

BIOCOMPATIBILITATEA TITANULUI SINTERIZAT TRATAT ÎN MEDIU ACID ȘI ALCALIN

ADRIAN TODOR, DAN LUCACIU

Clinica de Ortopedie "Alexandru Rădulescu", UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Rezumat

Introducere. Scopul cercetării este de a testa biocompatibilitatea unor implanturi de titan poros, tratate în mediu acid și alcalin, raportate la implanturi de titan netratat cu proprietăți binecunoscute și biocompatibilitate excelentă.

Material și metodă. Am utilizat compacte de titan poros obținute prin sinterizare, la care au fost aplicate două tipuri de tratamente de suprafață, în mediu acid și în mediu alcalin. Acestea au fost implantate la șobolani adulți rasa Wistar subcutanat și intramuscular. După 21 de zile am efectuat analiza macro- și microscopică locală.

Rezultate. Analiza macro- și microscopică realizată la 21 de zile după implantare la animale de experiență nu evidențiază modificări ale biocompatibilității acestor implanturi, comparate cu cele de titan fără tratament de suprafață.

Concluzii. Pe lângă calitățile de material bioinert și biocompatibil, titanul sinterizat realizează o interfață fermă cu țesutul adiacent, care tinde să-l încorporeze, iar tratamentul în mediu acid și alcalin nu are un efect negativ asupra biocompatibilității.

Cuvinte cheie: titan sinterizat, tratament de suprafață, biocompatibilitate.

BIOCOMPATIBILITY OF ACID AND ALKALINE TREATED TITANIUM SINTERED IMPLANTS

Abstract

Introduction. The aim of the study is to test the biocompatibility of porous titanium implants with acid and alkaline treatment compared with a batch of untreated titanium implants with well known properties and excellent biocompatibility.

Material and Method. We used sintered porous titanium implants that received two types of surface treatment, in acid and alkaline solutions. These were implanted subcutaneous and intramuscular in adult Wistar rats. After 21 days we performed local macro- and microscopic analyses.

Results. Macro- and microscopic analyses 21 days after implantation in laboratory animals revealed no biocompatibility change of these implants compared to untreated titanium ones.

Conclusions. Besides the qualities of being bioinert and biocompatible material, sintered titanium forms a tight interface with the adjacent tissue which tends to incorporate it and the acid and alkaline surface treatment doesn't have a negative influence on its biocompatibility.

Keywords: sintered titanium, surface treatment, biocompatibility.

Introducere

Utilizarea cu succes a implanturilor metalice în chirurgia osteoarticulară datează din 1843, când Malgaigne descrie primul implant pentru osteosinteza rotulei. Inițial a

utilizat sârma de argint, ulterior a început să fixeze fracturile oblice ale tibiei cu șuruburi de oțel. Odată cu dezvoltarea ingineriei materialelor cu destinație medicală și, în special, osteoarticulară s-au descris și principalele caracteristici necesare unui astfel de implant: rezistență crescută la solicitările mecanice, să nu provoace reacții nocive din partea țesuturilor adiacente, să nu fie toxic pentru organism [1,2]. Astfel a început definirea biocompatibilității materialelor,

Articol intrat la redacție în data de: 26.01.2011

Primit sub formă revizuită în data de: 15.03.2011

Acceptat în data de: 15.03.2011

Adresa pentru corespondență: adi.todor@yahoo.com

cea mai acceptată definiție descrie biocompatibilitatea ca fiind capacitatea unui material de a funcționa în cadrul unei aplicații medicale specifice, producând o reacție corespunzătoare în organismul gazdă. Unul dintre cele mai biocompatibile materiale metalice, cu aplicații largi și în chirurgia osteoarticulară este titanul și aliajele cu bază titan [3,4]. Proprietatea care determină utilizarea medicală extensivă a titanului este excelența sa rezistență la coroziune [5].

