mínimos e máximos (Técnicas de Estatística Descritiva) e foram utilizados os testes estatísticos F (ANOVA) com comparações múltiplas de *Tukey-Kramer* e teste *t-Student* com variâncias iguais. Ressalta-se que a verificação das hipóteses de igualdade foi realizada através do teste F de Levene e a verificação da hipótese de normalidade através do teste de Shapiro-Wilk.

As análises estatísticas para os resultados da viabilidade celular e produção de óxido nítrico foram feitas utilizando o teste estatístico (ANOVA) em comparações de *Tukey-Kramer*, considerando estatisticamente significantes com $p < 0,05$. Foi

utilizado o programa *GraphPad InStat 3.0* (*GraphPad® Software*, San Diego, Califórnia, Estados Unidos).

Os dados foram digitados no programa Excel e o programa utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 15.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão das caracterizações serão apresentados na seguinte sequência: Liga NiTi equiatômica (NiTi-A), Liga NiTi com maior concentração de níquel (NiTi-B) e Liga NiTi com maior concentração de titânio (NiTi-C) e as características superficiais. Foram realizadas as caracterizações de DRX, EDX, MO, MEV, Molhabilidade, DSC, Microdureza, DMA e ensaios de citotoxicidade nas amostras sem tratamento de superfície. Após a submissão das amostras a modificação superficial por LASER e pelo Método Biomimético, foram realizadas as análises de DRX, EDX, MO, MEV, molhabilidade e ensaios de citotoxicidade. Os resultados serão expostos e discutidos no decorrer do capítulo obedecendo a sequência acima citada.

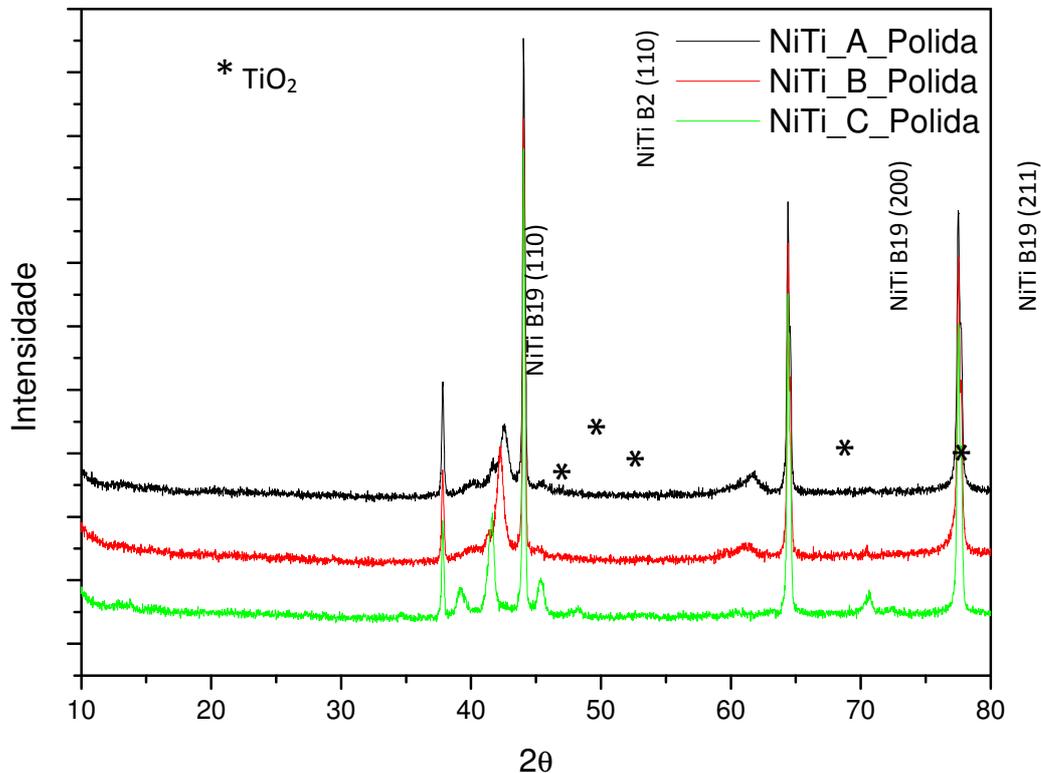
5.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS X – DRX

A análise de DRX das ligas de NiTi- A, B e C (Figuras 31, 32, 33, 34) apresentou picos localizados em aproximadamente $2\theta = 37,87^\circ$, característico de uma fase martensítica (B'19) correspondente a fase NiTi na direção (110) de acordo com a ficha 35-1281 do ICDD (2003) e picos situados em $2\theta = 43,14^\circ$, $2\theta = 64,33^\circ$ e $2\theta = 77,56^\circ$ indicativos de estrutura cristalina cúbica de corpo centrado, característica da fase austenítica (B2) da liga, com picos correspondentes a fase NiTi na direção (110), (200) e (211) respectivamente, segundo as fichas 19-0850 e 18-0899 do ICDD (2003), corroborando com os resultados encontrados por Ducos, (2006) e Souza-Filho et al. (2011).

Os difratogramas das amostras polidas e tratadas a LASER (Figuras 31 e 32) mostraram além dos picos característicos das fases da liga NiTi, outros de menor intensidade situados aproximadamente em $2\theta = 39,34^\circ$, $2\theta = 42^\circ$, $2\theta = 45,54^\circ$, $2\theta = 61,92^\circ$ e $2\theta = 70,80^\circ$, referente a possível presença de óxidos de titânio (TiO_2) segundo a ficha 21-1276 do ICDD (2003). Sabe-se que as ligas de titânio quando expostas ao ar são rapidamente recobertas com camadas nanométricas entre 4 e 6 nm de TiO_2 (THOMÁS et al., 1987), contudo, a amostra NiTi-C revelou uma maior intensidade nos picos referente aos óxidos de titânio, que pode estar relacionada a

maior concentração do Ti nesta liga, corroborando com a pesquisa de Almeida-Filho, (2008) e Gu et al. (2005).

Figura 31 - Difratomogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C polida.

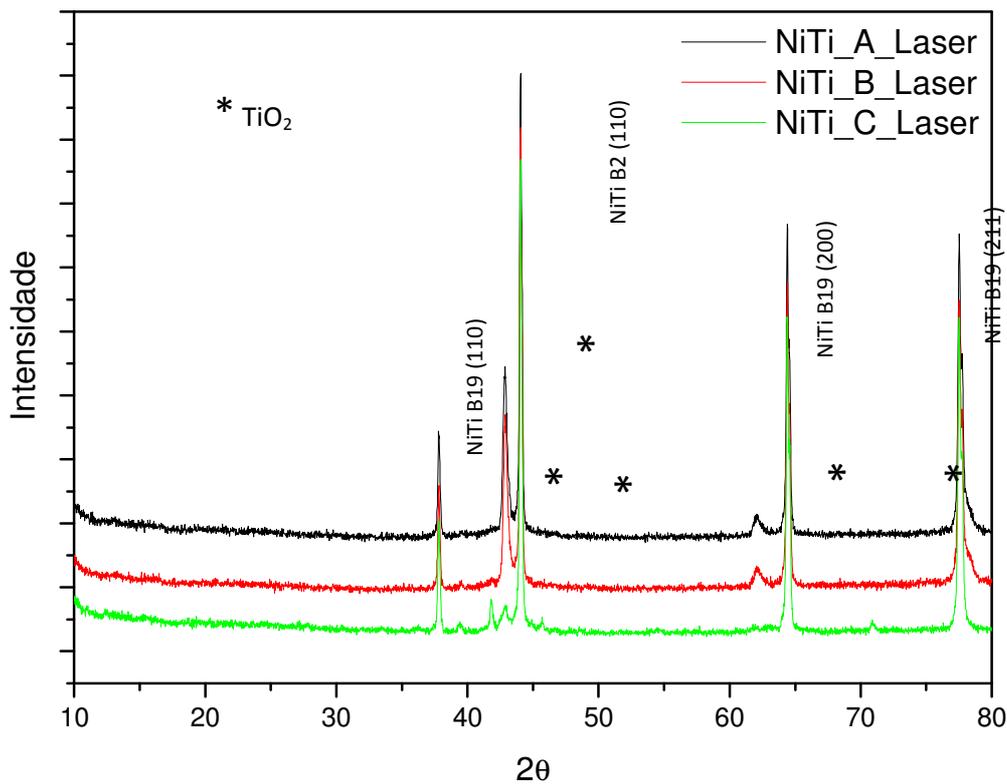


Já as amostras tratadas a LASER (Figura 32) apresentaram um decréscimo na cristalinidade em comparação com as amostras polidas. Este decréscimo tornou-se mais evidente nos picos referentes aos óxidos, justificado pelo próprio processo de ablação que estimula a formação de uma camada de óxidos não-estequiométricos amorfos, em concordância Almeida-Filho (2008). De acordo com Pérez Del Pino (2002) a irradiação a LASER de ligas de titânio estimula a formação de uma camada de óxidos, que por análise por DRX eram compostas predominantemente por Ti₂O e Ti₃O, e por espectroscopia micro-Raman das micro-zonas identificou-se a presença de Ti₂O₃ e TiO₂, não presentes por análise de DRX.

Os processos de fusão e solidificação rápida mediante irradiação por feixe de LASER, em atmosfera normal, induzem a formação de óxidos de titânio com diferentes graus de oxidação, indicando que a energia do LASER favorece a difusão de átomos de O (ou N, dependendo da atmosfera utilizada) bem como a

solidificação rápida que forma essas fases em condição de não-equilíbrio, uma vez que o estado mais estável é a fase TiO_2 (NANAI, 1997). As amostras tratadas a LASER mostraram ausência de contaminação, conforme apresentado nos difratogramas, mostrando que o processo de modificação de superfície por feixe de LASER é um processo limpo (PETÕ et al., 2002; DINATO, POLIDO, 2001).

Figura 32 - Difratogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C tratadas a LASER.



A análise de DRX para as amostras com deposição de apatita (Figuras 33 e 34) apresentou também um decréscimo na cristalinidade em comparação com as amostras polidas e tratadas a LASER, principalmente nos picos relacionados à formação dos óxidos, que pode estar atribuída à deposição de apatita amorfa, corroborando com os resultados das análises de EDX, ao relacionar com a razão molar de Ca/P. Desta forma, os picos de menor intensidade são referentes à apatita depositada preferencialmente sobre a camada de óxidos. Segundo Gu et al. (2005) e Moritz et al. (2003) a camada de óxido de titânio presente induz a nucleação e crescimento de apatitas sobre sua superfície em SBF. Observa-se ainda que houve uma redução da cristalinidade em todas as composições, porém com maior intensidade na amostra C, certamente associado ao maior percentual de titânio.

As amostras nestas condições não foram submetidas ao tratamento térmico após a deposição da camada de apatita para não incorrer numa possível alteração da estrutura cristalina da liga, por isso a formação de uma camada de apatita de baixa cristalinidade, corroborando com os resultados de Almeida Filho (2008) que relata a baixa cristalinidade encontrada em superfícies de Ti_{cp} modificadas pelo LASER e recobertas com filmes cerâmicos bioativos pelo Método Biomimético sem tratamento térmico.

Figura 33 - Difratogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C recobertas pelo método biomimético empregando a solução SBF- 0.

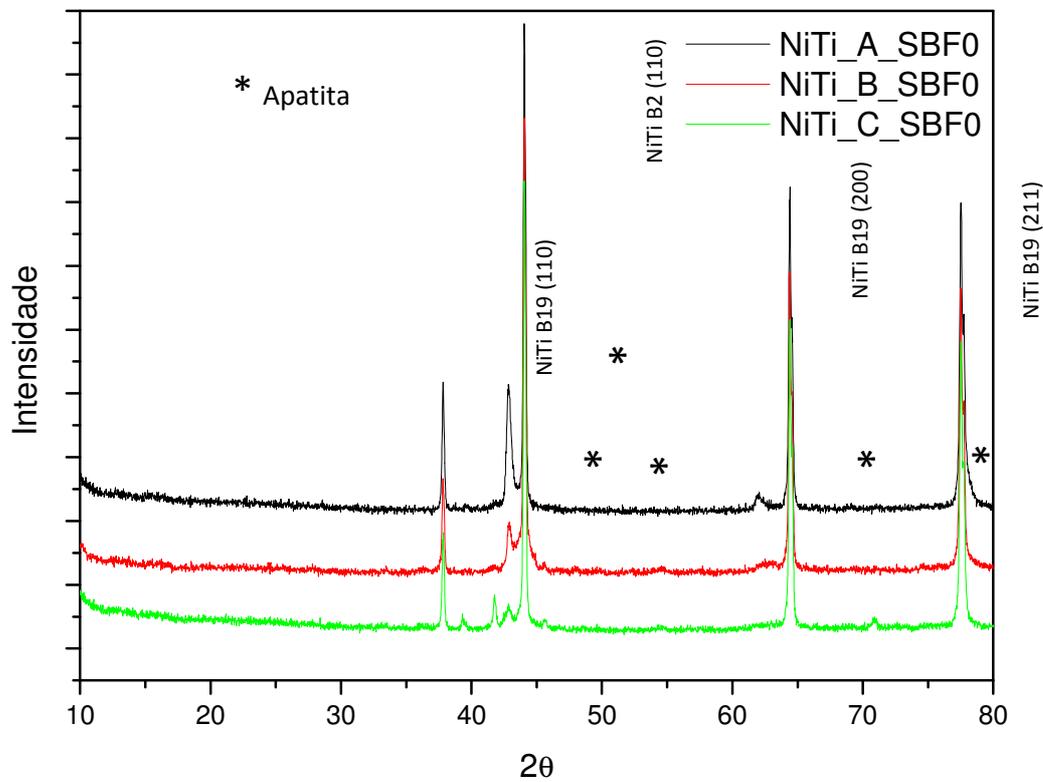
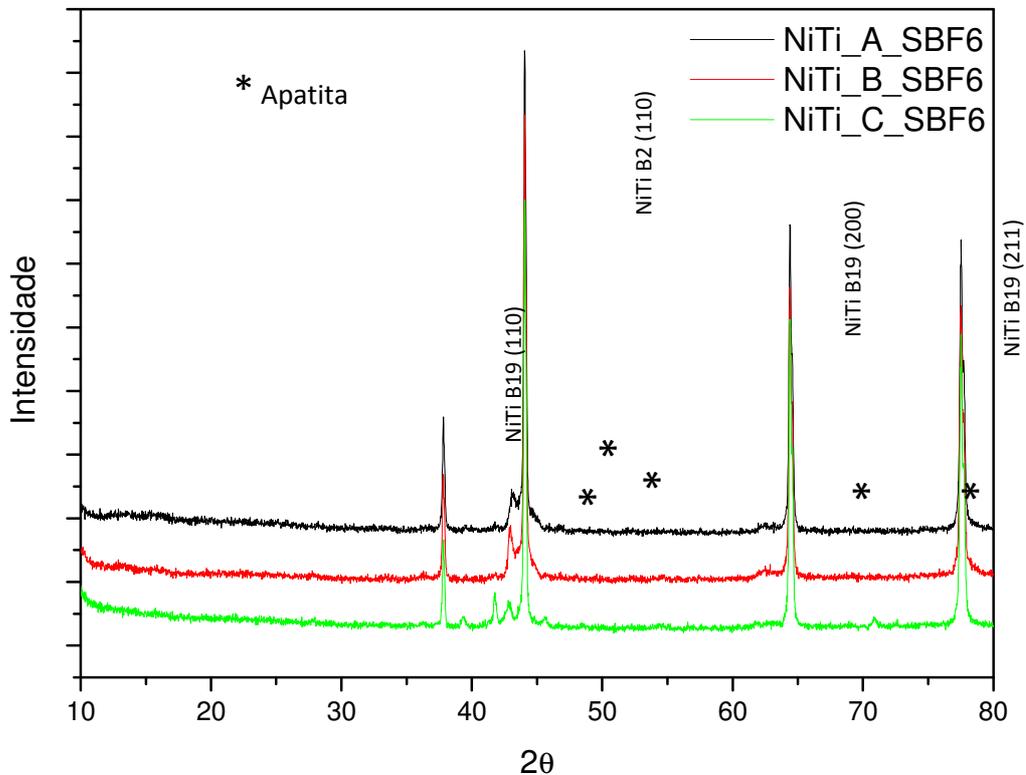


Figura 34 - Difratomogramas de Raios X da liga NiTi – A, B e C recobertas pelo método biomimético empregando a solução SBF- 6.



5.4 ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X – EDX

A análise de EDX apresentou picos de níquel (Ni), titânio (Ti), carbono (C) e oxigênio (O) para as amostras polidas e tratadas a LASER diferindo quanto a concentração (Figuras 35 e 36) e para as amostras com deposição de apatita empregando as soluções SBF-0 e SBF-6, apresentaram além dos elementos citados, presença de picos referentes aos elementos cálcio (Ca), fósforo (P), cloro (Cl) e flúor (F), variando a concentração de cada elemento entre os grupos estudados (Figuras 37 e 38).

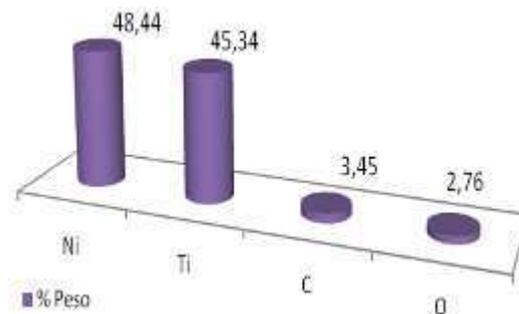
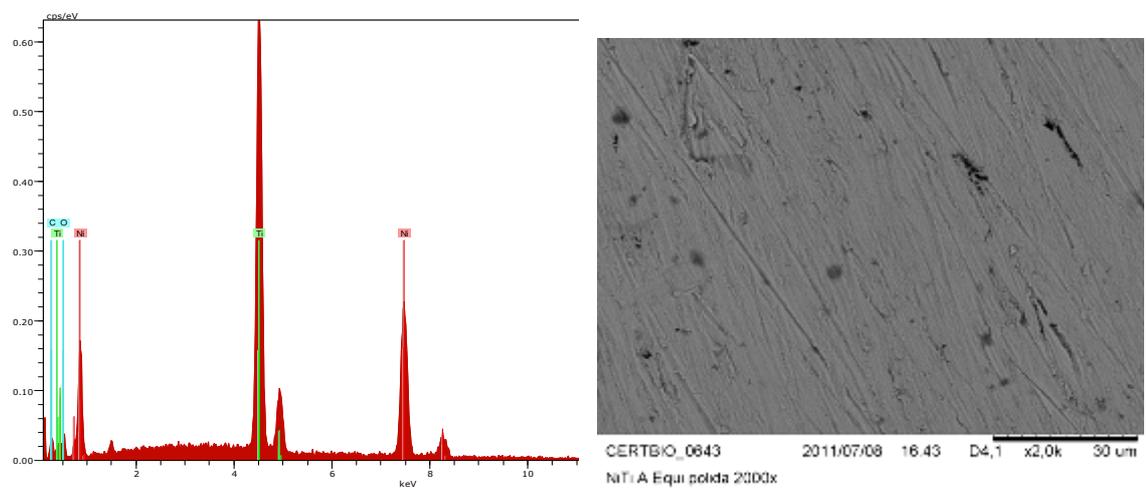
As espectroscopias das amostras apenas polidas confirmam que as ligas encontram-se com as composições em proporções próximas as planejadas neste estudo. Pode-se observar a presença de oxigênio próprio da formação natural da camada de óxidos de titânio.

No caso da presença do carbono, este também é pouco solúvel na liga NiTi (cerca de 0,11 % at), o que leva à formação de carbeto de titânio (TiC) e, conseqüentemente, à redução do teor de Ti na matriz (SANTOS, 2006). A

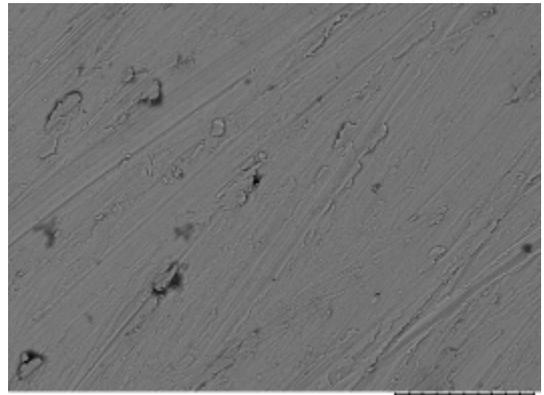
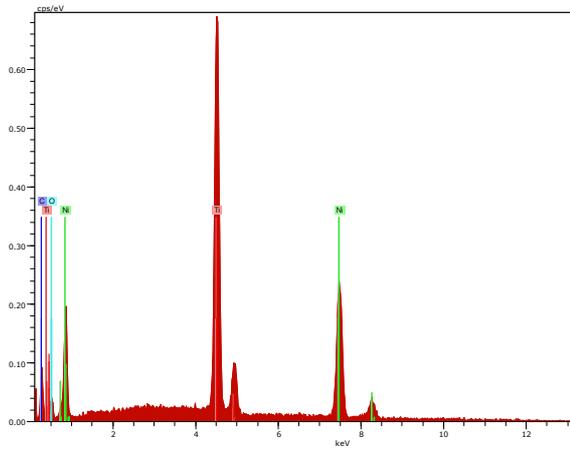
microscopia óptica das amostras após metalografia confirma a presença de pontos escuros dispersos pela superfície das ligas, os quais podem estar relacionados aos precipitados de TiC. Contudo, o próprio processo de obtenção da liga empregado nesta metodologia permite que haja interação do oxigênio e carbono durante a fusão, justificando a presença destes elementos.

Figura 35 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X das ligas NiTi – A, B e C polidas.

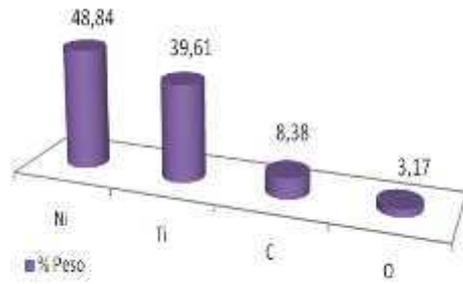
NiTi - A Polida



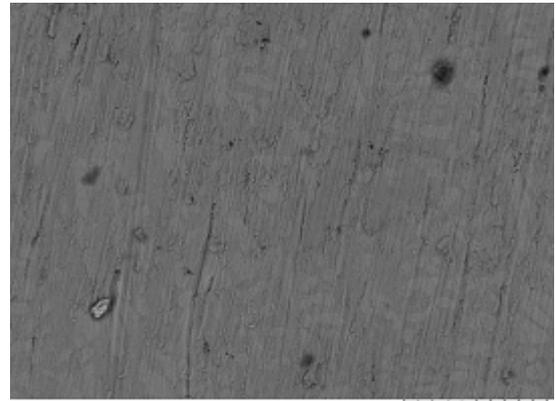
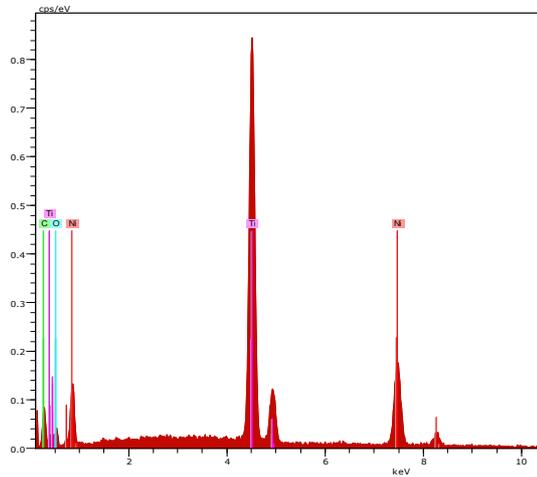
NiTi - B Polida



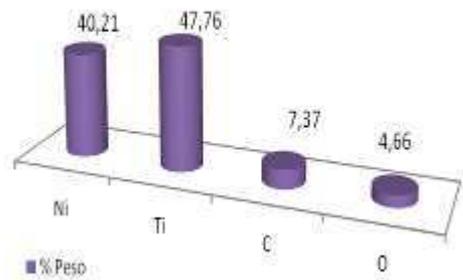
CERTBIO_0635 2011/07/08 16:06 D4.6 x2.0k 30 um
NiTi B Rica em Ni polida 2000x



NiTi - C Polida



CERTBIO_0639 2011/07/08 16:25 D4.2 x2.0k 30 um
NiTi C Rica em Ti polida 2000x

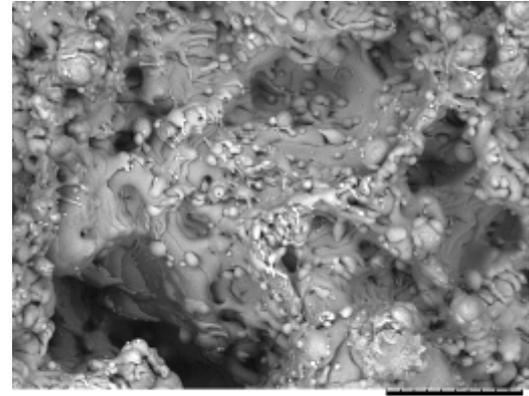
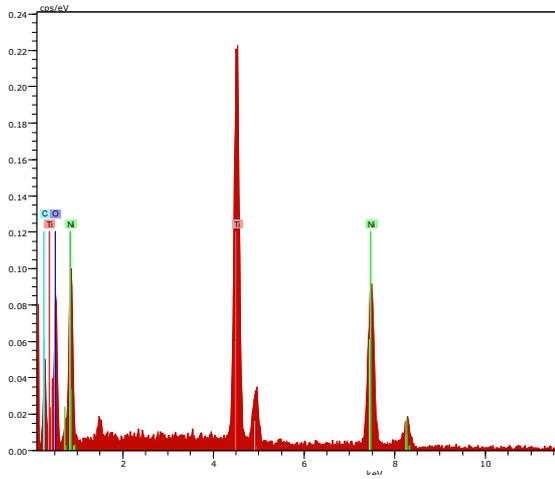


No entanto, após a ablação pode-se perceber que houve um considerável acréscimo na concentração de oxigênio e carbono com o aumento crescente na quantidade de titânio da liga. A liga NiTi-C tratada a LASER apresentou uma concentração maior destes elementos (C e O) (Figura 36), que corroboram com a reatividade química de cada elemento. Esta interação existente entre o titânio e o oxigênio, pode estar relacionada à estrutura química do Ti, por apresentar alta reatividade associada ao potencial de ionização, combinando-se facilmente com o oxigênio.