În cadrul artroplastiei necimentate de șold, osteointegrarea componentelor este unul dintre cele mai importante procese, de acesta depinzând succesul intervenției. Acest fenomen, care se dorește a fi rapid, eficient și de durată, are loc la interfața os-implant. De aceea, în cazul biomaterialelor metalice pentru implanturi, se acordă un interes deosebit studiului suprafețelor, pentru a le îmbunătăți proprietățile. Utilizarea tehnicilor avansate de tratare a suprafețelor, cum ar fi implantarea ionică, difuzia la temperaturi joase și procesele de depunere mecanică, poate mări considerabil rezistența mecanică, duritatea și rezistența la coroziune a implanturilor metalice [2]. De asemenea, pentru endoproteze, scopul tratamentelor superficiale este de a le conferi bioactivitate, în sensul accelerării proceselor de osteointegrare. Scopul cercetării este de a testa biocompatibilitatea unor implanturi de titan, tratate în mediu acid și bazic, comparate cu implanturi de titan netratat, cu caracteristici bine cunoscute și biocompatibilitate excelentă.

Material și metodă

S-au utilizat două loturi de titan tratat și un lot control de titan netratat (fig. 1, 2, 3):

1. implant netratat – lot control – proba 1;
2. implant titan tratat în mediu acid – proba 2;
3. implant titan tratat în mediu alcalin – proba 3.

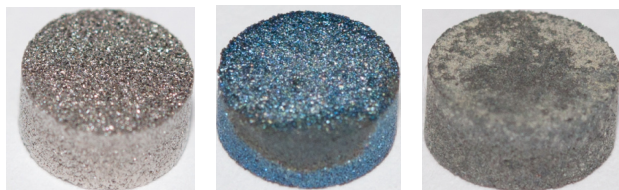


Fig. 1 (stânga). Implant titan netratat – control.

Fig. 2 (centru). Implant titan tratat în mediu acid.

Fig. 3 (dreapta). Implant titan tratat în mediu alcalin.

Probele au fost obținute prin sinterizarea pulberilor de titan. S-a optat pentru utilizarea unui sort de pulbere cu dimensiunea medie a particulelor cuprinsă între 50 și 150 μm . Pulberile de titan utilizate sunt elaborate prin procedeul hidurare/dehidurare.

Sinterizarea compactelor a fost efectuată în cuptor de sinterizare tip clopot sub vid înaintat, $10^{-4} \dots 10^{-5}$ Torr, la o temperatură de 1100°C , cu menținere 1 oră.

Dimensiunea medie a porilor a fost de 120 μm , cu aspect neregulat și vârfuri ascuțite. Se observă și faptul că

porii sunt interconectați, atât în regiunea suprafeței, cât și în profunzime, ceea ce facilitează dezvoltarea și ancorarea țesutului osos nou format (fig. 4).

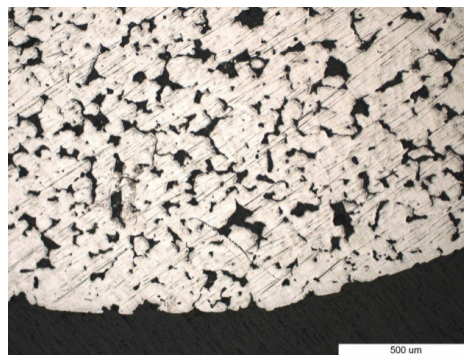


Fig. 4. Imagine de microscopie optică a probei presate la 400 MPa, sinterizată la 1100°C .

Tratamentul în mediu alcalin efectuat în cadrul cercetărilor a constat într-un tratament în soluție 5M NaOH, urmat de un tratament termic.

Probele din pulbere de titan au fost curățate într-o baie ultrasonică, mai întâi în apă distilată timp de 10 minute, apoi în alcool etilic 10 minute și, în final, din nou în apă distilată încă 10 minute. După curățare probele au fost uscate în etuvă la 70°C timp de 2 ore. Probele au fost apoi plasate într-un cuptor frontal cu rezistență electrică și menținute timp de 24 de ore la temperatura de 60°C . După tratament, probele au prezentat mici depuneri de culoare albă, neuniform distribuite pe întreaga suprafață. Pentru a înlătura excesul de NaOH de pe suprafață, probele au fost spălate în apă distilată în baia ultrasonică timp de 15 minute. După uscare ulterioară timp de 24 de ore în aer, s-au introdus probele într-un cuptor tip clopot pentru aplicarea unui tratament termic final. Tratamentul termic a fost realizat în vid preliminar, 20 mbar, la temperatura de 600°C timp de 1 oră.

Tratamentul în mediu acid, soluție 8,8 M H_2O_2 + 0,1 M HCl

Probele din pulbere de titan au fost inițial curățate într-o baie ultrasonică, mai întâi în apă distilată timp de 10 minute, apoi în alcool etilic 10 minute și în final în apă distilată din nou încă 10 minute. După curățare probele au fost uscate în etuvă la 70°C timp de 2 ore. Probele au fost apoi plasate într-un cuptor frontal cu rezistență electrică și menținute timp de 30 de minute la temperatura de 80°C . După tratament, probele au prezentat mici depuneri de culoare gălbuie, neuniform distribuite pe întreaga suprafață. Pentru a înlătura depunerile de HCl și H_2O_2 de pe suprafață, probele au fost spălate în apă distilată în baia ultrasonică timp de 15 minute. După uscare ulterioară timp de 24 de ore în aer, s-au introdus probele într-un cuptor tip clopot pentru aplicarea unui tratament termic final. Tratamentul termic a fost realizat într-un cuptor cu incintă închisă și vid slab, 20 mbar, la temperatura de 450°C timp de 1 oră.

Testarea biocompatibilității s-a efectuat prin implantarea materialelor în țesutul subcutanat și intramuscular, la 12 șobolani adulți rasa Wistar, masculi și femele, cu greutate de 180-200 g.

Pentru evaluare s-a folosit metoda conform normei ISO 100993 pentru testarea dispozitivelor medicale, partea a VI-a prin aprecierea efectului local.

Fiecare tip de probă s-a implantat la câte 4 șobolani, subcutanat în zona toracală dorsală și intramuscular în zona coapsei.

Animalele au fost supravegheate și examinate clinic timp de 21 zile, după care acestea au fost eutanasiate prin supradoză de ketamină. La examinarea locului de implantare s-a apreciat starea materialului și relația acestuia cu țesutul gazdă adiacent. Această examinare macroscopică s-a completat cu una histologică a țesutului din zona intimă de contact cu implantul. Prelucrarea histologică s-a efectuat prin tehnica clasică, fixarea țesuturilor în formol neutru 10%, includere la parafină, secționarea țesuturilor la 3-5 μm și colorarea lor prin metoda hematoxilină-eozină.

Preimplantare, materialele au fost sterilizate la etilen-oxid și menținute în condiții sterile până la momentul intervențiilor.

Pregătirea zonei de implantare s-a efectuat prin îndepărtarea pilozității și dezinfectarea tegumentului cu soluție de betadină, iar apoi s-a incizat tegumentul și s-au introdus implantele subcutanat și, respectiv, intramuscular (fig. 5 și 6).



Fig. 5. Implantarea subcutanată.



Fig. 6. Implantarea intramusculară.

Rezultate

Indiferent de tipul de material implantat, toate animalele au suportat fără complicații intervenția chirur-

gicală, iar pe toată durata observațiilor starea generală a fost normală. Plăgile operatorii, atât la nivelul zonei de implantare subcutanate, cât și la cea intramusculară au prezentat vindecare per primam. Nu s-au evidențiat cicatrici vicioase, fistule sau fenomene de respingere (fig. 7). Vindecarea plăgilor s-a realizat în primele 5 zile, zona nu a prezentat tumefiere sau tulburări de mobilitate. La palparea în profunzimea zonelor de implantare s-a putut percepe materialul sub forma unui corp puțin mobilizabil. Animalele de experiență, pe toată durata studiului au avut un comportament normal, și-au păstrat apetitul și funcțiile în limite fiziologice.