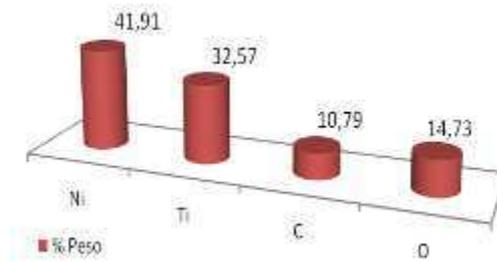
Perez Del Pino (2002) relata que se pode observar a formação de óxidos de titânio com diferentes graus de oxidação, indicando que a energia do LASER favorece a difusão de átomos de oxigênio, bem como a solidificação rápida que proporciona a formação dessas fases não convencionais de óxidos estequiométricos e não-estequiométricos. Segundo Santos (2006) estes óxidos consomem duas vezes mais Ti do que Ni e, desta forma, há um aumento do teor de Ni.

Figura 36 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X das ligas NiTi – A, B e C tratadas a LASER.

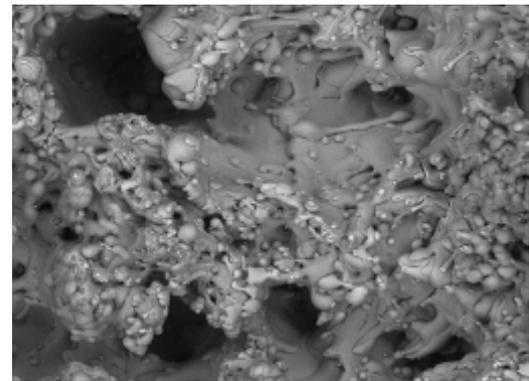
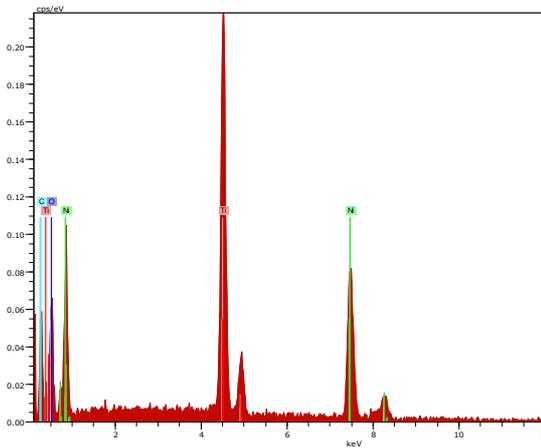
NiTi-A LASER



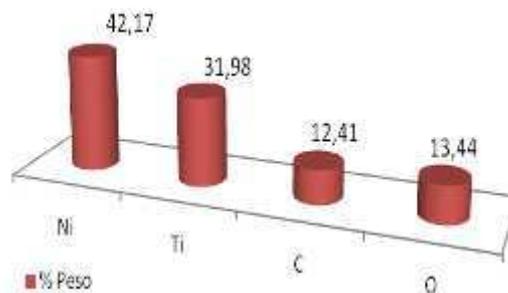
NiTi A Equ laser 2000x



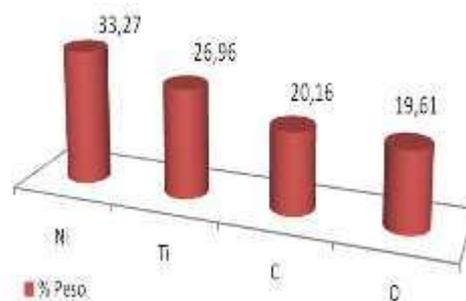
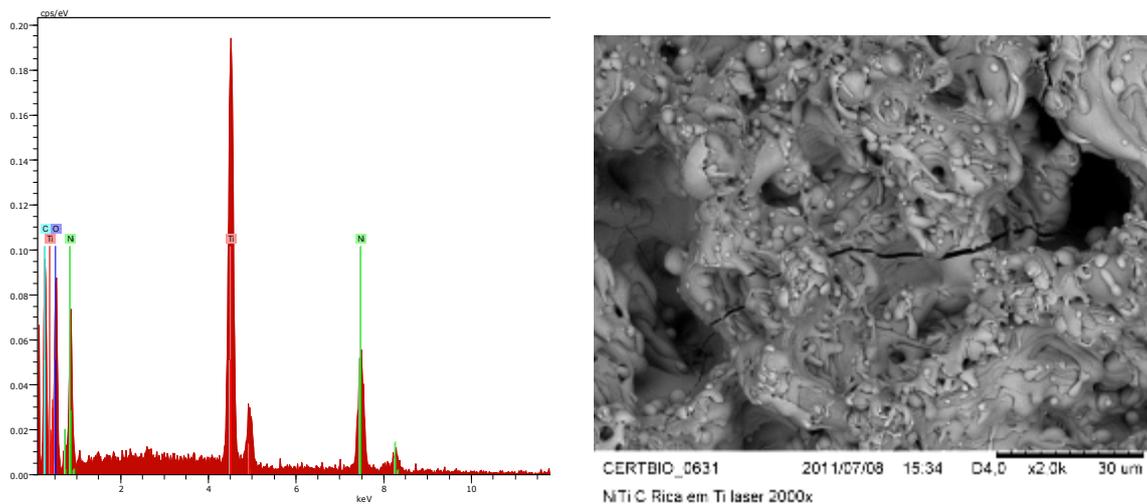
NiTi-B LASER



NiTi B Rica em Ni laser 2000x



NiTi-C LASER



Desta forma, a interação do titânio com o oxigênio forma um filme de óxido, frequentemente referido ao óxido de titânio (TiO_2). O crescimento do óxido é suposto ser por difusão do oxigênio através do filme já existente em direção ao metal, com diminuição do gradiente de concentração do oxigênio, particularmente encontrado em titânio (ELLINGSEN, 2003). Este fenômeno também pode ocorrer em ligas de NiTi, revelado na amostra com maior concentração de Ti (NiTi-C). A formação da camada passiva de óxido de titânio é importante para proteger a liga de possíveis corrosões.

Mesmo com o relativo sucesso do titânio comercialmente puro (Ti_{cp}) e suas ligas para implantes, os pesquisadores procuram modificar a superfície a fim de possibilitar a deposição de materiais similares ao osso por processos físicos e químicos, com o objetivo de favorecer ainda mais a gênese e o crescimento ósseo neoformado e, com isso, talvez diminuir o tempo de osseointegração (GUASTALDI, 2003). Contudo, uma das formas usadas para aperfeiçoar o uso de implantes de Ti_{cp} e suas ligas tem sido a modificação de superfície pela deposição de óxido de titânio (TiO_2) utilizando diferentes técnicas, com o intuito de criar uma superfície

inteiramente nova com propriedades físico-químicas mais adequadas quando comparadas aos dispositivos sem recobrimento (DEMRI et al. 1997, PARK, CONDRATE, 1999).

Desta forma, a modificação superficial a LASER aplicada a implantes dentários, apresenta-se viável no aspecto tecnológico, além dos bons resultados clínicos obtidos, uma vez que, a formação de TiO_2 por este processo é de grande interesse tanto físico, quanto químico, devido as suas propriedades que auxiliam a interação entre o tecido e o implante (SANTOS, 2001).

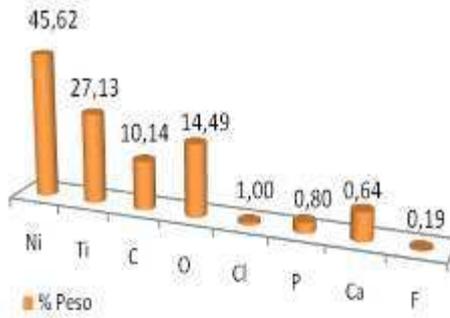
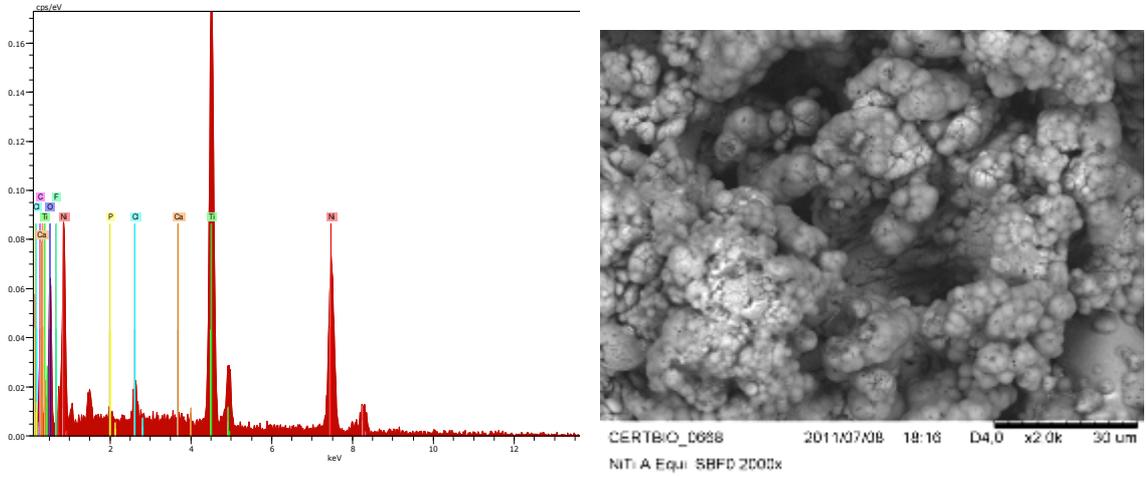
Tanto a formação de óxidos de titânio quanto à formação de nitretos de titânio contribuem de uma forma favorável para o processo de osseointegração, minimizando a chance de rejeição do organismo e viabilizando, assim, a implantação em seres vivos. Do ponto de vista implantológico, os óxidos e nitretos formados via ablação podem proporcionar aumento na dureza e na resistência á corrosão, como também podem aumentar a molhabilidade da superfície, propriedades desejadas para o processo de osseointegração (NISHIO, YAMAGUCHI, ERA, 2004).

As análises de EDX referentes às amostras recobertas com apatitas pelo Método Biomimético (Figura 37 e 38), confirmaram a presença dos elementos cálcio, fósforo, cloro e flúor. Quanto à relação de Ca/P, as amostras apresentaram-se com uma razão molar de aproximadamente 1,0 caracterizando a formação de um filme de apatita de baixa cristalinidade, tratando-se de valores médios da relação Ca/P, pode-se afirmar que, possivelmente, estejam presentes outros fosfatos de cálcio corroborando com os resultados de Chen et al., (2003), bem como, apresentou uma redução da concentração de níquel e titânio que pode estar associada a espessura do filme de apatita formado, mais significativa nas amostras submetidas ao tratamento biomimético empregando a solução SBF-6.

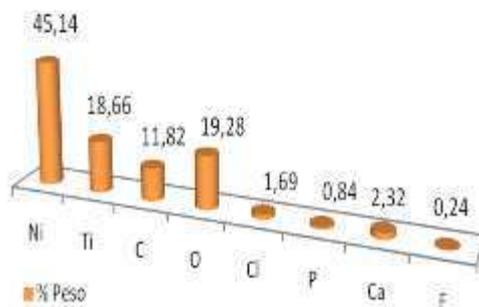
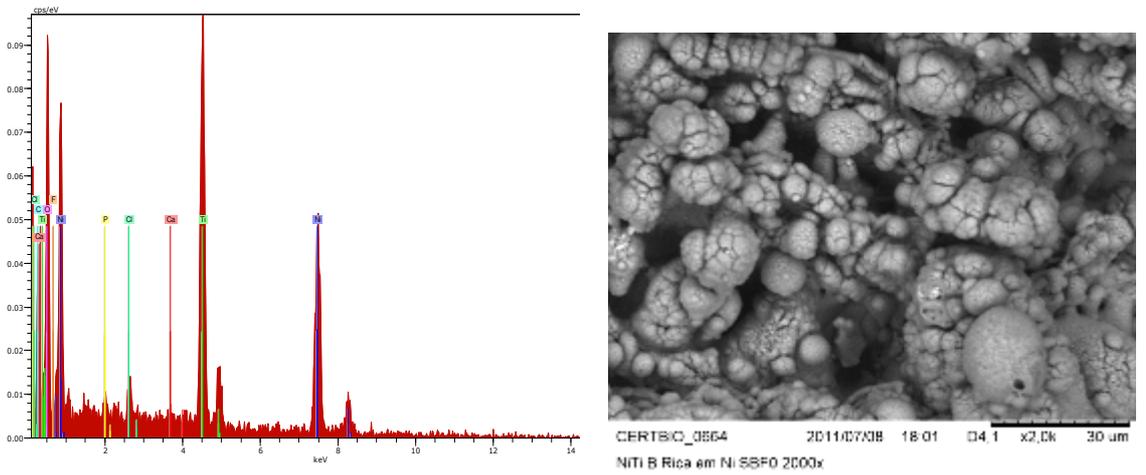
Vários fosfatos de cálcio que possuem razão variando de 0,5 a 2,0 podem ser sintetizados por precipitação, a partir de soluções contendo íons cálcio e fosfato, sob condições alcalinas ou ácidas. Estes fosfatos podem ser transformados em cerâmicas biocompatíveis e osteocondutoras (isto é, com capacidade para fazer com que o crescimento ósseo ocorra sobre a superfície dos poros do material) (PHAM et al., 2000).

Figura 37 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X da liga NiTi – A, B e C recobrimento de apatitas pelo Método Biomimético empregando a solução SBF-0.

NiTi - A SBF-0



NiTi - B SBF-0



NiTi - C SBF-0

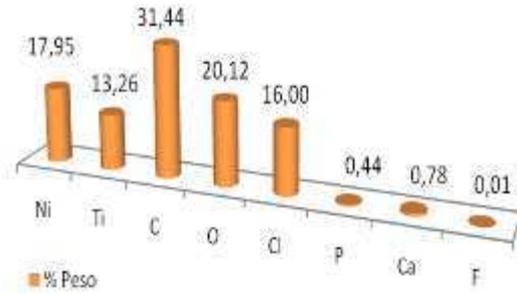
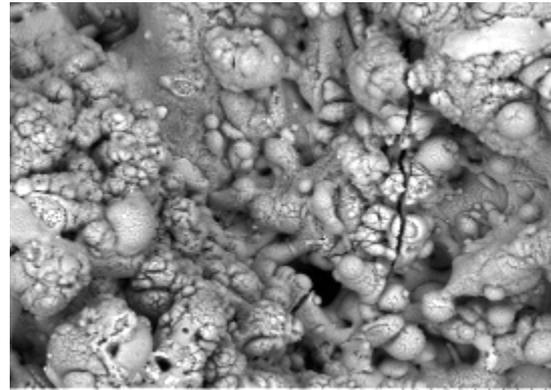
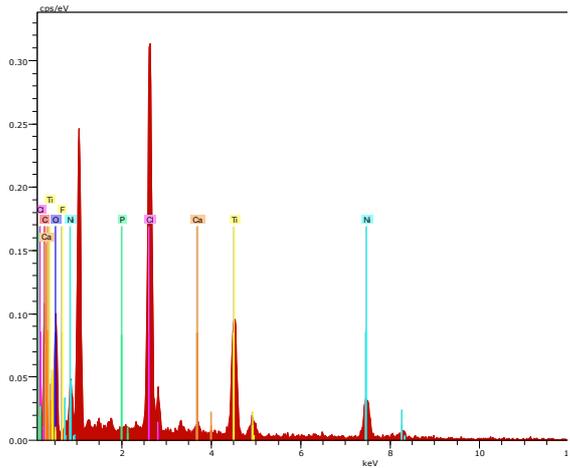
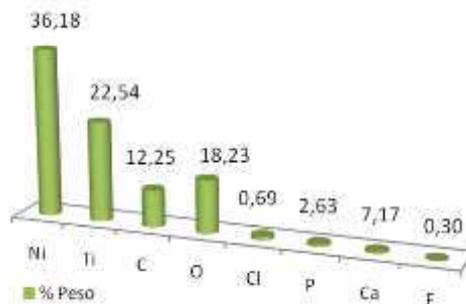
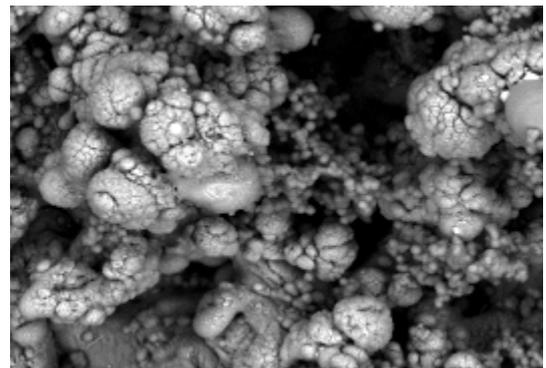
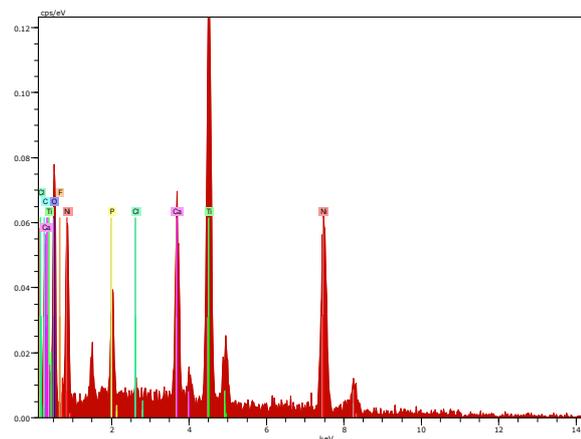
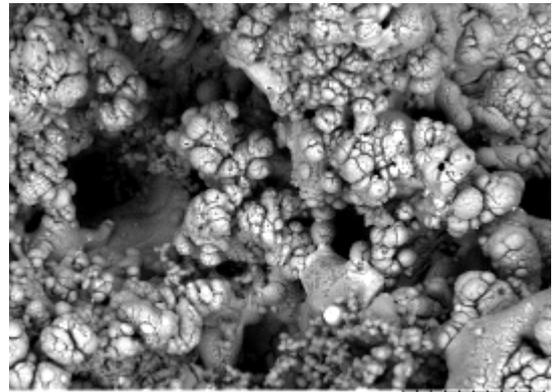
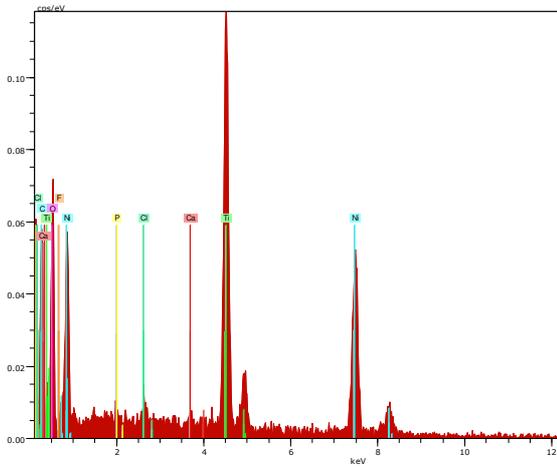


Figura 38 - Espectroscopia por energia dispersiva de raios X da liga NiTi – A, B e C recobrimento de apatitas pelo Método Biomimético empregando a solução SBF-6.

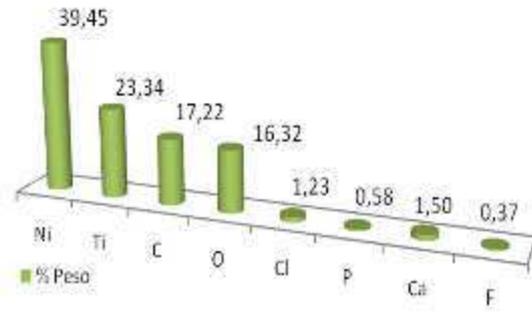
NiTi - A SBF-6



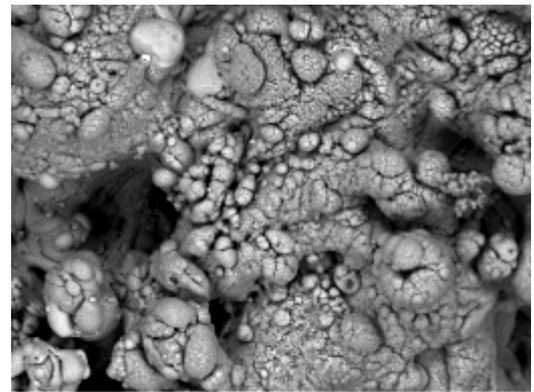
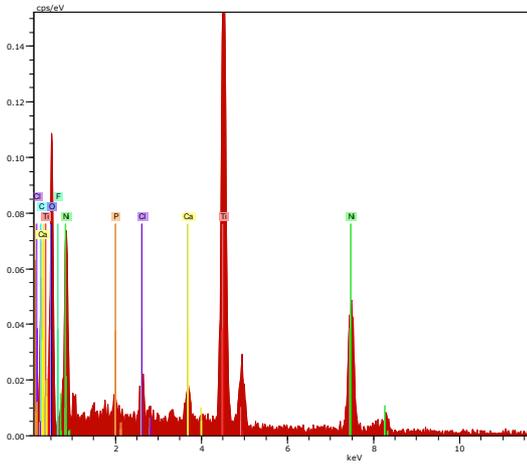
NiTi - B SBF-6



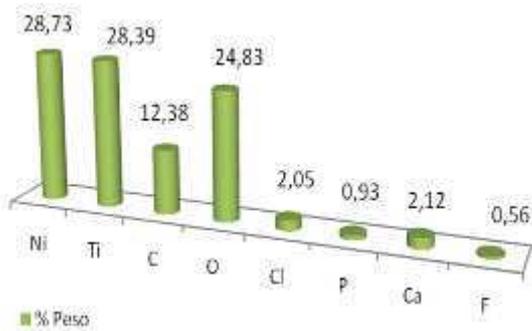
CERTRIO_0555 2011/07/08 17:34 D4 1 x2.0k 30 μm
NiTi B Rica em Ni SBF6 2000x



NiTi - C SBF-6



CERTRIO_0552 2011/07/08 17:22 D4 1 x2.0k 30 μm
NiTi C Rica em Ti SBF6 2000x



O processo de deposição de apatitas através do Método Biomimético tenta “imitar” as condições biológicas para obtenção do biomaterial desejado, recobrando os implantes com diferentes fases de fosfatos de cálcio, as quais possuem características benéficas para ocorrência da osseointegração (HERRERA, 2006).

A partir das fases de apatitas obtidas, pode-se prever a biodegradação do biomaterial em uso. De forma geral, as biocerâmicas de fosfato de cálcio degradam com uma velocidade dada pela ordem: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD) > CaHPO_4 (DCP) > $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (OCP) > $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (TCP) > $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HA). A reabsorção do material, que representa esta degradação, é causada pela dissolução, que depende do produto de solubilidade do material e do pH local no meio fisiológico, pela desintegração física em partículas menores e, ainda, por fatores biológicos como fagocitose e a presença de leucocitose de mediadores químicos que causam a redução do pH local (AOKI, 1991). Desta forma, o filme biocerâmico obtido neste trabalho, nas condições deste experimento, poderá ter uma taxa de solubilidade superior aos fosfatos de cálcio de maior cristalinidade. Contudo, é possível alterar esta condição realizando tratamento térmico adequado, de forma a obter maior cristalinidade e manter as condições do substrato metálico.

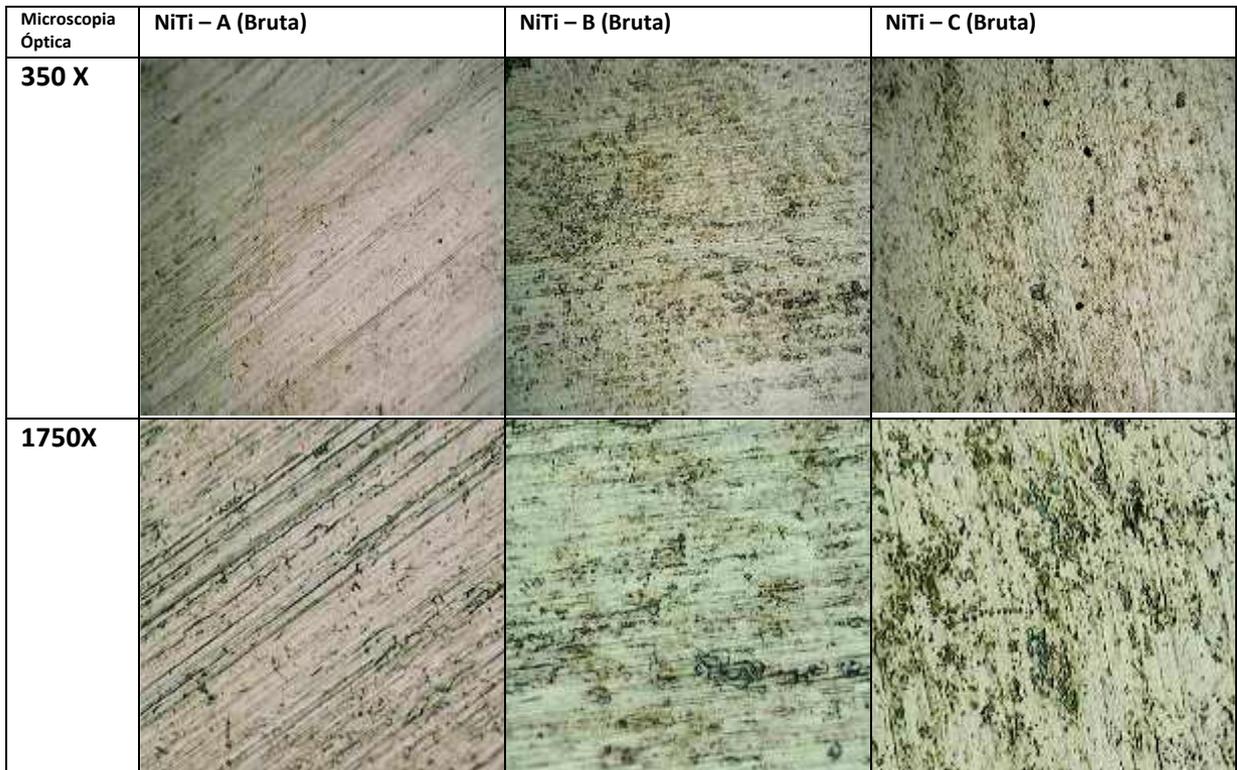
A utilização de apatitas em recobrimentos tornou-se popular em implantes dentários e ortopédicos devido a rápida adaptação óssea, a não formação de tecido fibroso, íntima adesão implante/tecido, tempo de cicatrização reduzido e maior tolerância à imprecisões cirúrgicas (KAY, 1992). Suas propriedades químicas podem ser modificadas através do método de sua preparação. Desta forma, pode-se ter uma versatilidade de implantes associados ao tipo de filme biocerâmico, onde para implantes ósseos ou dentários, duráveis por muitos anos, pode-se utilizar um material pouco solúvel, constituído por hidroxiapatita pura. Quando se desejar que o implante seja reabsorvido pelo corpo, cedendo lugar ao tecido ósseo novo, deve-se empregar uma cerâmica mais solúvel, geralmente constituída por uma mistura de hidroxiapatita com outros fosfatos de cálcio (KANAZAWA, 1989).

5.3 MICROSCOPIA ÓPTICA - MO

5.3.1 Microscopia Óptica das ligas de NiTi bruta e polida sem ataque químico

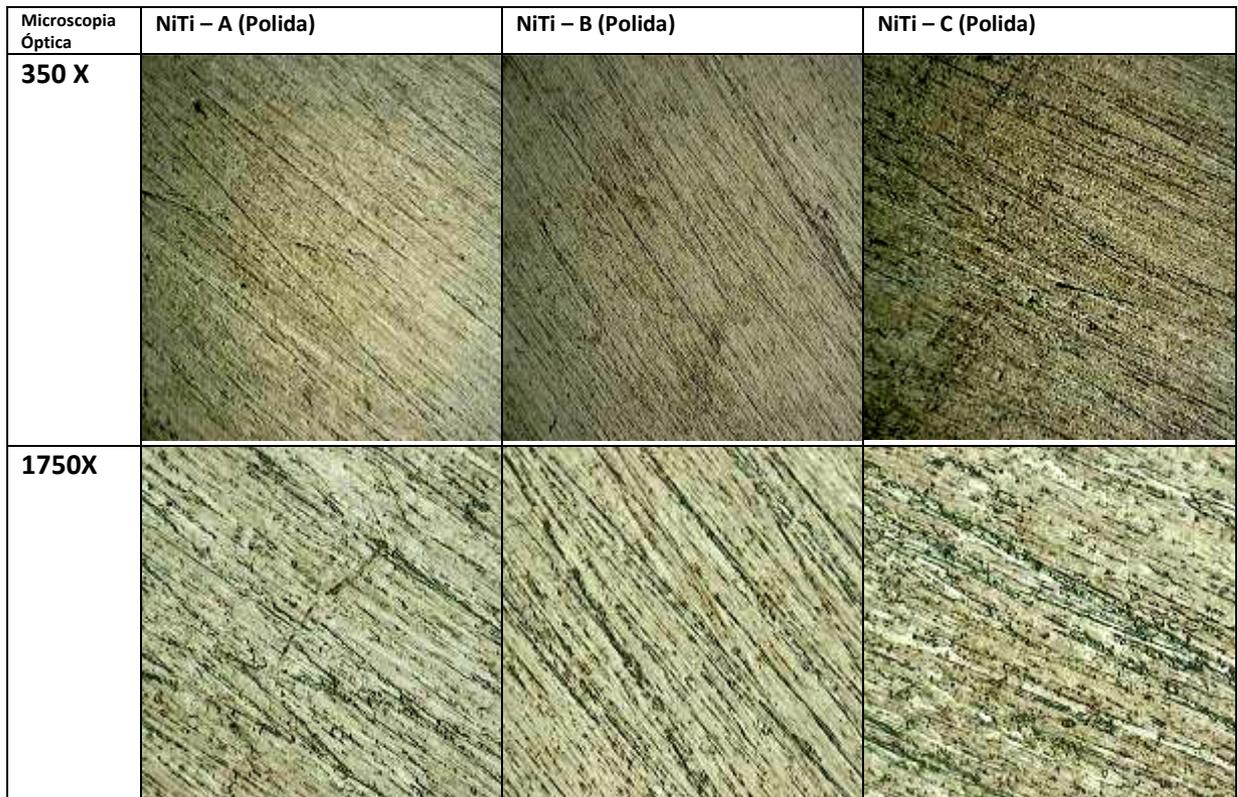
A Figura 39 apresenta a microscopia das amostras de NiTi-A, B e C, respectivamente, com duas magnitudes de aumento 350X e 1750X, e revelaram superfícies características de ligas metálicas com a presença de pontos de oxidação, associadas a falhas do processo de fundição típicas da técnica utilizada neste trabalho, além de presença de estrias relacionadas ao corte das amostras.

Figura 39 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C brutas.



No entanto, após o polimento reduziu as áreas afetadas pelos produtos da oxidação, melhorando a uniformidade da superfície, porém com presença de linhas unidirecionais decorrentes das etapas de lixamento e polimento das amostras (Figura 40).

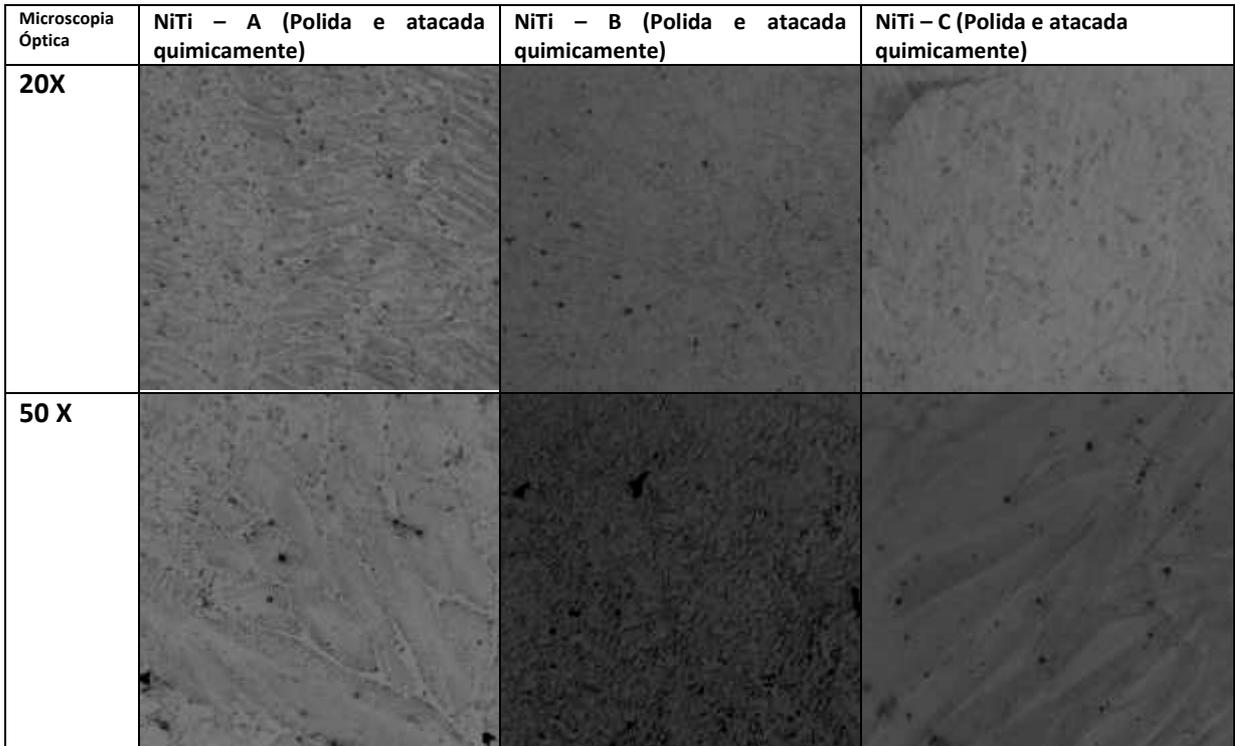
Figura 40 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polidas.



5.3.2 Microscopia Óptica das ligas de NiTi com ataque químico

A Figura 41 apresenta a microscopia óptica das amostras de NiTi-A, B e C, respectivamente, após o ataque químico em temperatura ambiente (20 a 25°C), observa-se uma matriz de estrutura martensítica, com evidentes contornos de grãos nas amostras A e C, porém apresenta uma estrutura metálica heterogênea, que pode estar associada à heterogeneidade do material, bem como presença de pontos escuros compatíveis com oxidação ou precipitados de TiC (OLIVEIRA, 2010). A amostra B não apresentou uma estrutura martensítica típica, que pode estar associada à maior concentração de níquel e a transformação de fase cristalina, pois, sob a temperatura ambiente esta amostra (NiTi-B) encontra-se na fase austenítica. O aparecimento da estrutura martensítica pode ser atribuído a etapa de lixamento e polimento induzida por deformação, como também pode estar associado à composição da liga (OLIVEIRA, 2010).

Figura 41 - Micrografia em aumentos de 20X e 50X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polida e atacada quimicamente – temperatura ambiente.

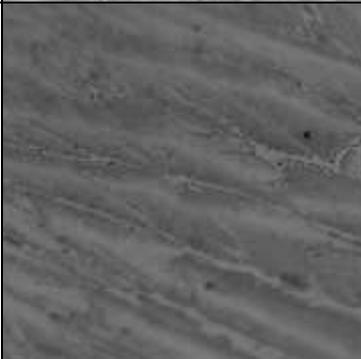
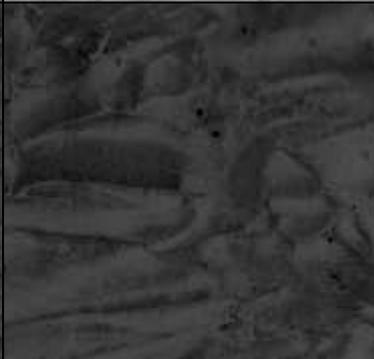


Após o resfriamento das amostras de NiTi por meio do Vita Ice Spray Congelante (Inter Master) a aproximadamente - 50°C e levando em consideração a temperatura de transformação de fases apresentada por cada composição, esperou-se visualizar variantes martensíticas em todas as amostras, o que foi confirmado nas composições A e C, diferentemente da B, que não sofreu perceptível variação na estrutura cristalina, que caracterizasse uma transformação cristalográfica (Figura 36).

A Figura 42 mostra a micrografia da liga NiTi-A, onde retrata uma maior transformação de estruturas austeníticas em estruturas lenticulares ou em forma de plaquetas alongadas, típicas das martensitas, conforme apresentado por Wayman (1990). Já a amostra NiTi-B, não apresentou diferença microestrutural, que pode estar associado à fase austenítica a qual ela se encontra, sendo, portanto, necessário a exposição por um tempo maior a uma temperatura abaixo de (- 27°C), de acordo com o DSC, para ser possível observar a transformação martensítica da estrutura cristalina. Como a amostra C já se encontra com estrutura martensítica a temperatura ambiente, o resfriamento da amostras apenas tornou mais evidente à formação das estruturas martensíticas presentes nesta liga.

Transformações martensíticas são transformações volumétricas de natureza cisalhante, que ocorrem pelo movimento cooperativo de átomos, quando o material é resfriado ou deformado (REED-HILL, ABBASCHIAN, 1994).

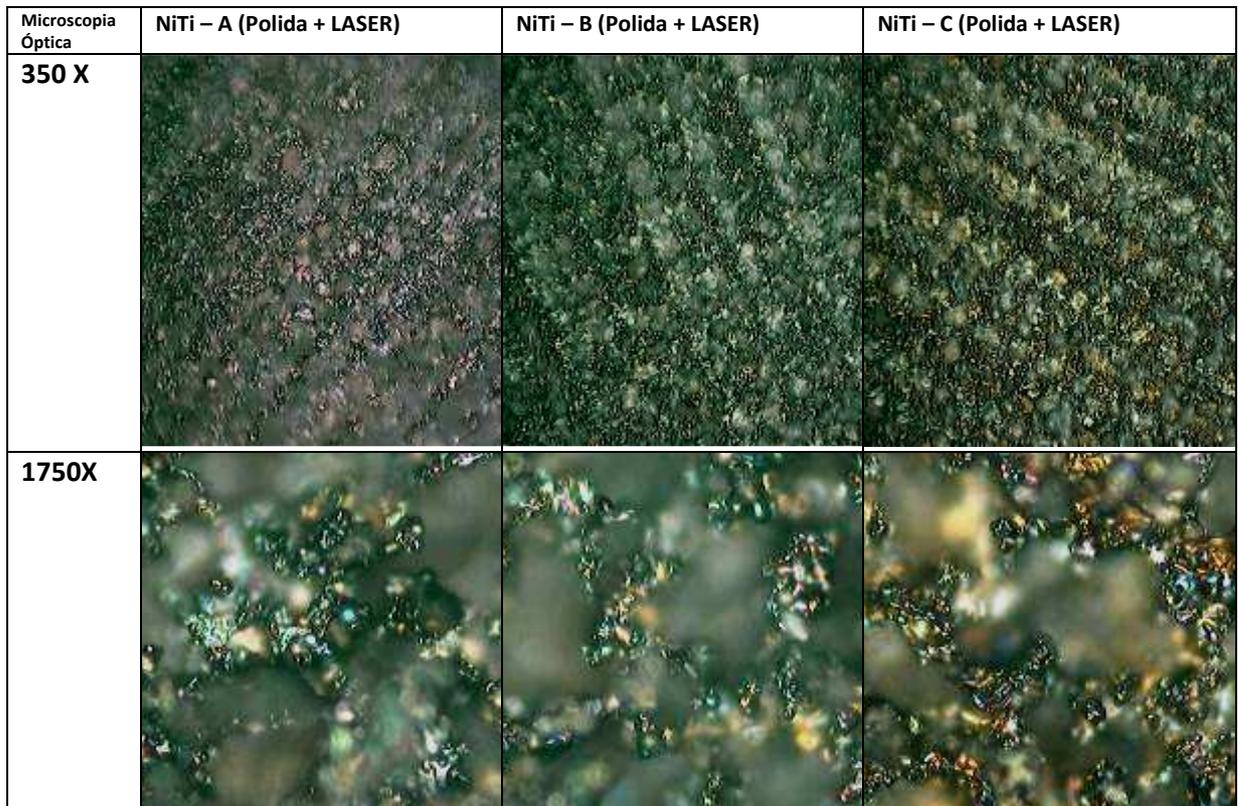
Figura 42 - Micrografia em aumentos de 20X e 50X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polida e atacada quimicamente – resfriada.

Microscopia Óptica	NiTi – A (Polido e atacado quimicamente - resfriado)	NiTi – B (Polido e atacado quimicamente - resfriado)	NiTi – C (Polido e atacado quimicamente - resfriado)
20X			
50 X			

5.3.3 Microscopia Óptica das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER

As ligas de NiTi apresentam importantes propriedades físico-químicas, biológicas, morfológicas e mecânicas que podem ser aplicados em dispositivos para a área de saúde, no entanto, estes materiais são bioinertes, tornando-se relevante modificar a superfície destas ligas para otimizar interação com o tecido ósseo. Para isto foi empregado o tratamento de superfície a LASER. A Figura 43 ilustra a topografia isomórfica das amostras após a aplicação do LASER, revelando que não houve diferença significativa entre as amostras.

Figura 43 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER.



Porém, quando comparada às amostras apenas polidas, pôde-se observar uma superfície com presença de inúmeros poros e coloração variável. Esta coloração está relacionada às diferentes camadas de óxidos presentes, por meio da mudança no tempo de exposição da superfície ao feixe, onde se observa microzonas com diferentes cores (PÉREZ DEL PINO et al., 2002)

György et al. (2002) relatam que na aplicação do LASER após certo número de pulsos se forma uma nova microestrutura com acentuação de rugosidade na superfície, corroborando com as micrografias deste estudo.

A fusão e a solidificação rápida durante o processo de ablação a LASER produzem irregularidades uniformes na superfície do metal que pode proporcionar uma maior interação com as células do meio biológico, além de ser um método fácil de administrar, que apresenta baixo custo, ser uma técnica limpa e reprodutível, por isso, parece ser um método promissor para o tratamento de superfície de implantes dentários, resultando em uma precoce osseointegração (DE CARVALHO et al., 2009; GYÖRGY et al., 2003).

5.3.4 Microscopia Óptica das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER e recobrimento com apatita pelo Método Biomimético

Após o tratamento de superfície a LASER, as amostras de NiTi-A, B e C, foram submetidas ao recobrimento da superfície das ligas com apatita através do Método Biomimético empregando dois tipos de soluções SBF: SBF 0 – convencional, proposto por Abe, Kokubo e Yamamuro (1990) e o SBF 6 – modificado, proposto por Aparecida (2006).

O grupo de amostras recobertas com apatita foi irradiado previamente com o objetivo de aumentar a interação química da apatita com a superfície da liga de NiTi e com o intuito de criar uma superfície inteiramente nova com propriedades físico-químicas mais adequadas quando comparadas aos dispositivos sem modificação a LASER (ALMEIDA FILHO, 2007). As Figuras 44 e 45 apresentam as micrografias das amostras após tratamento superficial a LASER e recobrimento Biomimético aplicando a solução SBF-0 e 6, respectivamente. Pode-se observar a deposição de apatita, caracterizadas pela presença de grãos esféricos em ambas as soluções, porém não houve diferenças topográficas significativas entre as composições NiTi A, B e C, no entanto, ao comparar com as tratadas a LASER, observou-se uma maior porosidade da superfície. Mostrando que a modificação da superfície por LASER favorece a formação de grupos de apatitas mesmo em diferentes concentrações de SBF (GU et al., 2005; MORITZ et al., 2003).

Figura 44 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético em SBF 0.

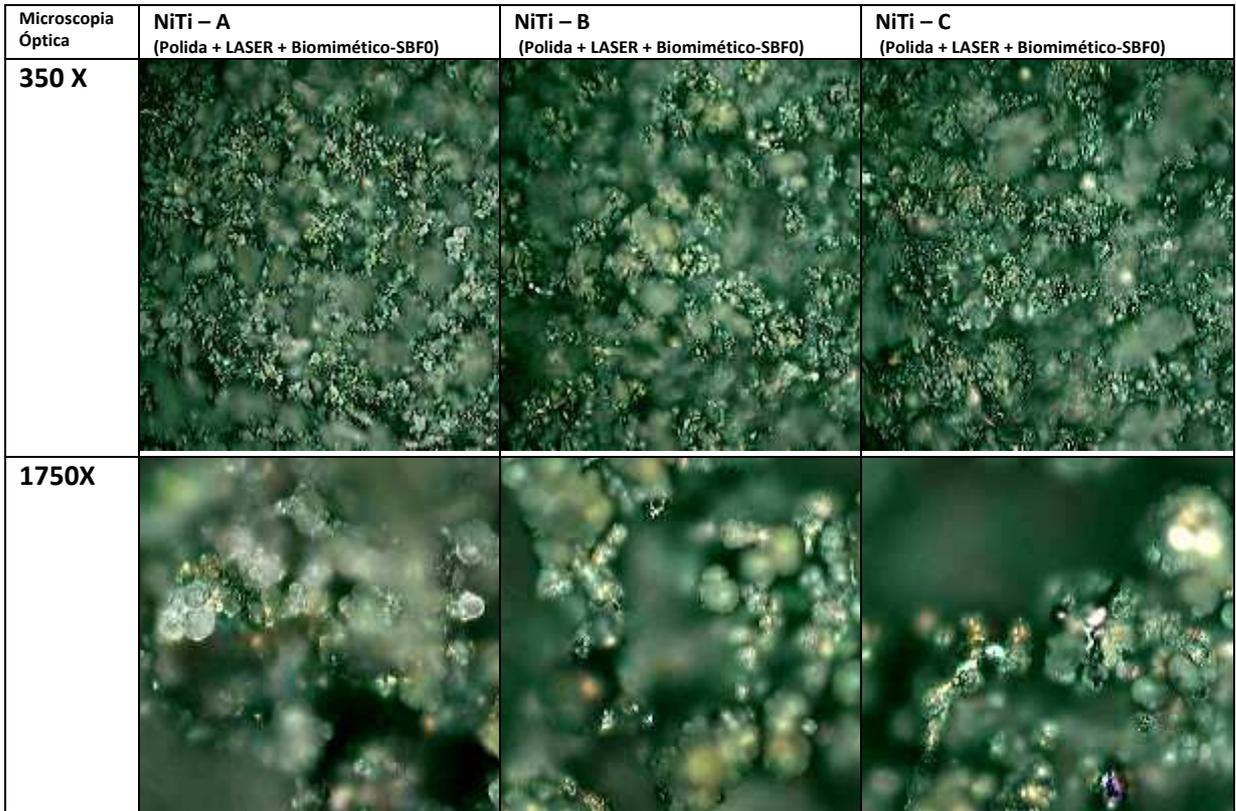
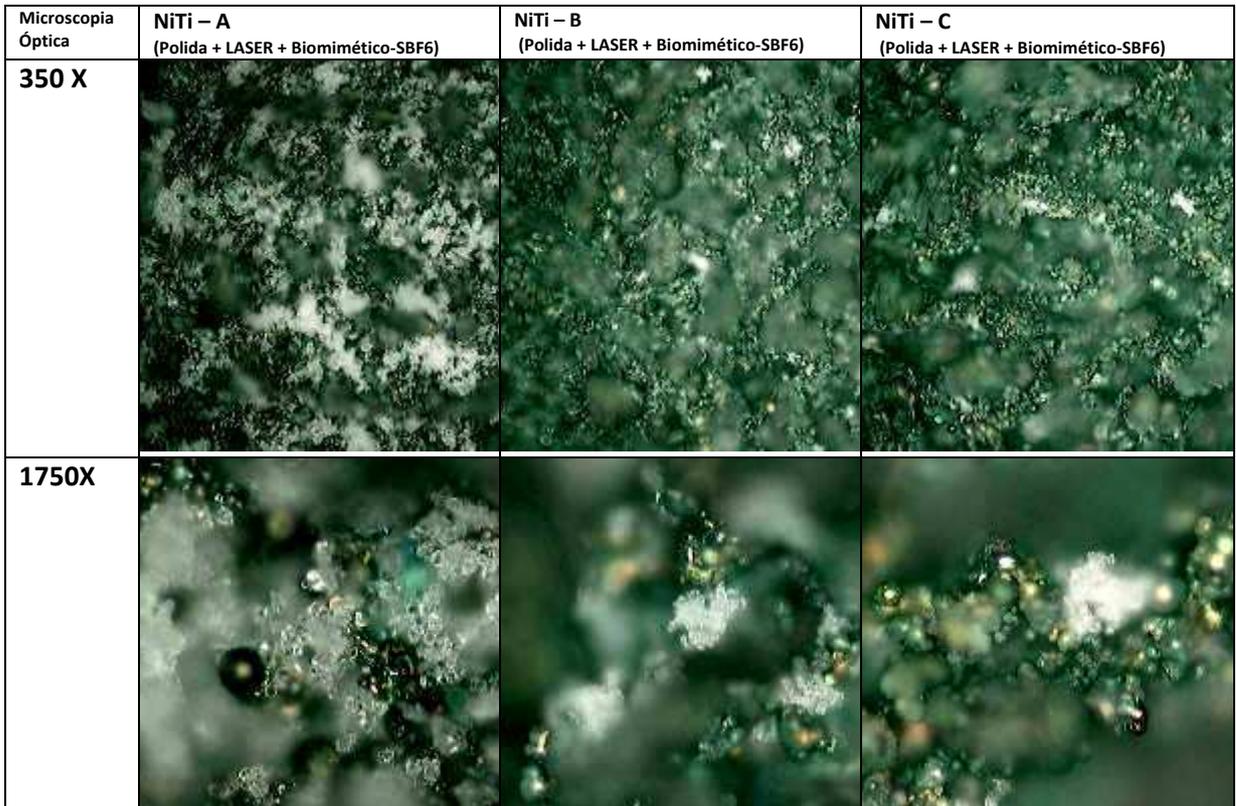


Figura 45 - Micrografia em aumentos de 350X e 1750X sob MO mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético em SBF 6.