Fig. 7. Aspectul tegumentului la 21 zile de la implantare la nivelul coapsei. Se observă vindecare completă, fără complicații și refacerea pilozității locale.

Examinarea macroscopică, la 21 zile a evidențiat următoarele:

Lotul control, la care s-a implantat proba nr. 1, titan poros, netratat, introdus subcutan: la 21 zile post implantare materialul se află fixat în țesutul conjunctiv subdermic, aderent de stratul profund al dermului, fiind acoperit pe toate fețele printr-o capsulă conjunctivă subțire, transparentă, vascularizată (fig. 8).

Aceeași probă la nivelul de implantare intramuscular: la 21 zile materialul apare bine încorporat între fibrele musculare, acestea având aspect macroscopic normal, fără a putea face diferența între musculatura adiacentă implantului și cea de la distanță. Implantul apare încapsulat de o membrană fină, ușor vascularizată, transparentă, fără semne inflamatorii (fig. 9).

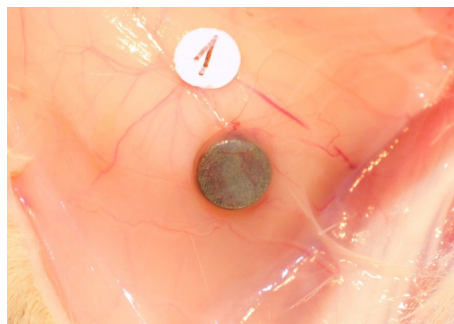


Fig. 8. Implant titan poros netratat încapsulat la nivel subcutanat, la 21 zile postimplantare.

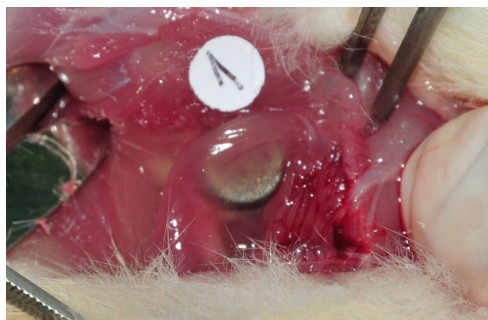


Fig. 9. Implant titan poros netratat încapsulat la nivel intramuscular, la 21 zile postimplantare.

Examenul histologic al țesutului de acoperire din zona de implantare subcutanată evidențiază o reacție conjunctivo-vasculară cu aspect bistratificat (fig. 10). La interiorul zonei de reacție se observă un prim strat format din țesut conjunctiv matur (stratul I), iar la exterior (stratul al II-lea) o zonă formată din țesut conjunctiv tânăr. Stratul I al reacției este compus din fibrocite, fibroblaste și fibre conjunctive dispuse pe mai multe straturi.

Stratul al II-lea prezintă un aspect lax, cu multe vase sanguine, în jurul cărora țesutul devine mai intens celularizat. Reacția conjunctivă laxă are grosimi diferite în funcție de zona de implantare. În țesutul muscular reacția conjunctivă laxă este subțire (fig. 11), în timp ce, în cazul implantului subcutanat, grosimea este mai mare, neputându-se face diferențierea între țesuturile hipodermului și structura țesutului conjunctiv de reacție.

Celulele inflamatorii sunt prezente în număr redus, populația dominantă numeric fiind cea a celulelor sistemului macrofagic-monocitar. Dispunerea preferențială a macrofagelor este în stratul II al reacției, preponderent în țesutul conjunctiv lax din jurul vaselor de sânge, fără a infiltra însă structurile vasculare. În stratul intern al reacției peri-implant nu se observă prezența semnificativă de celule inflamatorii. Vasele sanguine de la nivelul țesutului conjunctiv lax au dimensiuni variate, unele având aspect de vase mature, iar cele de calibru mai mic având caracteristicile vaselor nou formate.