A pequena variação de deposição de apatita existente entre as amostras imersas em SBF-0 e SBF-6 pode estar relacionada à composição destas soluções e o tipo de apatita formada que pode influenciar a propriedade de molhabilidade. A presença conjunta dos íons Mg^{2+} e CO_3^{2-} na solução SBF-0 favorece a diminuição no período de indução de formação de fosfato de cálcio amorfo (ACP), favorecendo sua transformação em fosfato octacálcico (OCP). Já a concentração elevada do íon CO_3^{2-} na solução SBF 6 também leva a diminuição do período de indução necessário à formação de ACP e, conseqüentemente, favorece sua transformação, levando à formação de mistura entre ACP e OCP de forma mais acentuada (APARECIDA, 2006). Mesmo empregando soluções SBFs que favorecem a deposição de apatitas de interesse biológico (TCP, OCP e HA), não se pode especificar o tipo de apatita depositada nas condições empregadas nesta amostras, no entanto, pode-se afirmar a existência da formação de um filme biocerâmico, fato este avaliado pela uniformidade das morfologias apresentadas nas microscopias, bem como, através da análise comparativa das topografias das amostras tratadas a LASER e após a deposição pelo Método Biomimético.

5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA - MEV

Foram obtidas imagens por microscopia eletrônica de varredura nas diversas condições superficiais das composições: amostra bruta, polida, com a superfície modificada por LASER e pelo Método Biomimético. Desta forma, os resultados serão apresentados e discutidos nesta sequência.

5.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura das ligas de NiTi bruta e polida

As micrografias das amostras brutas revelaram uma topografia com estrias provenientes do processo de corte e uma superfície relativamente lisa. A amostra NiTi-C apresentou uma maior presença de produtos de oxidação, quando comparado as ligas NiTi A e B (Figura 46). A superfície bruta é comumente apresentada na literatura científica como grupo controle das pesquisas em superfície de ligas de titânio (DE CARVALHO et al., 2009).

No entanto, após o polimento das amostras, as superfícies apresentaram-se mais uniformes, porém com presença de estrias próprias do processo de lixamento, observou-se que os produtos da corrosão presentes na amostra de NiTi-C foram removido com o polimento, não havendo diferenças significativas entre as amostras NiTi A, B e C, conforme revelado na Figura 47, estando de acordo com as topografias de amostras de NiTi sob as mesmas condições encontradas por Souza-Filho et al., (2011).

Figura 46 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C brutas.

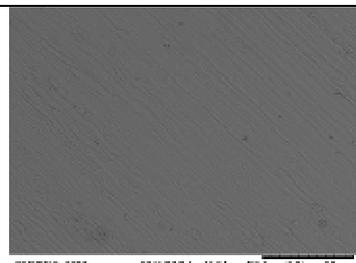
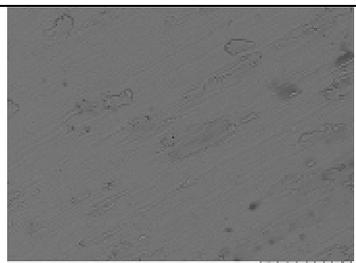
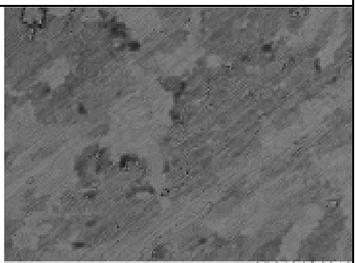
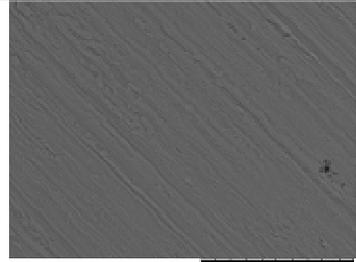
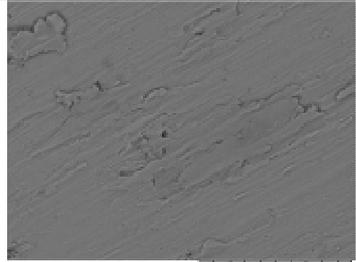
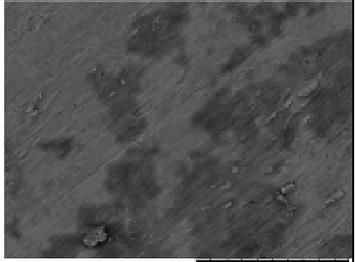
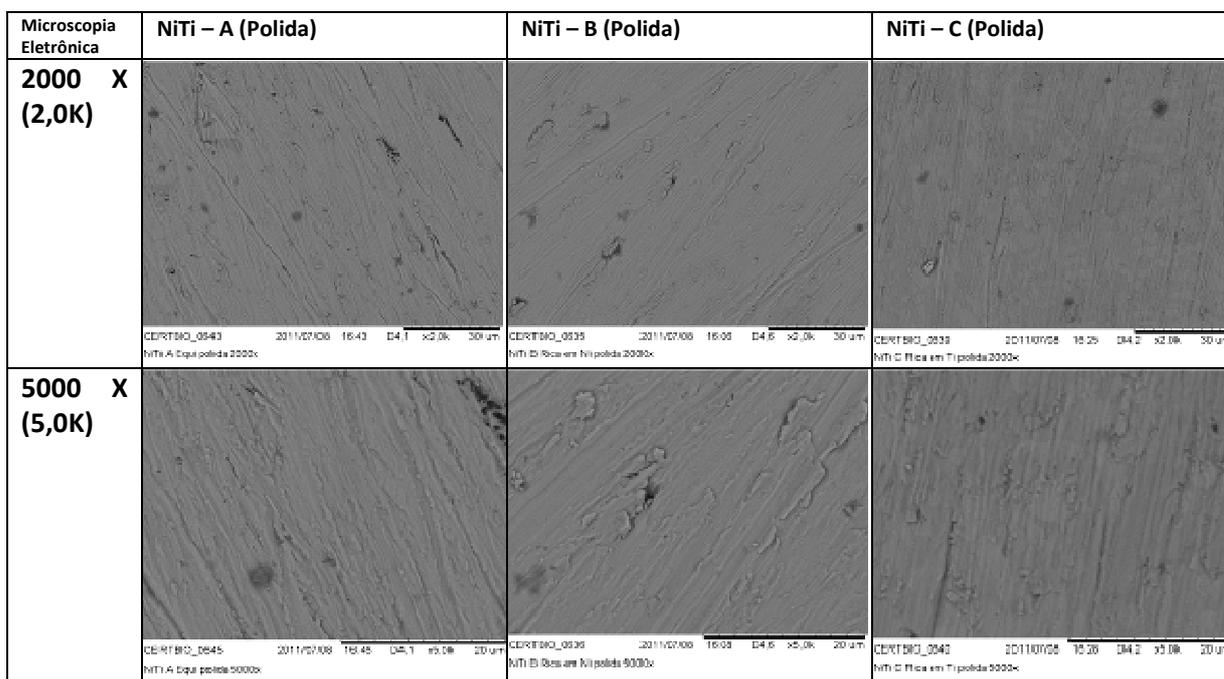
Microscopia Eletrônica	NiTi – A (Bruta)	NiTi – B (Bruta)	NiTi – C (Bruta)
2000 X (2,0K)			
5000 X (5,0K)			

Figura 47 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C polidas.



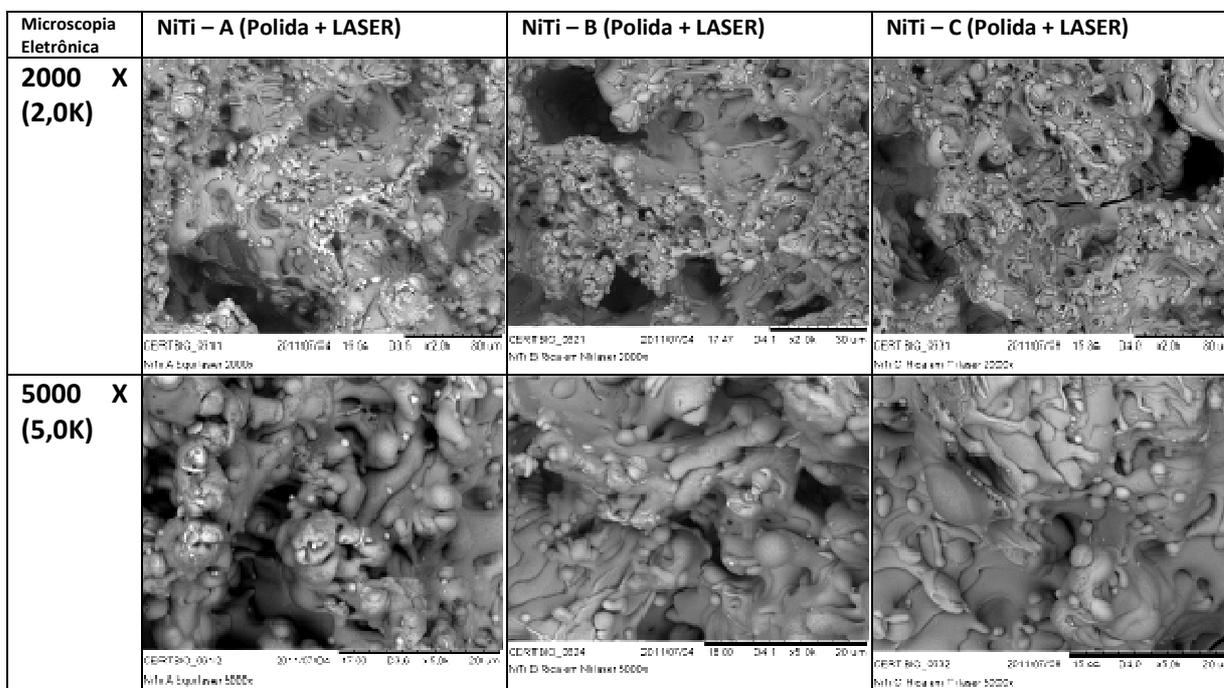
5.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER

As imagens obtidas para as amostras irradiadas por LASER de alta intensidade (*Yb* pulsado) estão apresentadas na Figura 48, os resultados indicaram que as superfícies das amostras foram significativamente modificadas após o tratamento de superfície. As superfícies apresentaram-se estruturas similares a esferas em toda a superfície, mostrando porosidade, rugosidade e uma morfologia mais homogênea, estando de acordo com os trabalhos de Tavares (2009) e Sisti (2011) que encontraram topografias semelhantes após aplicar o LASER em ligas de titânio.

O fenômeno de ablação associa-se à ruptura em escala macroscópica da superfície devido ao processo de fusão e solidificação rápido na superfície do metal, o que conduz a perda da estequiometria e alterações de composição da superfície do material (GYÖRGY et al., 2003; GYÖRGY et al., 2004). Pode-se observar que o processo de ablação proporcionou um aumento na rugosidade em todas às amostras, assim, apresentando um aumento na área superficial, característica desejada para osseointegração, uma vez que, as respostas celulares (migração,

ancoragem, diferenciação e expressão da matriz) são afetadas pelas características topográficas e pela composição química da superfície (GUASTALDI, 2003).

Figura 48 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER.



As topografias apresentadas pelas composições estudadas após o tratamento superficial revelaram uma superfície propícia para a interação celular, uma vez que apresentaram rugosidade e porosidade que podem induzir a interação celular com a superfície modificada. Quando aplicado em implantes dentários, a superfície irradiada pode promover a condução das células ósseas entre os interstícios deixados pela ablação, promovendo desta forma, uma otimização e aceleração na osseointegração, estando de acordo com De Carvalho et al. (2009) e György et al. (2003) os quais afirmaram que o tratamento a LASER parece ser um método promissor para os implantes dentários.

5.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura das ligas de NiTi com tratamento de superfície a LASER e recobrimento com apatita pelo Método Biomimético.

A técnica empregada para depositar apatita sobre a superfície das amostras foi através do Método Biomimético. Visando acelerar o processo de deposição e alterar a cristalinidade do recobrimento, o método e a solução biomimética sofreram

significantes variações, uma vez que apresenta uma direta relação com a solubilidade, incluindo pré-tratamentos ácidos, alcalinos e térmicos, e a utilização de soluções com composição e concentração variadas (BARRERE et al., 2002; APARECIDA et al., 2007; MEIRELLES, 2010).

No presente estudo foi empregada a solução SBF- 0 preconizada e a solução SBF – 6, a fim de conciliar a propriedades mecânicas da liga mais próximas ao do osso com a bioatividade, reduzir o tempo de recobrimento e formação de compostos de apatitas de maior interesse biológico.

As micrografias analisadas nas Figuras 49 e 50 apresentaram a microestrutura da camada de apatita obtida pelo Método Biomimético empregando as soluções SBF tipo 0 e 6, respectivamente. Após o recobrimento observou-se nas superfícies uma nucleação homogênea, com esferas e tamanho de partícula em escala micrométrica (utilizando-se como referência a escala do microscópio), superfície rugosa, com presença de macro e micro poros. A morfologia do recobrimento obtido sobre ligas de Ti modificados por irradiação a LASER, apresentadas por Sisti (2011) e Tavares (2009), assemelhou-se à morfologia do recobrimento obtido sobre as ligas de NiTi modificadas a LASER encontradas nesta pesquisa. Pode-se perceber, após análise comparativa, que as ligas submetidas à solução SBF-6 apresentaram as superfícies com maior deposição de apatita e com uma camada mais homogênea da biocerâmica do que as amostras tratadas com a solução SBF-0.

Em um estudo sobre o crescimento celular utilizando osteoblastos e biomateriais, Ramires et al. (2002) mostraram que houve precoce agregação celular, diferenciação e mineralização celular em superfícies de TiO_2 revestidas com hidroxiapatita, evidenciando que o recobrimento pode acelerar a osseointegração.

Figura 49 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético em SBF-0.

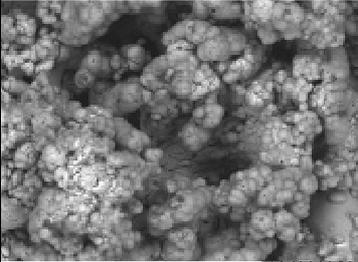
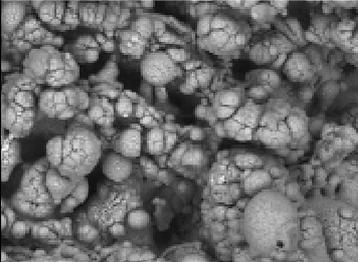
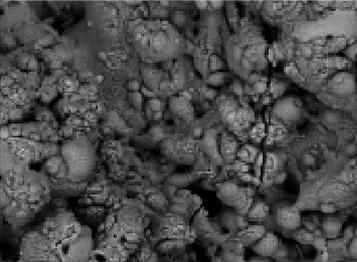
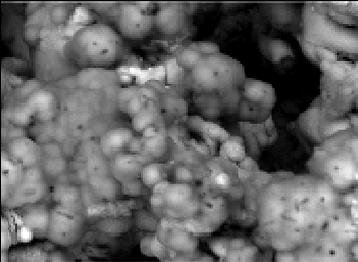
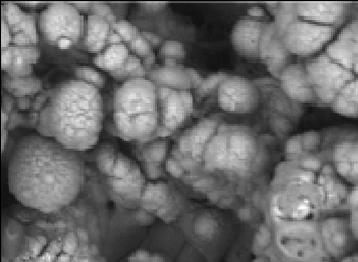
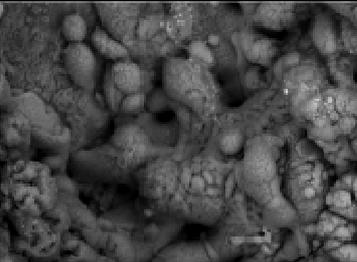
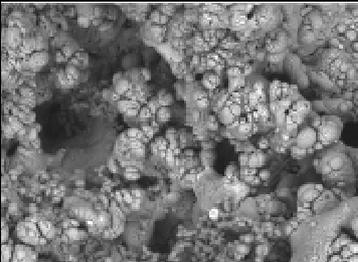
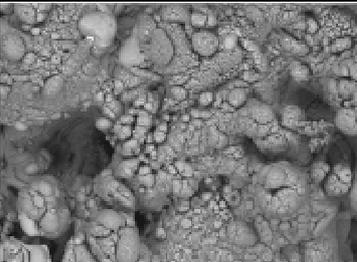
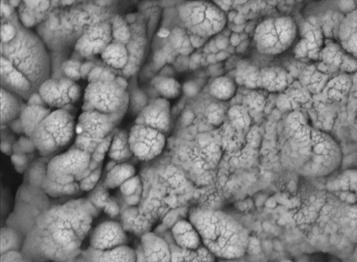
Microscopia Eletrônica	NiTi – A (Polida + LASER + Biomimético-SBF 0)	NiTi – B (Polida + LASER + Biomimético-SBF 0)	NiTi – C (Polida + LASER + Biomimético-SBF 0)
2000 X (2,0K)	 CERTBIO_0003 2011/07/08 18:16 D4.1 x2.0k 20.0um NiTi A Equi SBF0 2000x	 CERTBIO_0004 2011/07/08 18:01 D4.1 x2.0k 20.0um NiTi B Rica em Ti SBF0 2000x	 CERTBIO_0005 2011/07/08 17:05 D4.1 x2.0k 20.0um NiTi C Rica em Ti SBF0 2000x
5000 X (5,0K)	 CERTBIO_0003 2011/07/08 18:19 D4.1 x5.0k 20.0um NiTi A Equi SBF0 5000x	 CERTBIO_0004 2011/07/08 18:03 D4.1 x5.0k 20.0um NiTi B Rica em Ti SBF0 5000x	 CERTBIO_0005 2011/07/08 17:09 D4.1 x5.0k 20.0um NiTi C Rica em Ti SBF0 5000x

Figura 50 - Micrografia em aumentos de 2000X e 5000X sob MEV mostrando superfície das amostras NiTi A, B e C tratadas a LASER e Biomimético em SBF-6.

Microscopia Eletrônica	NiTi – A (Polida + LASER + Biomimético-SBF 6)	NiTi – B (Polida + LASER + Biomimético-SBF 6)	NiTi – C (Polida + LASER + Biomimético-SBF 6)
2000 X (2,0K)	 CERTBIO_0002 2011/07/08 17:47 D4.1 x2.0k 20.0um NiTi A Equi SBF6 2000x	 CERTBIO_0006 2011/07/08 17:34 D4.1 x2.0k 20.0um NiTi B Rica em Ti SBF6 2000x	 CERTBIO_0007 2011/07/08 17:22 D4.1 x2.0k 20.0um NiTi C Rica em Ti SBF6 2000x
5000 X (5,0K)	 CERTBIO_0002 2011/07/08 17:49 D4.1 x5.0k 20.0um NiTi A Equi SBF6 5000x	 CERTBIO_0006 2011/07/08 17:35 D4.1 x5.0k 20.0um NiTi B Rica em Ti SBF6 5000x	 CERTBIO_0007 2011/07/08 17:23 D4.1 x5.0k 20.0um NiTi C Rica em Ti SBF6 5000x

No caso de implantes osseointegráveis, para que ocorra a formação de tecido ósseo sobre o biomaterial é necessário que as células precursoras de osteócito que se diferenciam em osteoblastos se proliferem produzindo uma matriz extracelular

não mineralizada, que será subseqüentemente calcificada. Estes eventos são bastante influenciados por algumas propriedades da superfície dos biomateriais, tais como: a composição química; energia de superfície e a textura da superfície; uma combinação entre topografia e rugosidade (SCHWARTZ, 1994).

Desta forma, o tratamento superficial a LASER ou a combinação com a deposição de apatita pelo Método Biomimético em ligas de NiTi, promove uma microtopografia superficial que, pode otimizar a interação com as células em meio biológico, reduzindo o tempo da osseointegração. A textura superficial de um biomaterial, incluindo a microtopografia e rugosidade, tem sido relatada como um fator que pode influenciar no sucesso da resposta dos implantes osseointegráveis (RICH, 1981; THOMAS, 1985; CHEN et al., 2004).

Alguns pesquisadores defendem que a rugosidade da superfície oferece uma melhor adesão para a rede de fibrina, por onde migram os osteoblastos para as proximidades da superfície do implante a fim de secretar matriz óssea, dando início à formação da interface osseointegrada (DAVIES, 1998; CARVALHO, 2001).

Estudos mostram que as células tendem a responder mais fortemente aos padrões de textura de superfície com dimensões aproximadas da ordem do tamanho de uma célula, o que corresponde em geral em alguns micrômetros. Estudos *in vitro* têm demonstrado que células de linhagem osteoblástica exibem características fenotípicas de tamanho e morfologia, por exemplo, dependentes da rugosidade, sendo que estas parecem se aderir mais rapidamente sobre superfícies com uma microtopografia mais rugosa (MICHAELS, 1989; BOWERS, 1992).

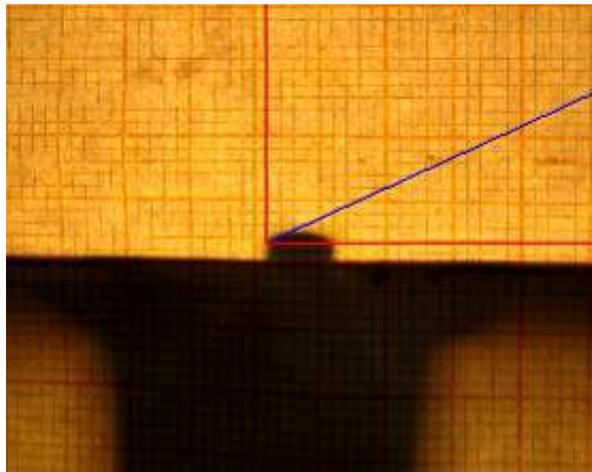
Ligas de NiTi modificadas superficialmente pelo Método Biomimético mostram um crescimento espontâneo de apatita, transmitindo bioatividade sobre a superfície de NiTi. Desta forma, revestimentos de hidroxiapatita pode facilitar a proliferação rápida de osteoblastos, determinando uma interface entre o implante revestido e o osso, através de uma osseointegração. Contudo, a interface entre implante não revestido e o osso possui interstícios, determinando uma fraca interface implante-osso (CHEN et al., 2004). Assim, a deposição de apatita em ligas de titânio para aplicação em implantes é relevante desde o aspecto microtopográfico ao estabelecimento de uma interface implante-osso adequada, determinada pelo mimetismo do revestimento com apatitas semelhantes as encontradas em meio biológico.

5.5 MOLHABILIDADE

A energia de superfície de um material que está relacionada diretamente com sua molhabilidade tem sido um parâmetro útil para prever a interação de um biomaterial com o meio biológico. A medida de ângulo de contato de uma gota do líquido numa superfície tem sido usada para caracterizar a molhabilidade desta superfície (FOOK, 2005).

Desta forma, para obtenção do valor médio do ângulo de contato das diferentes superfícies das amostras de NiTi, e poder fazer uma relação de comparação, os valores da mensuração do ângulo de contato (Figura 51) foram repetidos 5 vezes, para assim obter a média e o desvio padrão. Os valores obtidos dispensaram análise estatística.

Figura 51 - Medida do ângulo de contato da amostra de NiTi.

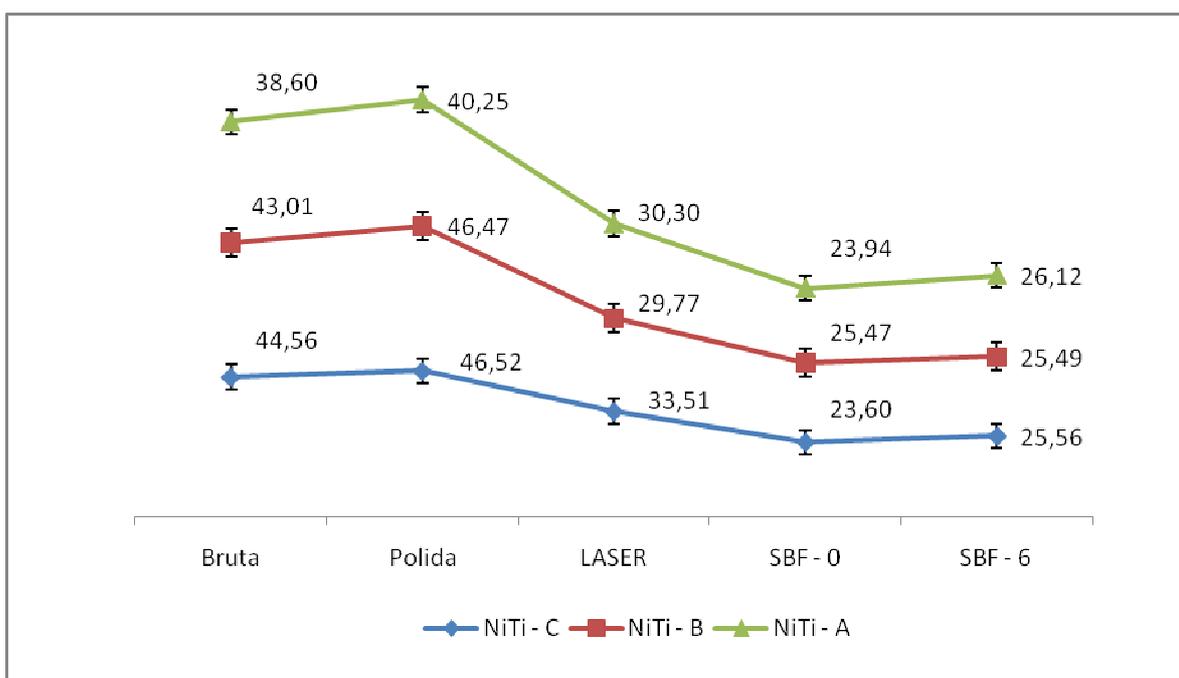


Os resultados dos ângulos de contato realizados sobre as amostras brutas, polidas, tratadas a LASER e tratadas a LASER com recobrimento, estão apresentados na Tabela 9 e Figura 52, demonstrando o efeito positivo que pode proporcionar a superfície nas interações do biomaterial com o meio biológico.

Tabela 9 – Média e desvio padrão dos ângulos de contato obtidos para as amostras de NiTi brutas, polidas, tratadas a LASER e recobertas pelo Método Biomimético.

Superfícies das Amostras	NiTi-A	NiTi-B	NiTi-C
Bruta	38,60° ± 0,12	43,01° ± 0,55	44,56° ± 0,19
Polida	40,25° ± 0,65	46,47° ± 0,27	46,52° ± 0,17
Polida e tratada a LASER	30,30° ± 0,56	29,77° ± 0,30	33,51° ± 0,46
Polida, tratada a LASER e recoberta pelo Método Biomimético (SBF - 0)	23,94° ± 0,47	25,47° ± 0,46	23,60° ± 0,32
Polida, tratada a LASER e recoberta pelo método Biomimético (SBF - 6)	26,12° ± 0,47	25,49° ± 0,23	25,56° ± 0,25

Figura 52 - Gráfico com a média e desvio padrão dos ângulos de contato obtidos para as amostras de NiTi brutas, polidas, tratadas a LASER e recobertas pelo Método Biomimético.



Os resultados obtidos apresentaram valores crescentes de molhabilidade para as superfícies tratadas a LASER e recobertas, em todas as amostras independentes da composição da liga em detrimento as superfícies brutas e polidas, indicando que o aumento da rugosidade através do tratamento de superfície e recobrimento atua de maneira sinérgica. As amostras sob diversas condições superficiais (NiTi A, B e C) apresentaram uma molhabilidade parcial, no entanto, as amostras brutas e polidas revelaram uma menor molhabilidade em decorrência da microestrutura apresentada.

Ao mensurar o ângulo de contato das amostras submetidas à irradiação a LASER, constatou-se que houve uma diminuição do ângulo θ , mostrando uma maior molhabilidade, este aumento de molhabilidade, corrobora com as características topográficas das ligas, que após o tratamento de superfície a LASER, proporcionou um aumento da rugosidade superficial e possivelmente, a presença de uma mistura de óxidos estequiométricos e não estequiométricos com diferentes morfologias e propriedades (SISTI, 2011), dados que corroboram com os resultados obtidos pela análise de DRX. Segundo Hao et al. (2003) a molhabilidade pode ser influenciada mais pelas mudanças microestruturais e quantidade de oxigênio do que pela rugosidade superficial propriamente dita.

O tratamento superficial a LASER levou a formação de uma superfície porosa e homogênea com aumento da área e volume, com defeitos lineares maiores e mais profundos o que proporciona um aumento da superfície de contato. A presença de defeitos homogeneamente distribuídos na superfície é uma característica importante em implantes, pois aumenta a molhabilidade, otimizando a osseointegração (formação de tecido ósseo sem interposição de tecido fibroso) (BRÄNEMARK, 1997), justificando, desta forma, a diminuição do ângulo de contato.

O recobrimento das superfícies das amostras pelo Método Biomimético proporcionou uma significativa diminuição do ângulo de contato, caracterizando uma maior molhabilidade das amostras sob estas condições. Este resultado esperado pode estar relacionado com o aspecto microestrutural apresentado nas micrografias na MO e MEV nas amostras com a deposição de apatita. Não houve diferença significativa de ângulo de contato das amostras submetidas às soluções SBF-0 e SBF-6.

Contudo, estudo de recobrimento de apatita empregando o Método Biomimético em superfície de titânio revelou que na solução SBF-0 a presença de elementos Ca e P encontram-se numa razão de 1,45 e o recobrimento apresenta-se com uma mistura de fases correspondentes ao fosfato octacálcico (OCP) e hidroxiapatita deficiente de cálcio, já na solução SBF-6 apresentou uma razão Ca/P de 1,53 e o DRX apresentou picos característicos da fase OCP, hidroxiapatita deficiente de cálcio e hidroxiapatita carbonatada (APARECIDA, 2006).

De acordo com a literatura, fosfatos de cálcio amorfos, em especial o fosfato tetracálcico e fosfato tricálcico são mais solúveis do que a HA, levando a uma rápida desintegração, conhecida como reabsorção (ASSIS et al., 2005). Assim, a

solubilidade pode ser um fator favorável à osseointegração do implante, uma vez que é conhecido o processo de remodelagem óssea e talvez essa solubilidade possa desencadear uma reabsorção seguida de uma deposição óssea sobre a superfície. Desta forma, quanto menor a relação Ca/P e menor for a cristalinidade da apatita maior a solubilidade, conseqüentemente, maior a molhabilidade (SISTI, 2011).

Como as propriedades químicas das apatitas podem ser modificadas através dos métodos de preparação, então, pode-se ter uma versatilidade associada ao tipo de apatita presente no revestimento. Para implantes ósseos ou dentários, duráveis por muitos anos, pode-se utilizar um material pouco solúvel, constituído por hidroxiapatita pura, com uma maior relação Ca/P. Quando se desejar um implante que seja reabsorvido pelo corpo, cedendo lugar ao tecido ósseo novo, usa-se uma cerâmica mais solúvel, geralmente constituída por uma mistura de hidroxiapatita com outros fosfatos de cálcio, de menor relação Ca/P (KANAZAWA, 1989).

Balla et al. (2009) estudaram novas estruturas que foram feitas em combinação Ti-TiO₂ utilizando LASER Nd-YAG, com adição de cerâmica na composição de TiO₂, o que aumentou significativamente a molhabilidade e a dureza, assim como o volume (30%) da superfície pela presença de porosidades. Mostrando a relevância de associar métodos de modificação de superfície para melhorar a molhabilidade, aumentar a interação do biomaterial ao meio biológico, propriedade encontrada nos resultados de molhabilidade desta pesquisa.

Rupp et al. (2004) ao estudarem a molhabilidade de superfícies de titânio sugeriram que as estruturas com topografias micromodificadas influenciam positivamente na dinâmica da molhabilidade da superfície durante o contato inicial com o hospedeiro, assim como na resposta biológica inicial da absorção das proteínas do plasma. A superfície com microestrutura, uma vez apresentando molhabilidade total, pode melhorar o contato inicial com o tecido depois de implantado.

5.6 CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA – DSC

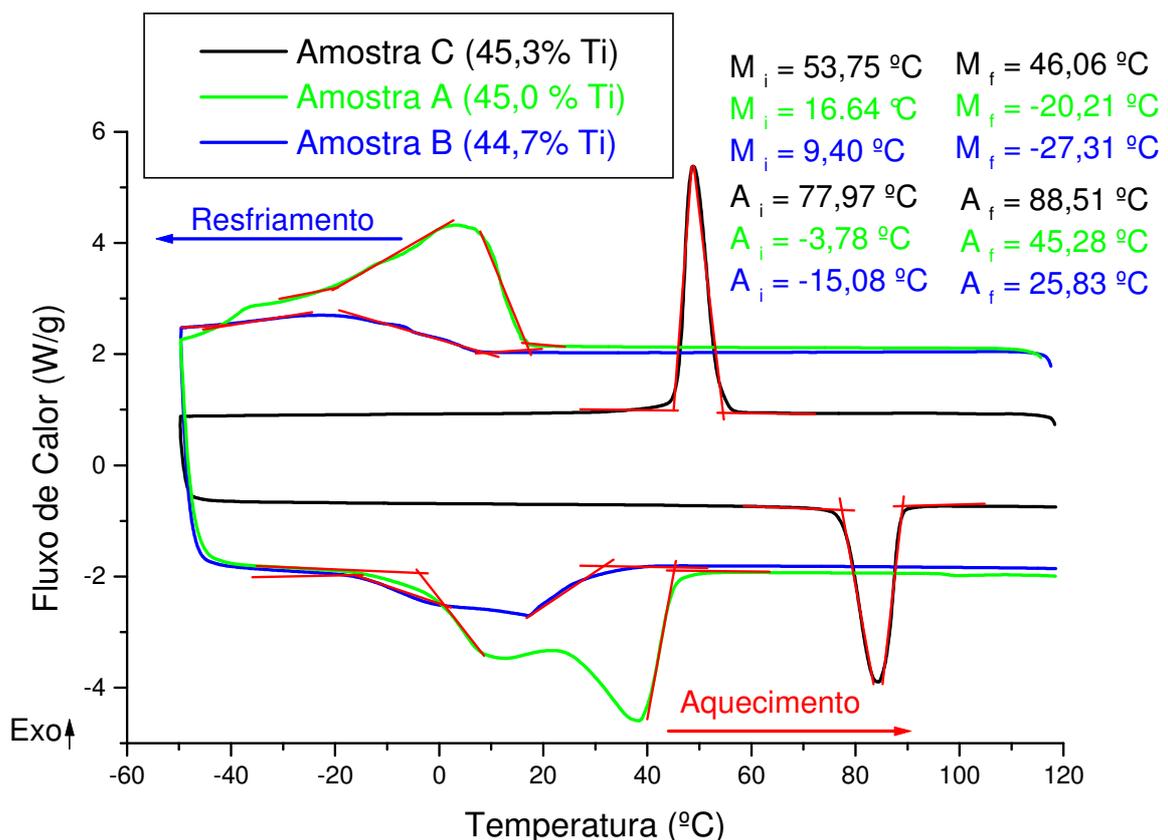
Os valores de temperaturas de transformação foram mensurados nas curvas de resfriamento e aquecimento obtido na análise via DSC das ligas de NiTi brutas, onde se obteve as temperaturas de transformação martensítica e austenítica

conforme a Tabela 10 e Figura 53. A linha superior exotérmica corresponde as temperaturas M_s (Martensita Inicial) e M_f (Martensita Final) de resfriamento e a linha inferior endotérmica corresponde as temperaturas A_s (Austenita Inicial) e A_f (Austenita Final) de aquecimento (Figura 53)

Tabela 10 - Valores das temperaturas de transformação das composições das ligas de NiTi.

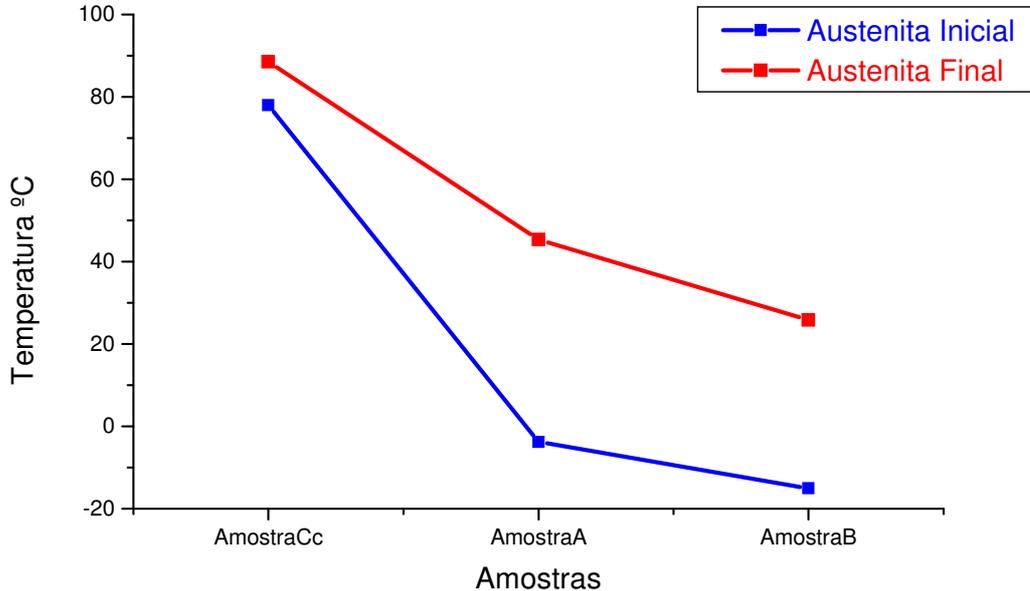
Valores das Temperaturas de Transformação das composições das ligas de NiTi				
Código da Amostra	Martensítica Inicial (M_i)	Martensítica Final (M_f)	Austenítica Inicial (A_i)	Austenítica Final (A_f)
NiTi – A	16,64°C	-20,21°C	-3,78°C	45,28°C
NiTi – B	9,40°C	-27,31°C	-15,08°C	25,83°C
NiTi – C	53,75°C	46,06°C	77,97°C	88,51°C

Figura 53 - Termograma mostrando as temperaturas de transformação de fases numa análise DSC.



As análises de calorimetria demonstram que para o pico de transformação, em que praticamente todo material se encontra no estado austenítico, ocorreu em distintas temperaturas, para a liga NiTi-A aconteceu a uma temperatura de 45,28°C, para a amostra NiTi-B ocorreu à temperatura ambiente de 25,83°C e a NiTi- C a uma temperatura de 88,51°C (Figura 54).

Figura 54 - Gráfico mostrando as temperaturas de transformação austenítica inicial e final das amostras, após análise DSC.



O DSC das amostras A, B e C informou que a temperatura final de transformação austenítica (A_f) variou de 25,83°C a 88,51°C de acordo com a composição da liga, onde a liga com maior concentração de Ni apresentou a menor temperatura, indicando que se poderia trabalhar com superelasticidade até 138,51°C temperatura chamada M_d (maior temperatura para martensita induzida por tensão), para a amostra NiTi-C ($A_f = 88,51^\circ\text{C}$), já que, conforme Duerig *et al.* (1999), a superelasticidade acontece entre 25 e 50°C acima de A_f , tendo então: $A_f < T_{Se} < M_d$, onde T_{Se} é a temperatura em que ocorre a superelasticidade. Acima de M_d a liga teria deformação plástica com deslizamento de planos como qualquer material (DUERIG *et al.*, 1999). Já a M_f , temperatura final de transformação martensítica, indica que para se obter a martensita moldável seria preciso resfriar a peça com temperatura menor que - 20,21°C (NiTi-A) e - 27,31°C (NiTi-B), com exceção da amostra C, pois até próximo de 46,06°C encontra-se na fase moldável.

Outra observação importante é que próximo a temperatura corpórea (37°C) estarão presente as fases martensítica e austenítica na amostra NiTi-A, pois a $A_f = 45,28^\circ\text{C}$, a liga NiTi-B, se encontrará totalmente austenítica $A_f = 25,83^\circ\text{C}$ e a NiTi-C, totalmente martensítica pois $M_f = 46,06^\circ\text{C}$, estando de acordo com o trabalho de Otsuka e Wayman (1998) onde relatam que a amostra mais rica em Ni, deverá

apresentar a fase austenita em temperaturas inferiores às com menor concentração de Ni.

Diante do desafio de idealizar uma liga metálica para aplicação biomédica, especificamente, para implantes dentários, busca-se um material com propriedades biológicas e mecânicas adequadas para este fim. Contudo, após a análise de DSC, pôde-se observar que a liga com maior concentração de titânio (NiTi-C), apresentou a característica de estrutura cristalina (martensítica) próximo a temperatura corpórea (37°C), onde sob compressão/tensão estas estruturas em forma de maclas tendem a sofrer deslizamentos umas sobre as outras, o que pode favorecer as propriedades mecânicas de dureza (maior resiliência), módulo de elasticidade e amortecimento, tornando-as mais próximas do sistema biológico que é o osso, propriedades estas que serão discutidas adiante.

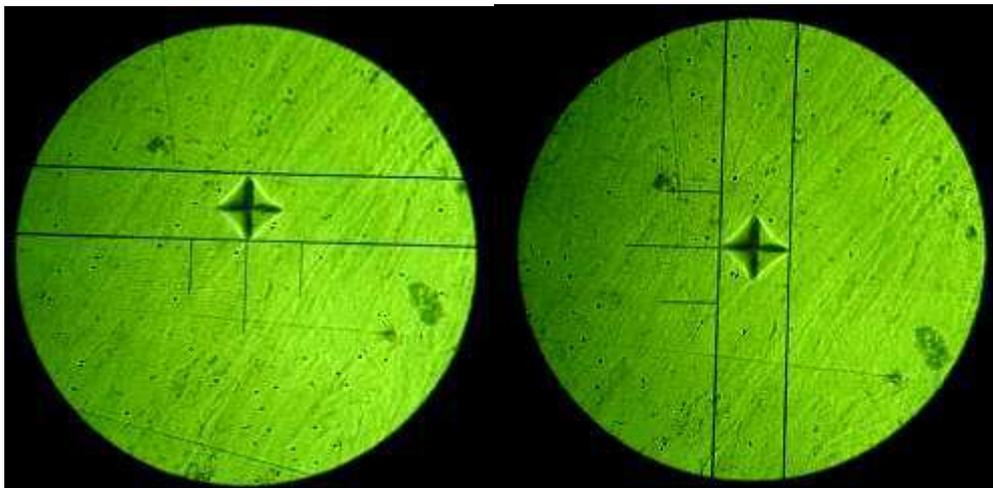
Outro fator relevante está relacionado à composição química, já que é uma liga com menor teor de Ni e maior quantidade de Ti, provavelmente haverá menor exposição ao Ni, proporcionando, certamente, uma baixa citotoxicidade, característica favorável no âmbito da biocompatibilidade, propriedade que pode ser potencializada efetuando técnicas de modificação de superfície com o intuito de suprimir a liberação de íons Ni (QIU et al., 2011).

A determinação das temperaturas de transformação de fases para o ensaio de DSC foi feita através do método das tangentes de forma manual onde cada temperatura foi marcada no ponto de interseção da linha base com a extensão da reta de maior inclinação do pico da curva via método adaptado da norma ASTM F 2005-00 *Terminology for Nickel-Titanium Shape Memory Alloys* (ASTM, 2005b).

5.7 MICRODUREZA

Esse experimento foi realizado com o intuito de verificar a microdureza antes e após os tratamentos de superfície das amostras. Para isto, foram analisadas as endentações (Figura 55) com o auxílio do microscópio mensurador acoplado ao aparelho, a dimensão da diagonal (d) das penetrações foram medidas e a dureza Vickers foi determinada.

Figura 55 – Endentação do microdurômetro na amostra de NiTi.



Os valores obtidos na Tabela 11 representam a média de 5 endentações feitas nas amostras. Observou-se que amostra NiTi-B apresentou uma maior dureza quando comparado as demais composições (NiTi-A e C), que de acordo com a literatura (OTSUKA, WAYMAN, 1998) a amostra B (55,3% Ni) com maior concentração de Ni, deverá apresentar a fase austenita em temperaturas inferiores às amostras com menor concentração, explicando o maior nível de dureza mostrada. Como a temperatura ambiente as amostras A e C apresentam-se com as fases austenítica-martensítica e martensítica, respectivamente, além de apresentar uma diferença de concentração de Ni muito pequena, estas apresentaram um valor de dureza aproximado.

Tabela 11 - Valores da microdureza Vickers em HV das composições das ligas de NiTi.

Valores da Microdureza Vickers das composições das ligas de NiTi	
Código da Amostra	Microdureza (HV)
NiTi – A	292,74 ± 0,88
NiTi – B	459,26 ± 7,31
NiTi – C	273,14 ± 4,15

Estes dados de microdureza estão de acordo com os resultados encontrados por Souza-Filho et al. (2011). A fase austenítica apresenta-se mais rígida e menos deformável, e a fase martensítica torna o material dúctil e facilmente deformável pela tensão, pois a estrutura cristalina sofre “deslizamento paralelo”, características

relacionadas à estrutura cristalina presente nestas fases (OTSUKA e REN,1999).

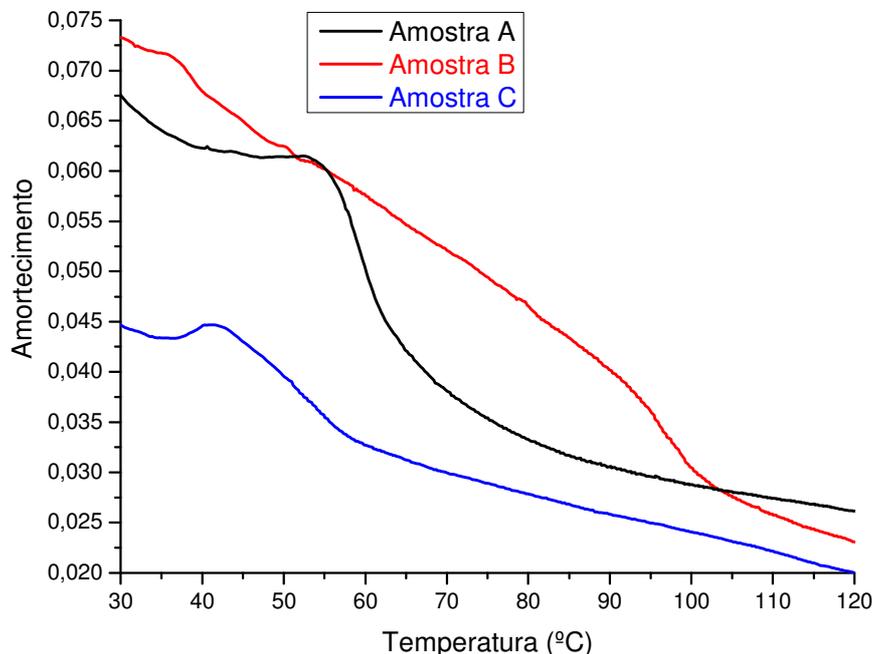
Os valores de dureza do Ti grau II pode variar de 150 a 330 HV (YOKOYAMA et al., 2002), desta forma, os valores encontrado na liga NiTi A e C encontram-se dentro dos limites aceitos ao comparar com o padrão de referência que é o titânio, pois apresentaram uma menor dureza em decorrência da estrutura cristalina presente. Segundo Gurgel (2001) os átomos da liga de NiTi apresentam disposições específicas dependendo da fase em que se encontram: estrutura cúbica de corpo centrada (ccc) quando em fase austenítica, e a estrutura cristalina na fase martensítica é do tipo monoclinica ASTM (F 2005 5), representando menor rigidez da liga. Reis (2001) afirmou que a liga NiTi na fase martensítica é facilmente deformável em grandes percentuais com tensão relativamente baixa. Esta deformação também pode ser induzida por resfriamento.

5.8 ANÁLISE DINÂMICO-MECÂNICA – DMA

Os parâmetros aplicados para a avaliação da capacidade de amortecimento de LMF da família NiTi correspondem à frequência de 1 Hz, amplitude de oscilação de 5 μm e taxa de aquecimento máxima de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Estes parâmetros são recomendados pela literatura, objetivando o mínimo de influência destes sobre os resultados a serem obtidos (SILVA, 2009).

Para os ensaios dinâmicos foram mantidos os mesmos parâmetros para todas as amostras. Portanto, os ensaios realizados contaram com uma rampa de aquecimento partindo da temperatura ambiente 30 $^{\circ}\text{C}$ até 120 $^{\circ}\text{C}$, com frequência e amplitude fixadas. A Figura 56 mostra os resultados de amortecimento obtidos para as amostras NiTi A, B e C.

Figura 56 - Capacidade de amortecimento em função da temperatura para as amostras A, B e C sem tratamento de superfície. Unidade Adimensional.



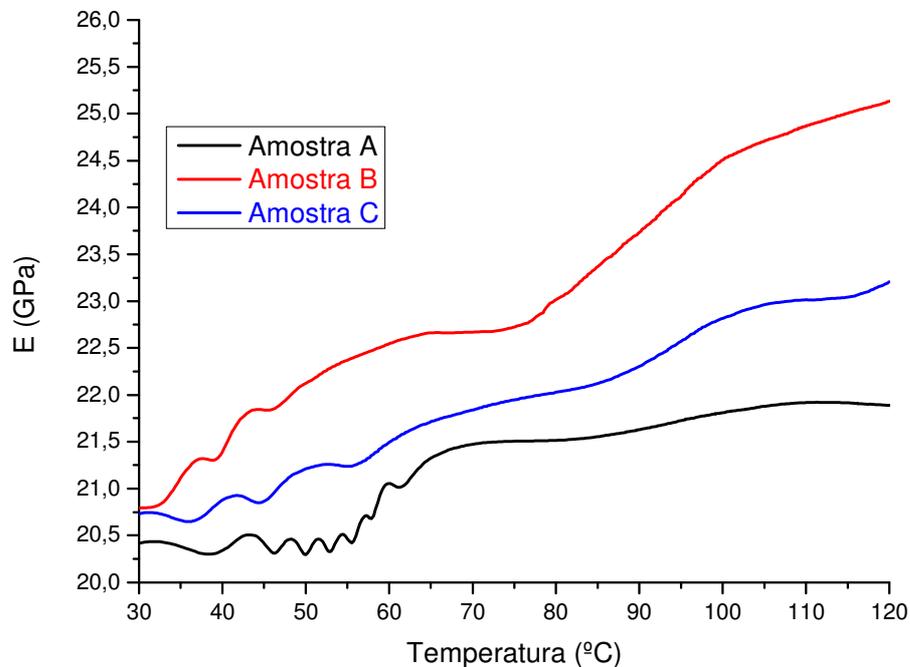
Através das curvas da variação de $\text{Tan } \delta$ (Amortecimento) com a temperatura, pode-se observar que para a amostra C surgiu suave pico de transformação de fase em torno da temperatura de transformação verificada no DSC ($46,06^{\circ}\text{C}$) que traduz uma elevação na capacidade de amortecimento da liga, ou seja, um aumento na absorção de energia apresentada pelo material. Esse efeito pode está relacionado ao movimento das interfaces martensita/austenita durante a transformação. A elevação do amortecimento também pode ser correlacionada aos defeitos de discordâncias e mobilidade no material. Verifica-se também que a capacidade de amortecimento apresentada pela fase martensítica, é maior que a demonstrada pela austenítica, o que se deve a absorção de energia provocada pelas plaquetas da martensita.

Percebe-se que todas as composições das ligas de NiTi, apresentaram maior amortecimento em temperaturas mais baixas, e à medida que a temperatura foi aumentando, a capacidade de amortecimento foi diminuindo gradativamente. As amostras NiTi-A e B apresentaram maior capacidade de amortecimento próximo à temperatura ambiente (40°C), do que a amostra NiTi-C, que pode estar associado, entre outros fatores, a composição química da liga, uma vez que, esta liga (NiTi-C)

apresenta uma maior concentração de titânio, bem como, as amostras possuem maior quantidade de defeitos e dificultarem sua mobilidade durante a transformação de fase ou, possivelmente, a presença de tensões decorrentes dos estiramentos nos planos cristalinos durante a transformação de fase (SILVA, 2009). No entanto, a variação do amortecimento entre as amostras foi relativamente pequena.

A Figura 57 mostra o comportamento do módulo de armazenamento das LMF quando a temperatura é elevada gradualmente.

Figura 57 – Variação do módulo de elasticidade em função da temperatura para as amostras A, B e C - Valores Absolutos.



Através da Figura 57 pode-se perceber um aumento considerável no módulo de elasticidade em todas as amostras ao longo da transformação de fase. Os módulos das composições a temperatura próximo a 37°C apresentaram-se aproximadamente entre 21,3 GPa (NiTi-B), 20,8 GPa (NiTi- C) e 20,3 GPa (NiTi-A), não mostrando uma diferença significativa entre os módulos. Esta pequena variação de valores pode estar associada à fase cristalina que a amostra se apresenta a temperatura ambiente. Como a amostra B encontrava-se totalmente austenítica, apresentou uma maior rigidez, portanto um maior valor de módulo, comparado com a amostra A (fase martensítica-austenítica) e amostra C (fase martensítica). No entanto, os valores de módulo de elasticidade das três composições ficaram

próximas ao módulo do osso que varia entre 10 e 30 GPa. Já o módulo de elasticidade do titânio e da liga Ti6Al4V varia entre 100 e 120 GPa. A diferença do módulo de elasticidade do implante (Ti_{cp}) e do osso é desfavorável para a saúde do osso e para o seu remodelamento (LEHMAN, 2006).

O aumento do módulo de armazenamento com a temperatura indica um acréscimo na rigidez do material, ou seja, haverá uma menor dissipação de energia pela estrutura correspondente a altas temperaturas (austenita). Essa elevação do módulo ocorre pelas mesmas razões que foram verificadas na variação da capacidade de amortecimento das LMF, relacionadas a movimentos internos na estrutura do material, apresentando rigidez inferior na fase martensítica se comparada à fase austenítica (OTSUKA e WAYMAN, 1998).

Lagoudas et al. (2003) relatam que há uma dissipação de energia proporcionada pela transformação martensítica que pode chegar a valores muito altos tais como de 80-90%. Indica-se assim a utilização de materiais superelásticos para a confecção de aparatos que tenham como função a absorção de energia.

Quando uma amostra de NiTi superelástico é submetido a um ciclo de deformação dentro da sua média de tensão superelástica, ela dissipa uma certa quantidade de energia sem uma deformação permanente, como típica resposta a um carregamento e descarregamento de uma amostra em compressão. A energia dissipada é devido à transformação de fase, de austenita para martensita, durante os ciclos de carga e à transformação reversa para a austenita na remoção da carga, resultando em liberação de energia em forma de calor. Essa propriedade de dissipação de energia das ligas superelásticas pode ser usada na dissipação de choques e vibrações (FUGAZZA, 2003).

Ao comparar as propriedades mecânicas do osso e do sistema de implantes, pode-se observar que o módulo de elasticidade do titânio é em torno de 5 a 10 vezes mais rígido que o osso cortical. Desta forma, a carga suportada pelo implante normalmente não é dissipada para o sistema ósseo, e quando esta carga ultrapassa os limites fisiológicos, pode causar microfratura no osso e reabsorção (AHLQUIST et al., 1990), além de causar afrouxamento do parafuso e fratura do corpo do implante (BRAGGER et al., 2001). As mesmas cargas que fraturam o implante são responsáveis pela perda do osso da crista alveolar. Estes efeitos podem estar associados a diversos fatores como tipo de osso, formato do implante, diferenças nos módulos de elasticidade entre o osso e o implante (LEHMAN, 2006).

Baseado no exposto, as composições estudadas próximas a temperatura corpórea (37°C) apresentaram-se com módulo de elasticidade inferiores a 22 GPa, e mesmo ocorrendo à total transformação austenítica das composições, a uma temperatura de 120°C, o valor máximo do módulo chegaria a 25,3 GPa, que caracterizaria uma menor dissipação de energia e uma maior rigidez do material. Mesmo assim, não ultrapassaria o valor máximo do módulo de elasticidade do osso que é em torno de 30 GPa. Em implantes odontológicos, esta propriedade pode favorecer para uma otimização na osseointegração e na redução do índice de fratura tanto do material quanto do osso que o aloja, já que esta propriedade pode permitir a dissipação de energia e redução de impacto durante a mastigação (GEETHA et al., 2009).

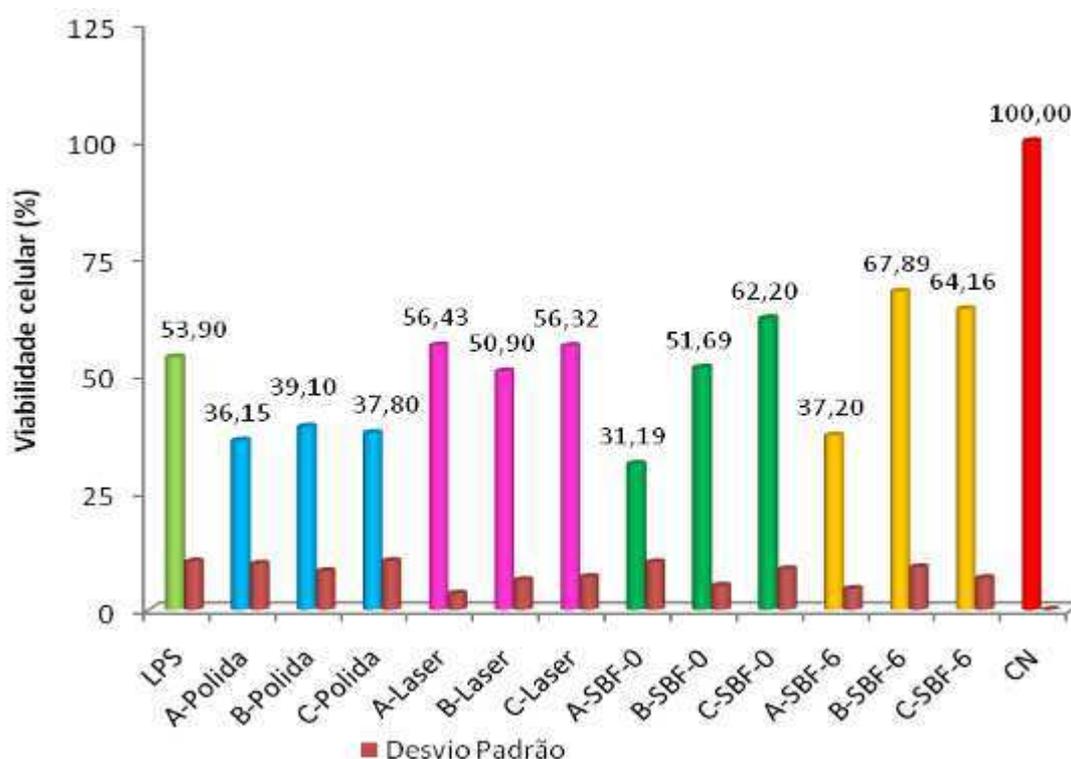
Desta forma, o baixo módulo de elasticidade das ligas de NiTi é uma importante propriedade mecânica das ligas para aplicação em implantes dentários, pois se busca um biomaterial que tenha capacidade de dissipar energia após a imposição de uma carga, para que se possa reduzir o número de falhas nos implantes por fratura, diminuir as reabsorções ósseas ao redor do corpo do implante, aumentar a vida útil do material e devolver o mecanismo de amortecimento ao sistema implante-osso.

5.9 ANÁLISE DE BIOCOMPATIBILIDADE – ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

5.9.1 Avaliação da Viabilidade Celular de Macrófagos

A Figura 58 mostra os percentuais de viabilidade celular das amostras de NiTi testados e calculados através do ensaio de MTT (MOSMANN, 1983). As células do meio de cultura equivalendo a 100% de viabilidade foram utilizadas como controle negativo e LPS (lipopolissacarídeo) como controle positivo. A coluna LPS diz respeito a um teste efetuado com lipopolissacarídeo e é útil para comprovar a viabilidade das células utilizadas, nesta dosagem da substância permanecendo um quantitativo maior de células viáveis do que o próprio material testado. O controle positivo e negativo são utilizados para verificar a eficácia do ensaio de citotoxicidade de acordo com Daguano, Santos e Rogero, (2007).

Figura 58 – Viabilidade celular dos macrófagos por meio do ensaio de MTT na presença de amostras de NiTi com diferentes características superficiais.



A viabilidade das células expostas às amostras de NiTi sob diversas condições variou de acordo com a topografia das superfícies e composição das amostras. As amostras submetidas ao tratamento de superfície por LASER e ao LASER com recobrimento utilizando o método biomimético (SBF – 0 e 6) para as amostras NiTi B e C obtiveram viabilidade celular aproximadamente variando de 50,90% a 67,89%. O valor mínimo requerido para o teste de biocompatibilidade é de 50% (BISPO, 2009). Portanto, os valores obtidos neste teste, revelam que as ligas de NiTi são consideradas compatíveis para uso como biomaterial.

Estes grupos apresentaram comportamentos semelhantes e acima do controle positivo (LPS), ou seja, apresentaram menor toxicidade entre as composições avaliadas. No entanto, os resultados revelaram que, sob determinadas condições, poderá apresentar uma maior reação de toxicidade, como nos casos das amostras de NiTi polidas e NiTi-A recoberta, que obtiveram viabilidade celular inferior a 50%. Esta variação de viabilidade pode estar associada à composição da liga, aos óxidos presentes, tipo de apatita depositada e espessura do filme biocerâmico na superfície da amostra. Desta forma, é possível afirmar que as

modificações superficiais podem influenciar na interação do biomaterial com o meio biológico.

Armitage, Parker e Grant (2003) avaliaram o efeito de uma gama de tratamentos de superfície em ligas de NiTi quanto à citotoxicidade e citocompatibilidade empregando fibroblastos e células epiteliais. Os testes não mostraram diferenças na biocompatibilidade de qualquer das superfícies tratadas. Mostraram-se favoráveis em comparação com os controles (aço inoxidável e titânio), mostraram também que o tratamento térmico da liga diminuiu significativamente a concentração de níquel na superfície e apresentou mudança na superfície para um estado de óxido, reduzindo a trombogenicidade observada.

Constatou-se que as amostras tratadas a LASER e modificadas pelo Método Biomimético empregando a solução SBF-6 apresentaram valores superiores ao controle positivo, mostrando um comportamento compatível para o uso desta liga sob condições específicas, portanto, podem apresentar menor citotoxicidade. A amostra NiTi-B tratada a LASER e pelo Método Biomimético empregando a solução SBF-6 foi a liga que se mostrou com viabilidade em torno de 68%, que pode está associado ao tipo de apatita depositada e espessura da camada. Contudo, a liga NiTi-C apresentou viabilidade celular acima de 56% quanto tratada a LASER e após deposição da biocerâmica, mostrando a interferência da maior concentração do titânio na composição da liga.

A partir dos resultados, pode-se considerar as ligas de NiTi são biocompatíveis e que sob condições específicas, apresentam menor possibilidade de reação de citotoxicidade, portanto, sendo um biomaterial promissor para possível uso para implante odontológico, associadas as propriedades mecânicas e biológicas favoráveis para aplicação neste tipo de implante. Wang, Xue et al. (2007) realizaram um estudo para avaliar a segurança biológica de liga de NiTi porosa para possível aplicação na implantodontia, e fornecer elementos para a experimentação animal e aplicação clínica. O teste de citotoxicidade (teste MTT), revelou que as células L929 cresceram bem no extrato e o grau de citotoxicidade foi zero e concluíram que a liga de NiTi porosa apresenta boa segurança biológica para aplicação como material de implante dentário.

Os testes de citotoxicidade avaliam o comportamento do material através da mensuração do número ou crescimento de células após a exposição a um material. Se o material não for citotóxico, as células irão permanecer aderidas às cavidades

de avaliação e irá proliferar com o passar do tempo, caso o material seja citotóxico as células param de crescer, mostram característica citopática ou se destacam da cavidade (CRAIG, POWER, 2004).

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade dos materiais usados na área de saúde e depois de comprovada a sua não toxicidade é que o estudo da biocompatibilidade do produto pode avançar para os ensaios necessários em animais no laboratório (BATISTA et al., 2002; ROGERO et al., 2003; ANUSAVIVE, 2005).

Desta forma, os testes de biocompatibilidade são essenciais na aceitação do material e que os modelos de estudo *in vitro* são uma alternativa imprescindível na pesquisa de citotoxicidade de materiais odontológicos nos dias atuais. Estes testes permitem uma rápida avaliação, melhoram os protocolos padronizados, produzem dados quantitativos e comparáveis, e devido à sua sensibilidade, permitem que os materiais tóxicos sejam descartados previamente aos experimentos animais. A *International Organization Standardization (ISO)* e o *Council on Dental Materials, Instruments and Equipment of the American Dental Association* recomendam o uso de uma série de testes *in vitro* e *in vivo* para estudar a biocompatibilidade dos materiais, pois se acredita que nenhum destes, isoladamente, seria capaz de definir isoladamente biocompatibilidade. Segundo estas normatizações a maior categoria de testes para avaliação de materiais é o teste de citotoxicidade, assegurando a primeira etapa de biocompatibilidade de um dispositivo odontológico.

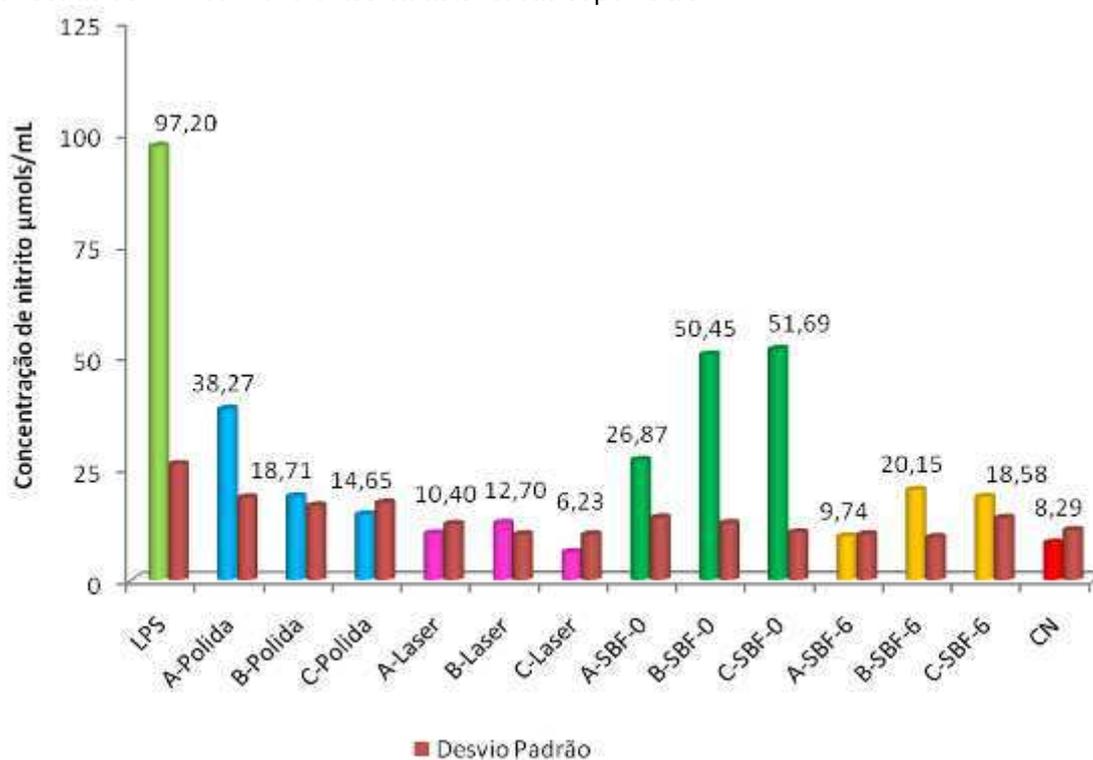
5.9.2 Teste de Produção de Óxido Nítrico

O óxido nítrico é uma molécula reguladora, produzida principalmente por macrófagos ativados, de extrema importância nos processos de resposta imune, inflamação, metabolismo ósseo e apoptose. Esta molécula gasosa pode apresentar efeitos benéficos, tais como atividade antimicrobiana e modulação da resposta imune. Por outro lado, quando presente em altas concentrações, pode atuar como uma influente molécula citotóxica desencadeando prejuízos aos tecidos adjacentes, incluindo osso alveolar (KENDAL, MARSHALL, BARTOLD, 2001).

Para determinação da produção de óxido nítrico pelos macrófagos, utilizou-se um controle negativo (células em cultura) e um controle positivo (células em cultura estimuladas por LPS). As células expostas às amostras de NiTi testadas tiveram

então a produção de óxido nítrico comparadas entre si e aos controles, resultados observados na Figura 59. Trata-se de um teste de biocompatibilidade que a análise poderá ser correlacionada aos resultados do teste MTT, já que é realizado com o líquido sobrenadante das culturas celulares do exsudato peritoneal, desta forma, está associado aos macrófagos que sobreviveram da viabilidade celular e quanto o substrato (liga NiTi sob variadas condições) estimulou um processo inflamatório, avaliando a síntese de óxido nítrico (VITRAL et al., 2008).

Figura 59 – Produção de óxido nítrico por macrófagos de camundongos Swiss na presença de amostras de NiTi com diferentes características superficiais.



As amostras que apresentaram menor concentração de óxido nítrico em sobrenadantes de cultura foram a NiTi-C tratada a LASER ($6,23 \pm 10,2$ μmols/mL) e a liga NiTi-A tratadas a LASER e recobertas empregando a solução SBF-6 ($9,74 \pm 10,2$ μmols/mL), em relação a $97,2 \pm 25,9$ do controle positivo e $8,29 \pm 11,2$ μmols/mL do controle negativo. Observou-se maiores concentrações de óxido nítrico principalmente nas ligas NiTi-A sob condições de superfície polida e NiTi-B e C recobertas empregando a solução SBF-0. As amostras tratadas a LASER e SBF-6, não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) quando comparado ao controle negativo.

No geral, as amostras de NiTi apresentaram uma baixa produção de óxido nítrico, expressando uma menor citotoxicidade, quando comparado ao controle

positivo, chegando, inclusive a apresentar valores de concentração inferiores ao controle negativo, como apresentado na amostra NiTi-C tratada a LASER ($6,23 \pm 10,16$), revelando um caráter antiinflamatório e sugerindo que o material não foi capaz de causar prejuízos às células, demonstrando biocompatibilidade. Estando de acordo com Dina et al. (2006) que comprovaram a não citotoxicidade, a baixa adesão de microorganismos e aumento da resistência à corrosão em ligas de NiTi após ablação, comprovando a resposta biológica promissora para superfícies tratadas a LASER.

O papel do óxido nítrico na mucosa bucal ainda é desconhecido. Os achados sugerem que uma concentração excessiva de óxido nítrico na saliva exerce um papel potencial nas modificações das doenças da mucosa bucal apresentando um efeito regulador patofisiológico. O aumento de nitrito quantificado na saliva foi encontrado em pacientes com recorrentes ulcerações orais aftosas (OHASHI, IWASE, NAGUMO, 1999).

Desta forma, considerando que o óxido nítrico é encontrado desempenhando função de sinalização molecular em muitas partes do organismo, bem como sendo uma importante molécula citotóxica de resposta imune inata, é quase certo que um aumento em níveis percentuais, tenha importantes e danosas ações no desenvolvimento de doenças inflamatórias bucais (KENDALL, MARSHALL, BARTOLD, 2001; BRENNAN, THOMAS, LANGDON, 2003).

No presente estudo, obteve-se variados níveis de produção de óxido nítrico de acordo com as composições e características superficiais, no entanto, as amostras NiTi tratadas a LASER, apresentaram uma menor citotoxicidade, podem estar relacionados à presença dos óxidos formados na superfície após a ablação a LASER, seguido das amostras recoberta pelo método biomimético empregando a solução SBF-6, que pode estar associado a espessura do filme biocerâmico formado e/ou ao tipo de apatita depositada, por se tratar de apatitas de interesse biológico de acordo com Aparecida, (2006).

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos durante a elaboração do estudo pode-se apresentar as seguintes conclusões:

- ✓ As ligas de NiTi associadas as modificações superficiais apresentam propriedades mecânicas e físico-químicas, características topográficas e biológicas favoráveis a aplicação como biomaterial, especificamente na implantodontia, além de ser um biomaterial de origem nacional, economicamente viável.
- ✓ A aplicação de ligas de NiTi para elaboração de implantes dentários poderá devolver ao sistema implante versus osso o mecanismo de amortecimento, “estímulo ósseo” através da propriedade de superelasticidade da liga.
- ✓ As amostras de NiTi modificadas por LASER, associados ou não à apatita, apresentaram superfícies com propriedades morfológicas que contribuem para uma precoce osseointegração.
- ✓ As mudanças microestruturais das ligas induzidas pelos tratamentos superficiais proporcionaram um aumento na molhabilidade e, conseqüentemente, uma maior interação do biomaterial com o meio biológico.
- ✓ Os ensaios de citotoxicidade para avaliação da biocompatibilidade demonstraram viabilidade para as ligas de NiTi, principalmente quando submetidas ao tratamento superficial a LASER isoladamente e associado ao recobrimento biomimético em SBF-6.
- ✓ Conclui-se que a liga NiTi-C tratada a LASER e com recobrimento biocerâmico empregando a solução SBF-6 é a mais indicada para aplicação em implantes dentários, por apresentar adequadas propriedades biomecânicas.
- ✓ Finalmente, é possível afirmar que a liga de NiTi pode ser considerada um biomaterial de grande relevância clínica, por apresentar propriedades mecânicas próximas ao do osso e adequada biocompatibilidade. Além de, possivelmente, proporcionar uma redução no tempo de osseointegração, através dos revestimentos com um filme biocerâmico versátil, através da deposição de apatitas com diferentes graus de solubilidade, que dependerá da necessidade clínica existente.

PROPOSTA DE TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados desta pesquisa, tem-se como desafios futuros:

- ✓ Avaliar os óxidos e suas concentrações (%) formadas sobre as superfícies submetidas ao tratamento a LASER, relacionando-os com a composição das ligas de NiTi e a citotoxicidade;
- ✓ Calcular e analisar comparativamente o índice de bioatividade das ligas de NiTi sob diversas modificações superficiais (Polidas, tratadas a LASER e pelo Método Biomimético);
- ✓ Verificar a influência do tipo e concentração da solução SBF no tempo de recobrimento;
- ✓ Realizar ensaios mecânicos sobre as superfícies depositadas com o filme biocerâmico;
- ✓ Avaliar a existência de alteração na temperatura de transformação de fase das ligas de NiTi após o tratamento a LASER;
- ✓ Submeter as amostras recobertas com apatita a ensaios de degradação;
- ✓ Realizar ensaios *in vivo* com o biomaterial nas diversas condições superficiais estudadas.

REFERÊNCIAS

- ABE, Y., KOKUBO, T., YAMAMURO, T. Apatite Coating on Ceramics, Metals and Polymers Utilizing A Biological Process, **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 1, n. 4, pp. 233-238, 1990.
- AFONSO A. S. Interação entre biomateriais e tecido ósseo. **Tese de Doutorado**. Porto, 1998. 208 f.
- AHLQUIST, J.; BORG, K.; GUNNE J. *et al.*: Osseointegrated implants in edentulous jaws: a 2 year longitudinal study, **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.5, p.155-163, 1990.
- ALBREKTSSON T, ERIKSSON AR, FRIBERG B, et al.: Histology investigations on 33 retrieved Nobelpharma implants. **Clin. Mater.**, v.2, p.1-9 1993.
- ALMEIDA FILHO, E. Avaliação do Tratamento Térmico em Recobrimentos Cerâmicos Bioativos pelo Método Biomimético sobre Titânio c.p. modificados pelo Laser Nd:YAG. **Dissertação de Mestrado**. 2008. 100p. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista.
- ALMEIDA FILHO, E.; ASSIS, C. M.; VERCİK, L. O.; GUASTALDI, A. C. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspersão térmica. **Quim. Nova**, v. 30, n. 5, p.1229-1232, 2007.
- ANUSAVICE, K. J. **Phillips Materiais Dentários**. 11. ed., Rio de Janeiro: Elsevier Ed. Ltda., 2005.
- AOKI, H., Medical Applications of Hydroxyapatite. **Ishiyaku Euroamerica**. Tokyo, St. Louis, 1994.
- APARECIDA, A. H., FOOK, M. V. L., GUASTALDI, A. C. Biomimetic apatite formation on Ultra-High Molecular Weight Polyethylene (UHMWPE) using modified biomimetic solution. **J Mater Sci: Mater Med.**, v.20, n.6, p.1215-22, 2009.
- APARECIDA A.H. Recobrimento de Apatitas Empregando-se o Método Biomimético: Estudo da Influência dos Íons K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e HCO_3^- na Formação de Hidroxiapatita. 2006. 115f. **Dissertação (Mestrado)**. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.
- APARECIDA AH, FOOK MVL, SANTOS ML, GUASTALDI AC. Estudo da influência dos íons K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e CO_3^{2-} na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). **Química Nova.**, v. 30, p. 892-96. 2007.
- ARAÚJO C. J. et al. Fabrication of shape memory alloys using the plasma skull push-pull process. **Journal of materials processing technology**. v.7, p. 3657-3664, 2009.
- ARMITAGE D. A., PARKER T. L., GRANT M. Biocompatibility and hemocompatibility of surface modified NiTi alloys. **Journal of Biomedical Materials Research**. Part. A, v.66-A, n.1, p.129-137, 2003.
- ASSIS CM, VERCİK LCO, SANTOS ML, FOOK MVL, GUASTALDI AC. Comparison of crystallinity between natural hydroxyapatite and synthetic cp-Ti /HA coatings. **Mat. Res**. São Carlos, v.8, n. 2, 2005.

- ASTM E 3–95, **Practice for preparation of metallographic specimens**, ASTM International, PA, United States, 1980.
- ASTM E92-82. (2003) **Standard Test Method for Vickers Hardness of Metallic Materials**, ASTM International, PA, United States, 2003.
- ASTM. 2005a. ASTM F2004-00. **Standard Test Method for Transformation Temperature of Nickel-Titanium Alloys by Thermal Analysis**. Acessado em: 27/01/2011, disponível em www.astm.org.
- ASTM. 2005b. ASTM F2005. **Terminology for Nickel-Titanium Shape Memory Alloys**. Acessado em: 06/06/2011, disponível em www.astm.org.
- ASTM F2082-06. **Standard Test Method for Determination of Transformation Temperature of Nickel-Titanium Shape Memory Alloys by Bend and Free Recovery**. Downloaded/printed, pursuant license agreement. ASTM. 2009.
- BAIER, R. E. e MEYER, A. E. Implant surface preparation. **International Journal of Oral Maxillofacial Implants**, v. 3, n. 1, p. 9-20, 1988.
- BALLA VK, DE VASCONCELLOS PD, XUE W, BOSE S, BANDYOPADHYAY A. Fabrication of compositionally and structurally graded Ti –TiO₂ structures using LASER engineered net shaping (LENS). **Acta Biomaterialia**. v.5, p.1831–1837, 2009.
- BARRERE, F., VAN BLITTERSWIJK, C.A., DE GROOT, K. *et al.* Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFx% solution. **Biomaterials**, Bruxelas, v.23, n.9, p.1921-1930, 2002.
- BATISTA A. C., SILVA T. A., CHUM J. H. LARA V. S. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. **Oral Dis.**, v.8, n.5, p.245-260, 2002.
- BECKER W, SCHENK R, HIGUCHI K, LEKHOLM U, and BECKER BE: Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: A study in dogs. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, v.10, p. 143-154, 1995.
- BERRETA, J. R. Investigação do processo de endurecimento de materiais via laser. 1995. 108 f. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear de Materiais)** – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Centro de Laser e Aplicação, São Paulo.
- BEZERRA, FJB. Acidentes e complicações em técnicas reconstrutivas. In: BEZERRA FJB, LENHARO A. **Terapia Clínica Avançada em Implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, p.291-313, 2002.
- BHARATI, S. *et al.* Hydroxyapatite coating by biomimetic method on titanium alloy using concentrated SBF. **Boletins of Materials Science**, v. 28, n. 6, p. 617-621, 2005.
- BISPO, V.M. Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em Suportes Biocompatíveis de Quitosana-PVA. 2009, 206f. **Tese (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas)**, Universidade Federal de Minas Gerais.
- BLITTERSWIJK CAV, BAKKER D, HESSELING SC, and KOERTEN HK: Reactions of cells at implant surfaces. **Biomaterials**, v.12, p.187-193, 1991.

BORNSTEIN, M. M. et al. Early Loading of Nonsubmerged Titanium Implants with a Sandblasted and Acid-Etched (SLA) Surface: 3-years Results of a Prospective Study in P. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.18, n.5, p.695-666, set/out.2003.

BOWERS, K.T.; KELLER, J.C.; RANDOLPH, B.A.; WICK, D.G.; MICHAELS, C.M. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v.7, n.3, p.302-310, 1992.

BRAGA, F. J. C. Modificação de superfície empregando-se laser Nd:YAG. 2007. 120 f. **Tese (Doutorado em Química)** - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

BRAGGER, U., AESCHLIMANN S.; BURGIN W., et al. Biological and technical complications and failures with fixed partial dentures (FPD) on implants and teeth after four to Five years of function, **Clin Oral Implants Res**. v.12, p.26-34, 2001.

BRÄNEMARK P I. Introducción a la osseointegration. In: BRANEMARK P I, et al. *Protesis tejido integradas: la osseointegración en la odontología clínica*. Berlin: Quintessence, 1997.

BRENNAN P. A., THOMAS G. J. e LANGDON J. D. The role of nitric oxide in oral disease. **Arch of Oral Biol.**, v.48, p.93-100, 2003.

CAMPBELL, A. A. Bioceramics for implant coatings. **Mater. Today**, p. 26-31, Nov. 2003.

CALLISTER JR, W. D.; **Ciência e Engenharia dos Materiais: Uma Introdução**. 5 ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., v.1, p.589, 2002.

CARVALHO, P.S.P.; PALECKIS, L.G.P.; MENDES, V.C.; BASSI, A.P.F. Fundamentos da implantodontia – Basis of implantology. **Innovations Journal**, v.5, n.2, p.06-13, 2001.

CASTRO, C. M. M. B.; AGUIAR, J. L. A.; MELO, F.A.D.; SILVA, W. T. F.; MARQUES, E.; SILVA, D. B. Citotoxicidade de biopolímeros de cana-de-açúcar. **An. Fac. Med. Univ. Fed. Pernamb.** v.49, n.2, p.332-340, 2004.

CHEN, D. et al. Apatite formation on alkaline-treated dense TiO₂ coatings deposited using the solution precursor plasma spray process. **Acta Biomaterialia**, v.4, n.3, p.553-559, maio. 2008.

CHEN, M.F. ; YANG, X.J.; LIU, Y.; ZHU, S.L.; CUI, Z.D. MAN, H.C. Study on the formation of an apatite layer on NiTi shape memory alloy using a chemical treatment method. **Surface and Coatings Technology**. v. 173, p. 229–234, 2003.

CHEN, M.F.; YANG X.J.; HU R.X.; CUI, Z.D. MAN H.C. Bioactive NiTi shape memory alloy used as bone bonding implants. **Materials Science and Engineering. P.** 497–502, 2004.

CHIAVERINI, V., **Aços e ferros fundidos: Característicos gerais, tratamentos térmicos, principais tipos**. 7^a ed., São Paulo: Associação Brasileira de Metalurgia e Materiais, 1996.

CHU, P. K.; CHEN, J. Y.; WANG, L. P.; HUANG N. Plasma-surface modification of biomaterials. **Materials Science and Engineering R**, v. 36, p. 143-206, 2002.

COCHRAN, D. L. A comparison of endosseous dental implant surfaces. **Journal of Periodontology**, Chicago, v.70, n.12, p.1523-1539 1999.

COOPER, L. F. A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants. **J Prosth Dentistry.**, v.84, p.522-34, 2000.

COSTA, C. A. S. e SOUSA, P. P. C. Testes de citotoxicidade em culturas de células. In: ESTRELA, C. **Metodologia Científica**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2005, p.213-30.

COSTA JR. Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA quimicamente reticulada para aplicação potencial em Engenharia de Tecido Epitelial. 2008, 151f. **Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas)**. Escola de Engenharia da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais.

COTTRELL, A. **Introdução a Metalurgia**. Ed. Calouste Gulbenkian, 3°ed., 1993.

CRAIG, R. G. e POWERS, J. M. **Materiais Dentários Restauradores**. 11.ed. São Paulo: Santos, 2004, p.552-571.

CULLITY B.D. **Elements of X-ray Diffraction**, 2nd edn, Addison-Wesley.1978.

DAGUANO, J. K. M. F.; SANTOS, C. e ROGERO, S. O. Avaliação da citotoxicidade de biocerâmicas desenvolvidas para uso em sistemas de implantes. **Matéria**, v.12, n.1, p.134-139, 2007.

DAVIDSON, J. A. et al. New surface hardened, low-modules, corrosion-resistant Ti13Nb13Zr alloy for total hip arthroplasty. **Biomedical Material Engineering**.v.4, n.3, p.231-243, 1994.

DAVIES, J.E. Mechanisms of endosseous integration. **Int. J. Prosthodont.**, v.11, n.5, 1998.

DE CARVALHO B M, PELLIZZER E P, DE MORAES S L D, FALCÓN-ANTENUCCI R, FERREIRA JÚNIOR J S. Tratamentos de superfície nos implantes dentários **Rev. Cir. Traumatol. Buco Maxilofac.**, Camaragibe v.9, n.1, p. 123 - 130, 2009.

DEMRI, B.; HAGE-ALI, M.; MORITZ, M.; MUSTER, D.; **Appl. Surf. Sci.** v.2, p.108, 1997.

DENIZOT, F. e LANG, R. Rapide colorimetric assay for cell growth and survival – modification, to the tetrazolium qye procedure giving improved sensitive and rehabilitee. **Journal of Immunological Methods**, v.89, p.271, 1986.

DIETER JR., G. E. **Mechanical metallurgy**. 2nd ed. Tokyo: Mc Graw-Hill, 1961. 774 p.

DINATO, J. C. e POLIDO, W. D., **Implantes osseointegrados: cirurgia e prótese**,1ed., São Paulo, Artes Médicas, 2001.

DINCA, V. C.; SOARE, S.; BARBALAT, A.; DINU, C. Z.; MOLDOVAN, A.; STOICA, I.; VASSU, T.; PURISSE, A.; SCARISOAREANU, N.; BIRJEGA, R.; CRACIUN, V.; DESTEFANO, V. F.; DINESCU, M. Nickel–Titanium alloy: Cytotoxicity evaluation on microorganism culture. **Applied Surface Science**, v. 252, n. 13, p. 8-25, 2006.

DISCOVERY Plasma: Manual de Instalação, Operação e Manutenção. EDG Equipamentos e Controles Ltda. 2005.

DUCOS, P. C. D. Transformações de fase em ligas de Níquel-Titânio para ortodontia. **Dissertação de Mestrado**. 2006. 74f.

DUERIG, T.M.; PELTON, A. e STÖCKEL, D. 1999. An Overview of Nitinol Medical Applications. **Materials Science and Engineering**, A273-275:149-160. Acessado em: 10/04/2011, disponível em: <http://www.nitinol.com/media/reference-library/029.pdf>.

ELLINGSEN, J. E. et al. **Bio-implant interface**. New York: CRC, 2003. p. 380.

ELLIOT, J. C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates**. New York: Elsevier, 1984. p. 389.

ESCADA, A. L. A. Preparação de superfície bioativa na liga Ti-7,5Mo para uso em odontologia. **Dissertação de Mestrado**. 2009. 105f.

EXNER, H. E. Scanning electron microscopy. In: ASM Handbook Committee. **Metallography and microstructures**. Metals Park, 1985. p. 89-102. (ASM Handbook, v. 9).

FAEDA R S, TAVARES H S, SARTORI R, GUASTALDI A C, MARCANTONIO JR. E. Evaluation of titanium implants with surface modification by LASER beam. Biomechanical study in rabbit tibias **Braz. oral res**. v.23 n.2, 2009.

FENG, Q.L., WANG, H., CUI, F.Z. *et al.*, Controlled crystal growth of calcium phosphate on titanium surface by NaOH-treatment, **Journal of Crystal Growth**, v.200,n. 3-4, p. 550-557, 1999.

FERREIRA, J. P. M. Tensão Superficial sua Natureza e Efeitos. **Química-Boletim da SPQ**, v.93, p. 43-48, 2004.

FIGUEIREDO, A. M. G. Caracterização da fadiga mecânica de baixo ciclo em ligas superelásticas de NiTi. 2006. 235p. **Tese de Doutorado**. Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais.

FOOK, M. V. L. Desenvolvimento da técnica de deposição de hidroxiapatita na superfície de polietileno de ultra-peso molecular para aplicação como biomaterial. 2005, 128 f. **Tese (Doutorado em Química)**. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

FREIHERR, G. Shape memory alloys offer untapped potential. **Medical Device & Diagnostic Industry Magazine**, Mar. 1998. Disponível em: www.devicelink.com/mddi/archive

FUGAZZA D., Shape memory alloy devices in earthquake engineering: mechanical properties, constitutive modeling and numerical simulations. Pavia: Istituto Universitario di Studi Superiori di Pavia, 2003, 141 p. (**Dissertação, Mestrado** em Engenharia de Terremoto).

FURUSAWA T. e MIZUNUMA K: Osteoconductive properties and efficacy of resorbable bioactive glass as a bone-grafting material. **Implant Dent.**, v.6, p. 93-101, 1997.;

GAGGL, A.; SCHULTES, G.; MÜLLER, W. D.; KÄRCHER, H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces: a comparative study. **Biomaterials**, v. 21, n. 10, p. 1067-1073, 2000.

GARCIA R. e DOREMUS RH: Electron microscopy of the bone-hydroxylapatite interface from a human dental implant. **J. Mater. Sci.: Mater. Med.**, v.3, p.154-156, 1992.

GEETHA, M.; SINGH, A. K.; ASOKAMANI, R.; GOGIA, A. K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. **Progress in materials science**, v.54, p. 397-425, 2009.

GODLEY, R.; STAROSVETSKY, D. e GOTMAN, I. Bonelike apatite formation niobium metal treated in aqueous NaOH. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.15, n.10, p.1073-1077, 2004.

GREEN, D. J. **An introduction to the mechanical properties of ceramics**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.

GROSS, K. A.; BEMDT, C.C.; GOLDSCHLAG, D.D.; LACONO, V.J. In vitro changes of hydroxyapatite coatings. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants** ., v.12, p.589-597, 1997.

GU, Y.W.; TAY, B.Y.; LIMB, C.S.; YONG, M. S. Characterization of bioactive surface oxidation layer on NiTi alloy. **Applied Surface Science**. v.252, p. 2038–2049, 2005.

GUASTALDI, A. C., Engenharia de superfície do titânio para aplicações biomédicas. **Metalurgia e Materiais**, v. 59, n. 535, p. 442-444, 2003.

GURGEL, J. A.; RAMOS, A. L. e KERR, S.D. Fios Ortodônticos. **Revista Dental Press Ortod Ortop Facial**. v.6, n.4, p.103-114, 2001.

GYÖRGY, E., MIHALESCU, I.N., SERRA, P., PEREZ DEL PINO, A., MORENZA, J.L., Single pulse Nd:YAG laser irradiation of titanium: influence of laser intensity on surface morphology. **Surface and Coatings Technology**, v.154, n. 1, pp.63-67, 2002.

GYÖRGY, E., PÉREZ DEL PINO, A., SERRA, P., MORENZA, J. L., Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG laser irradiation”, **Applied Surface Science**, v. 222, n. 1-4, pp. 415-422, 2004.

GYÖRGY, E.; MIHAILESCU, I. N.; SERRA, P.; PÉREZ DEL PINO, A.; MORENZA, J. L. Single Pulse Nd:YAG LASER irradiation of titanium: influence of LASER intensity on surface morphology. **Surface and Coating Technology**., v.154, p.63-67, 2002.

GYÖRGY, E. PÉREZ DEL PINO, A.; SERRA, P.; MORENZA, J. L. Growth of surface structures on titanium through pulsed Nd:YAG LASER irradiation in vacuum. **Appl. Surface Sci.** 2002

GYÖRGY, E.; PÉREZ DEL PINO, A.; SERRA, P.; MORENZA, J. L. Chemical composition of domeshaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG LASER irradiation. **Appl. Surface Sci.**, v.1, n.8, 2003.

HAO, L.; LAWRENCE, J. Effects of CO₂ laser irradiation on the wettability and human skin fibroblast cell response of magnesia partially stabilized zirconia. **Materials Science and Engineering C**, v. 23, p. 627–639, 2003.

HAZAN, R.; BRENER, R. e ORON, U. Bone growth to metal implants is regulated by their surface chemical properties. **Biomaterials**., v.14, p. 570-574, 1993.

HELMUS, M.N. e TWEDEN K. “Materials Selection”, In: **Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering**, Part A, v.1, p.27-59, 1995

HENCH, L. L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v.19, p.1419-1423, 1998.

HENCH, L. L. e WILSON, J. Bioactive Glasses. **An Introduction to Bioceramics**, World Scientific, Singapore, Cap.3, p.41-62, 1993.

HERMAN H. Plasma sprays coatings, **Scientific American** 1998; p.78-83.

HERRERA, A. A.; **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2006.

HONG L, KLEIN CPAT e GROOT K: Histological observations of coated and prestressed dental implants under flexible or rigid loading conditions. **Biomaterials.**, v.15, p.390-395,1994.

HSU, S.H., LIU, B.S., LIN, W.H., CHIANG, H.C., HUANG, S.C, et al. Characterization and biocompatibility of a titanium dental implant with a laser irradiated and dual-acid etched surface. **Biomed Mater Eng.**, v.17, p.53-68, 2007.

IJIMA, M. et al. Effects of Ca addition on the formation of octacalcium phosphate and apatite in solution at pH 7.4 and at 37°C. **J. Cryst. Growth**, n. 193, p. 182-188, 1998.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION ISO 10993-5:2009. **Biological evaluation of medical devices – Part 5: Testes for in vitro cytotoxicity.**

JIANG, Z.Z., G.E, D.T., SHI, W. et al. Apatite/polypyrrole composite prepared by a biomimetic process, **Synthetic Metals**, v. 151, n. 2, p. 152-155. 2005.

JOHN, K.R.S; ZARDIACKAS, L.D.; BLACK, R.J.; ARMSTRONG, R. Response of canine bone to a synthetic bone graft material. **Clin. Mater.**, v.12, p. 49-55. 1993.

JOINT COMMITTEE FOR POWDER DIFFRACTION STUDIES – Diffraction Data Base. Newton Square: International for Diffraction Data, 2003. 1 CD-ROM.

JONASOVA, L., MULLER, F.A., HELEBRANT, A. et al., Biomimetic apatite formation on chemically treated titanium. **Biomaterials**, v. 25, n. 7-8, p. 1187- 1194, 2004.

JUN, Y.K., KIM, W.H., KWEON, O.K. *et al.* The fabrication and biochemical evaluation of alumina reinforced calcium phosphate porous implants. **Biomaterials**, v. 24, n. 21, p. 3731-3739. 2003.

KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. Tokio: Elsevier, 1989. 289 p.

KAY, J. F. Calcium phosphate coatings for dental implants. **Dental Clin. North Am.**, v. 36, n. 1, p. 01-25, Jan. 1992.

KASUGA, T., KONDO, H., NOGAMI, M. Apatite formation on TiO₂ in simulated body fluid, **Journal of Crystal Growth**, v. 235, n. 1-4, p. 235-240, 2002.

KAWACHI E Y, BERTRAN C A, DOS REIS R R. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova.**, v.23, n.4, p.518-522, 2000.

KENDAL, H. K.; MARSHALL, R. L.; BARTOLD, P. M. Nitric oxide and tissue destruction. **Oral Dis**, v.7, n.1, p.2-10, 2001.

KENNEDY, D. V. et al. Combinatorial screen of the effect of surface energy of fibronectin-mediated osteoblast adhesion spreading and proliferation. **Biomaterials.**, v.27, n.15, p.3817-3824, 2006.

- KENT, J.N.; FINGER, M. e LARSEN, H. Biointegrated hydroxylapatite-coated dental implants: 5-year clinical observations. **J. Amer. Dent. Assoc.** v.,121, p.138-144.1990.
- KILPADI, D. V.; LEMONS, J. E. Surface energy characterization of unalloyed titanium implants. **J. Biomed. Mat. Res.** v.28, p.1419-1425,1994.
- KILPADI, D. V.; WEIMER, J. J.; LEMONS, J. E. Effect of passivation and dry heat sterilization on surface energy and topography of unalloyed titanium implants. **Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects**, v. 135, p. 89-101, 1998.
- KIM, H. M. et al. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.32, n.3, p.409-417, 1996.
- KLOKKEVOLD, P. R.; NISHIMURA, R. D.; ADACHI, M.; CAPUTO, A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface: a torque removal study in the rabbit. **Clinical Oral Implants Research**, v. 8, n. 6, p. 442-447, 1997.
- KNEWITZ, F. L. Estudo comparativo de amostras de NiTi produzidas por metalurgia do pó. **Estudos tecnológicos**. v. 4, n.1, p.44-54, 2008.
- KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. **Acta Mater.**, v.46, 7, p. 2519-2527, 1998.
- KOKUBO, T. et al. In vivo apatite formation induced on titanium metal and its alloys by chemical treatment. **Bioceramics**. Suíça. In: GIOVANNINI S., MORONI A., editors, v.13,p.3-6, 2000. (a)
- KOKUBO, T., KIM, H.M., KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterial**, Bruxelas, v.24, n.13, p. 2161-2175, 2003.
- KOKUBO, T., MATSUSHITA, T., TAKADAMA, H. Titanio-based bioactive materials. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, n. 2-3, p. 1553-1558. 2007.
- KOTENKO M. V., KOPYSSOVA V. A., RAZDORSKY V. V., KISHKAREV V. V. Shape Memory Dental Quadriradical Implants for Single-Stage Immediate Implantation and Undelayed Dental Prosthetics. **Biomedical Engineering**. v.42, n.3, p.156-158, 2008.
- KRÔNCKE, K. D.; FEHSEL, K.; KOLD-BACHOFEN, V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection – how, why, when, and where? **On Biol. Chem.**, v.1, p.107-120, 1997.
- KRISHNAN, R.V.; DELAEY, L.; TAS, H.; WARLIMONT, H. Review: Thermoplasticity, pseudoelasticity and the memory effects associated with martensitic transformations. Part 2: The macroscopic mechanical behavior, **Journal of Materials Science** v.9,p.1536-1544, 1974.
- LAGOUDAS, D.; REDINIOTIS, O.; KHAN, M. Applications of shape memory alloys to Bioengineering and Biomedical Technology. In: **4th International Workshop on Scattering Theory and Biomedical Applications**, p. 195-207,1999.
- LAGOUDAS D.C., RAVI-CHANDAR K., SARA K., POPOV P. Dynamic loading of polycrystalline shape memory alloy rods. **Mechanics of Materials**, n. 35, p.689-716, 2003.
- LAVISSE L, GREVEY D, LANGLADE C, VANNES B. The early stage of the LASER-induced oxidation of titanium substrates. **Appl. Surface Sci.**,v.186, p.150-155, 2002;

LE GUE´HENNEC L, SOUEIDAN A, LAYROLLE P, AMOURIQ Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dent Mater.**, v. 23, p.844-54, 2007.

LEE, B.H., KIM, Y.D., LEE, K.H. XPS Study of bioactive graded layer in Ti-In-Nb-Ta alloy prepared by alkali and heat treatments, **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2257-2266. 2003.

LEE, F., FENG, Q.L., CUI, F.Z. *et al.* A simple biomimetic method for calcium phosphate coating, **Surface & Coatings Technology**, v. 154, n. 1, p. 88-93. 2002.

LEGEROS, R. Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine. **Monographs in Oral Science**, S Karger Pub. 1991.

LEHMAN L. F. C. Análise numérica da resposta de implantes odontológicos com abutment de liga superelástica. 2006. 69 f. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal de Minas Gerais.

LI, F., FENG, Q.L., CUI, F.Z. *et al.* 2002, "A simple biomimetic method for calcium phosphate coating", **Surface & Coatings Technology**, v. 154, n. 1, p. 88-93.

LIM Y J, OSHIDA Y, ANDRES C J, BARCO M T. Surface Characterizations of Variously Treated Titanium Materials. **J. Oral Maxillofac. Implants.**, v.16, n.3, 2001.

LIMA, L.H.M.A. Estudo da influência do plasma de Ar e H₂ nas propriedades de materiais cerâmicos para aplicação odontológica. 2011. 163 f. **Tese (Doutorado)** – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande.

LINKOW, L.I. Implant Dentistry - yesterday, today and tomorrow. **Proceedings of the 15th Annual International Symposium of the American Academy of Implant Prosthodontics**, Atlanta, 1996.

LIU, F. *et al.* Biomimetic deposition of apatite coatings on micro-arc oxidation treated biomedical NiTi alloy. **Surface & Coating Technology**. v. 204. p. 3294-3299, 2010.

LIU, Y.; XIE, Z.; HUMBEECK, J.V.; DELAEY, L. Asymmetry of stress-strain curves under tension and compression for NiTi shape memory alloys, **Acta Materialia** v.46,n.12, p.4325-4338, 1998.

LIU, X.Y., CHU, P.K., DING, C.X. "Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications", **Materials Science & Engineering R-Reports**, v. 47, n. 3-4, p. 49-121. 2004.

LU, X. L., CAI, W., ZHAO, L. C., Damping behavior of a Ti44Ni47Nb9 shape memory alloy. **Journal of Materials Science Letters**, v.22, p. 1243-1245, 2003.

LU, X. e LENG, Y. Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid. **Biomaterials**, v. 26, n. 10, p. 1097-1108. 2005.

MALIK MA, PULEO DA, BIZIOS R, and DOREMUS RH: Osteoblasts on hydroxyapatite, alumina and bone surfaces in vitro: Morphology during the first 2h of attachment. **Biomaterials.**, v.13, p. 123-128, 1992.

MARQUES, P. A. A. P. Reações de superfície de cerâmicos de fosfato de cálcio em plasma simulado. **Tese de Doutorado**. Universidade de Aveiro, Portugal, 2003.

MARTIN JY, SCHWARTZ Z, HUMMERT TW, et al.: Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast like cells (MG63) **J. Biomed. Mat. Res.**, v.29, p.389-401,1995.

McKELVEY, A.L.e RITCHIE, R.O. Fatigue-crack growth in the superelastic endovascular stent material NiTi. In: **MRS Fall Meeting**, 1998, Boston. Berkeley, 1998. Disponível em: www.lbl.gov/Ritchie/Programs/NITI/MRSf98

McNANEY, J.M.; IMBENI, V.; JUNG, Y.; PAPADOPOULOS, P.; RITCHIE, R.O. An experimental study of the superelastic effect in a shape-memory Nitinol alloy under biaxial loading, **Mechanics of Materials**, v.35, p.969-986, 2003.

McNAUGHT, A.D., WILKINSON, A. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, online version. 2^o Edition 1997. Disponível em: [HTTP://iupac.org/goldbook/C01290.pdf](http://iupac.org/goldbook/C01290.pdf).

MEIRELLES L. Nanoestruturas e a resposta óssea. Uma alternativa segura para a reabilitação com implantes osseointegráveis? **Implant News**. v.7, n.2, 2010.

MENARD, K.P., Dynamic Mechanical Analysis - A practical introduction, CRC Press, Florida, USA, 1999.

MERTMANN, M. NiTi: the material for implants and instruments. Memory-Metalle, Weil am Rhein, Germany, 2000, **Technology & Services**, Disponível em: www.memorymetalle.com.de

MICHAELS, C.M.; KELLER, J.C.; STANFORD, C.M.; SOLURSH, M. In vitro cell Attachment of osteoblast-like cells to titanium. **J. Dent. Res.**, v.68, p.276,1989.

MILLER, J. C. **Laser ablation: principles and applications**. Berlin: Springer-Verlag, 1994. (Spring Series in Materials Science, v. 28).

MORATO, A.; NARVAÉZ, I., TORIBIO, C. **Ciencias de la salud el futuro de los biomateriales: tendencias tecnológicas a medio y largo plazo**. Madrid: Cyan, Proyectos e Producciones Editoriales, 2004, 43p.

MORITZ N, JOKINEN M, PELTOLA T, AREVA S, YLI-URPO A. Local induction of calcium phosphate formation on TiO₂ coating on titanium via surface treatment with a CO₂ LASER. **Journal Biomedical Materials Research.**, v.1, n.65, p. 9, 2003.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J.Immunol. Methods.**, 1983,v.65, p.55-63.

MULLER, L., MULLER, F.A. Preparation of SBF with different HCO₃⁻ content and its influence on the composition of biomimetic apatites, **Acta Biomaterialia**, v. 2, n. 2, p. 181-189. 2006.

NÁNAI, L.; VAJTAI, R.; GEORGE, T. F. Laser-induced oxidation of metals: state of the art. **Thin Solid Films**, v. 298, p. 160-164, 1997.

NISHIO, K., YAMAGUCHI, T., ERA, H., Surface modification of titanium using laser beam. **Mater. Trans.**, v. 45 n. 5, pp.1613-1619, 2004.

OHASHI, M.; IWASE, M.; NAGUMO, M. Elevated production of salivary nitric oxide in oral mucosal diseases. **J. Oral Pathol.**, v.7, n.4, p.652-658, 2001.

OHGUSHI H, OKUMURA M, YOSHIKAWA T, et al.: Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. **J. Biomed. Mat. Res.**, v.26, p.885-895, 1992.

OKAZAKI, *et al.* Corrosion resistance, mechanical properties, corrosion fatigue strength and cytocompatibility of new Ti alloys without Al and V. **Biomaterials.**, v. 19, n.54, p. 1197-1215, 1998.

OLIVEIRA G. C. M. Caracterização microestrutural e mecânica da liga NiTi com EMF produzida em forno de indução a vácuo. 2010. 83f. **Dissertação de Mestrado**. São José dos Campos.

ONG JL, CARNES DL, CARDENAS HL, CAVIN R: Surface roughness of titanium on bone morphogenetic protein-2 treated osteoblast cells in vitro. **Implant Dent.** v.6, p.19-24, 1997.

OTSUKA, K. e REN, X., Physical metallurgy of Ti-Ni-based shape memory alloys, **Progress in Materials Science.**, v. 50, p.511-678, 2005.

OTSUKA, K. e REN, X., Recent developments in the research of shape memory alloys, **Intermetallics.**, v.7, p.511-528, 1999.

OTSUKA, K. e WAYMAN, C.M., “**Shape Memory Materials**”, Edited by K. Otsuka and C. M. Wayman, Cambridge University Press, Cambridge, England, 1998.

PARK, E.; CONDRATE; R. A.; **Mater. Lett.** v.40, p. 228, 1999.

PAVEK V, NOVAK Z, STRNAD Z, KUDRNOVA D, NAVRATILOVA B: Clinical application of bioactive glass-ceramic BAS-0 for filling cyst cavities in stomatology. **Biomaterials.**, v.15, p.353-358, 1994.

PELTON, A.R.; DICELLO, J.; MIYAZAKI, S. Optimization of processing and properties of medical grade Nitinol wire. **Min Invas & Allied Technol**, v.9, n.1, p.107-118, 2000.

PÉREZ DEL PINO A, SERRA P, MORENZA J L. Oxidation of titanium through Nd:YAG LASER irradiation. **Appl. Surface Sci.**, v.887, p.197-198, 2002.

PETÖ G, KARACS A, PÁSZTI Z, GUCZI L, DIVINYI T, JOÓB A. Surface treatment of screw shaped titanium dental implants by high intensity LASER pulses. **Applied Surface Science.**, v.186, p.7-13, 2002.

PHAM, M. T.; MAITZ, M. F.; MATZ, W.; REUTHER, H.; RICHTER, H.; STEINER, G.; **Thin Solid Films**, v.1, p. 379. 2000.

PULEO, D. A. e NANJI, A. Understanding and controlling the bone-implant interface. **Biomaterials**, v. 20, n. 23-24, p. 2311-2321, 1999.

QIU D. et al. Preparation and characterization of hydroxyapatite/titania composite coating on NiTi alloy by electrochemical deposition. **Surface & Coating Technology.** v.205. p. 3280-3284, 2011.

RAMIRES PA, GIUFFRIDA A e MILELLA E. Three-dimensional reconstruction of confocal LASER microscopy images to study the behavior of osteoblastic cell grown on biomaterials. **Biomaterials.**, v.23, p. 397-406, 2002.

RATNER, B. D. A history of Biomaterials. In: Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., Lemos J. E. (Eds), **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**, 2 ed., 2004.

RAVAGLIOLI A. e KRAJEWSKI A: **Bioceramics: materials, properties and applications**. London: Chapman & Hall, 1992.

REED-HILL, R.E. e ABBASCHIAN, R. **Physical Metallurgy Principles**, 3. ed., PWS Publishing Company, 1994, 926p.

REIS, W. P. Caracterização de ligas de NiTi para ortodontia. 2001. 146f. **Dissertação de Mestrado**. Instituto Militar de Engenharia do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

RESENDE, C. X. Estudo teórico-experimental de duas soluções para testes de bioatividade e revestimento de metais. **Dissertação de Mestrado**. 2007. 82p. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

RICH, A. e HARRIS, A.K. Anomalous preferences of cultured macrophages for hydrophobic and roughened substrata. **J. Cell. Sci.**, v.50, p.1-7, 1981.

RIGO E.C.S *et al.* Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 15, n. 1-2, p. 21-29, 1999.

ROGERO, S. O. et al. Teste in vitro de citotoxicidade: Estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v.6, n.3, p.317-320, 2003.

RYHÄNEN, J.; NIEMI, E. e SERLO, W. Biocompatibility of nickel-titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures. **J. Biomed Mater Res.**,v.35, p.451-7, 1999.

RYHÄNEN, J. 1999. Biocompatibility evaluation of nickel-titanium shape memory metal alloy. Finlândia. **Dissertação de mestrado**. University of Oulu. Acessado em: 10/04/2011, disponível em: <http://herkules oulu.fi>.

RUPP F, SCHEIDELER L, REHBEIN D, AXMANN D, GEIS-GERSTORFER J. Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. **Biomaterials** Volume 25, Issues 7-8, March-April 2004, Pages 1429-1438.

SALINAS, A. J. e VALLET-REGÍ, M. Evolution of ceramics with medical applications. **Z. Anorg. Chem.**, p. 1762-1773, 2007.

SANTOS, E.M.B.; DAGUANO, J.K.M.F. e RIBEIRO, S. Citotoxicidade da zirconia estabilizada com ítria obtida via géis de amido de milho. **51º Congresso Brasileiro de Cerâmicas**, 2007.

SANTOS, C. M. L. Ligas Ni-Ti ricas em Ni: Tratamento térmico, termomecânico e efeito de micromemória de forma. Tese de Doutorado. 2006. 156p. Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro.

SANTOS, R. B. Microfuração com laser pulsado. **Dissertação de Mestrado**. 2001. Instituto Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SCHMALZ, G. e ARENHOLT-BINDSLEV, D. **Biocompatibility of Dental Materials**. Springer, 2009

SCHWARTZ, Z. e BOYAN, B.D. Underlying mechanisms at the bone-biomaterial interface. **J. Cell Biochem.**, v.56, n.3, p.340-347, 1994.

SHAW, J.A . e KYRIAKIDES, S; Thermomechanical aspects of NiTi. **J. Mech. Phys. Solids**; v.43, n.8, p.1243-1281, 1995.

SILVA N. J. Estudo do comportamento termomecânico de uma liga NiTi com memória de forma usando análise dinâmico-mecânica (DMA). **Dissertação de Mestrado**, 2009,113f. Universidade Federal de Campina Grande.

SISTI KE, GARCIA JÚNIOR IR, GUASTALDI AC, ANTONIOLLI ACMB, DE ROSSI R, BROCHADO NETO AL. Analyze titanium surface irradiated with LASER, with and without deposited of durapatite **Acta Cir. Bras.**, v.21,(supl.4),p.57-62. 2006.

SISTI, E. K. Estudo da topografia e da osseointegração de implante de titânio sob ação do laser, com ou sem deposição de hidroxiapatita, em coelhos. **Tese de Doutorado**. 2011. 154 f. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

SISTI, K. H. Análise da superfície de titânio sob efeito do laser com e sem deposição de hidroxiapatita. **Dissertação de Mestrado**. 2004. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

SOARES, G. A. S., **Biomateriais: classificação, seleção e avaliação**, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2002

SOUZA-FILHO B. S., ARAÚJO C.J., GUASTALDI A.C., CARVALHO L.H. Caracterização de materiais com efeito memória de forma a base de Ni-Ti tratadas a laser para aplicação médica. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.6, n.1, p.59-76, 2011..

SPECK, K. e FRANKER, A. Anodic polarization behavior of NiTi and Ti-6Al-4V in simulated physiological solutions. **J Dent Res**, v.59, p.1590, 1980.

SPIEKERMANN H. **Atlas colorido de odontologia** : Implantodontia. Porto Alegre: ed. Artmed, 2000.

STORZ O, GASTHUBER H. e WOYDT M. Tribological properties of thermalsprayed Magnéli-type coatings with different stoichiometries (Ti_nO_{2n-1}). **Surface & coatings technology.**, v. 140, p.76-81, 2001.

TAVARES AV: História da Implantologia. **Stoma.**, v.26, p.17-31, 1993.

TAVARES, H. S. Estudo in vitro da interação de titânio irradiado por feixe de laser Yb:YAG com e sem recobrimento de apatitas, empregando-se cultura de células estaminais humana. **Tese (doutorado)**, 2009, 57f. Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

THOMAS, K. A.; JAY, J. F.; COOK, S. D. The effect of surface macrotecture and hydroxylapatite coating on the mechanical strengths and histologic profiles of titanium implant materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 21, p.1395-1400, 1987.

THOMAS, K.A. e COOK, S.D. An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.19, n.8, p.875-901, 1985.

TOMÁS, H.M.P.G., Avaliação do comportamento à corrosão e da citocompatibilidade de uma liga ortopédica de Co-Cr-Mo, **Tese de doutoramento**, FCUL – Universidade de Lisboa, 1995.

UCHIDA, M. et al. Structural dependence of apatite formation on titânia gels in a simulated body fluid. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v.64, n.1, p.164-170, 2003.

ULLMANN, M. et al. Nanoparticle formation by laser ablation. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 4, n. 6, p. 499-509, 2002.

VALLET-REGI M. **Anales de química.**, v.93, n.6,1997.

VAN NOORT, R., Review: Titanium-the implant material of today, **J. Mat. Sci.**, v.22, p.:3801-3811,1987.

VALLET-REGI, M. Biomateriales para sustición y reparación de tejidos. **Revista Espanola de Cirugia Osteoarticular. Acta Científica y Tecnológica**, n. 8. Maio, 2004. Disponível em: <https://www.serina.es/empresas/aecientificos/documentos/Biomateriales.pdf>>. Acesso em: 29 maio 2011.

VANDEURZEN, U., VERELST, H., SNOEYS, R., DELAEY, L., Dynamic properties of high damping metals. **Journal de Physique.**, v..10, p. 1169-1174, 1981.

VASCONCELOS L, et al. Avaliação Clínica de implantes com diferentes superfícies, instalados em maxilas reconstruídas com enxerto ósseo. **Implant News.**, v.1, n.1, p.27-32, 2004.

VASCONCELOS M, AFONSO A, BRANCO R, CAVALHEIRO J: Diferentes mecanismos de reconstrução do tecido ósseo utilizando grânulos de hidroxiapatite. **Rev. Port, de Est. e Gr. Maxilofac.**, v.34, p.254-255, 1993.

VERCAIGNE, S. et al. Histomorphometrical and mechanical evaluation of titanium plasma-spray-coated implants placed in the cortical bone of goats. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Cleveland, v.41, n.1, p.41-48,1998.

VILLARINHO D. J., SCHAEFFER L., SAUERESSIG M. G., MACEDO B. R., BALDISSERA D., MACEDO NETO A. V. Liga com memória de forma: estudo preliminar do grampo de judet de nitinol e sua possível aplicação em tórax instável. **Rev. HCPA**, v.30, n.1, p.43-48, 2010.

VITRAL J.C.A., SILVA A.A., SOUZA M.A., FERREIRA A.P., VITRAL R.W.F. Avaliação da citotoxicidade de materiais odontológicos através do método MTT e produção de óxido nítrico: descrição de uma técnica. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.8, n.3, p.359-365, 2008.

WANG, C.X., WANG, M. e ZHOU, X. Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study. **Biomaterials**, v. 24, n. 18, pp. 3069-3077. 2003.

WANG, XUE et al. The study of cytotoxicity of the porous NiTi alloy dental implant materials. **Chinese Journal of Oral Science Implantology**. v.4, 2007.

WATAHA, J. C. Principles of biocompatibility of dental practioners. **J. Prosthetic Dent Mater.** , v.86, n.2, p.203-209, 2001.

WAYMAN, C. M.; DUERIG, T.W. Na introduction to martensite and shape memory alloy. In: DUERIG, T.W.; MELTON, K. N.; STÖCKEL, D.; WAYMAN, C.M. Engineering aspects of shape memory alloys. **Butterworth-Heinemann**, p.3-20, 1990.

WEI, M. et al. Optimizing the bioactivity of alkaline-treated titanium alloy. **Material Science and Engineering C**, v.20, n.1-2, p.125-134, 2002.

WEINBERG, J. B. et al. Human mononuclear phagocyte inducible nitric oxide synthesis (iNOS): Analysis of iNOS mRNA, iNOS protein biopterin and nitric oxide production by blood monocytes and peritoneal macrophages. **Blood**, v.86, n.3, p.1184-1195, 1995.

WIDU F., DRESCHER D., JUNKER R., BOURAUUEL C., **J. Mater. Sci. Mater. Med.**,v.10, 1999.

WIKIPÉDIA. Dureza Vickers. **Wikipédia**, 2001. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Dureza_Vickers. Acessado em: 23/06/2011.

WILLIAMS, D F. **Definitions in biomaterials**, Proceeding of a consensus conference of the European society for biomaterial, Chester, England, march 3-5. 1986. Ed. Elsevier, 1987.

WILLIAMS, D.F. e WILLIAMS, R.L. Degradative effects of the biological environment on metals and ceramics. In: RATNER BD, HOFFMAN AS, SCHOEN FJ e LEMONS JE (ed) **Biomaterials science; an introduction to materials in medicine**, Volume 1. Academic Press, San Diego, p 260-7, 1996.

WILLIAMS, D. F. A model for biocompatibility and its evaluation. **J. Biomed. Eng.**, v.11, p.185. 1989;

WILLIAMS, D. F. **Concise encyclopedia of medical and dental materials**. Oxford: Pergamum Press, 1991.

WILSON J, **Annals de Química.**, v. 93, n.15,1997.

WILSON, A. P. Cytotoxicity and viability assays. In: JRM Masters, **Animal Cell Culture**, 3rd Ed, Oxford University, Oxford, p.175-219, 2000.

XUE, W. et al. In vivo evaluation of plasma-sprayed titanium coating after alkaline modification. **Biomaterial**. Bruxelas, v.26, n.16, p.3029-3037, 2005.

YAO, D.; VLESSIDIS, A. G. e EVMIRIDIS, N.P. Determination of nitric oxide in biological samples. **Microchim Acta**, v.147, p.1-20, 2004.

YOKOYAMA K, ICHIKAWA T, MURAKAMI H, MIYAMOTOY, ASAOKA K. Fracture mechanisms of retrieved titanium screw thread in dental implant. **Biomaterials**. 2002;23:2459-65.

ZHANG, L. J. et al. Biomimetic helical rosette nanotubes and nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium for improving orthopedic implants. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, n. 3, p. 323-333, 2008.

ZHOU, J. G.; KOULAS, S. e CHONG, P.L.G. Shape memory alloy activated high pressure optical cell for biophysical studies. **Scientific Instruments**, v.71, n.11,p.4249-56, 2000.