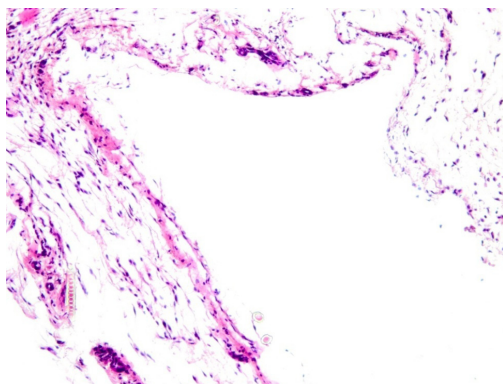


Fig. 10. Reacție conjunctivo-vasculară din jurul implantului de titan poros netrat, la nivel subcutanat, colorație HE x40 (proba nr. 1).

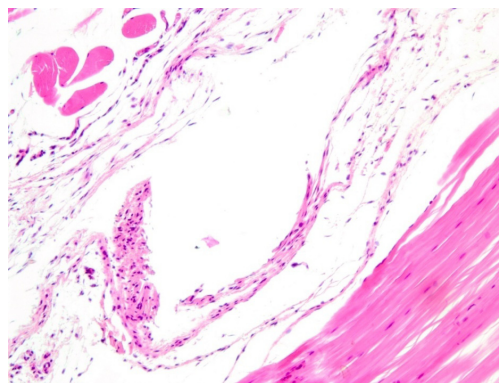


Fig. 11. Țesut conjunctiv lax subțire la nivelul zonei de implantare intramusculară, colorație HE x 100 (proba nr. 1).

Lotul la care s-a implantat proba nr. 2 – titan tratat în mediu acid, introdus subcutan: și în cazul acestei variante starea clinică a animalelor a fost normală pe toată perioada de urmărire. La examinare implantul era izolat printr-o capsulă conjunctivă, slab vascularizată, transparentă, cu caractere macroscopice similare celei descrise în cazul probei de titan poros netratat (fig. 12).

Aceeași probă la nivelul de implantare intramuscular: la examinare se observă, de asemenea, o reacție de încapsulare conjunctivă între fibrele musculare, acestea având aspect normal, fără semne inflamatorii (fig. 13).

Examinarea histologică a capsulei formate în jurul implantului, la nivel subcutanat, dovedește prezența țesutului conjunctiv matur (fig. 14), iar la nivel intramuscular prezența de țesut conjunctivo-vascular (fig. 15).

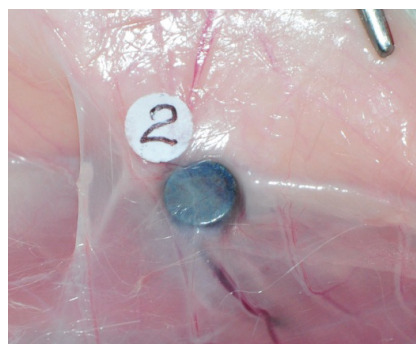


Fig. 12. Implant titan poros tratat în mediu acid încapsulat la nivel subcutanat la 21 zile postimplantare.

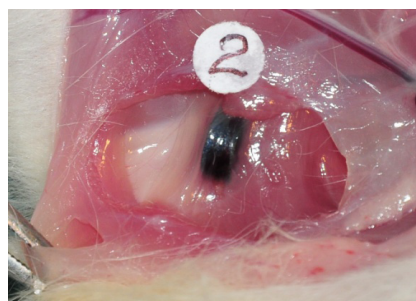


Fig. 13. Implant titan poros tratat în mediu acid încapsulat la nivel intramuscular la 21 zile postimplantare.

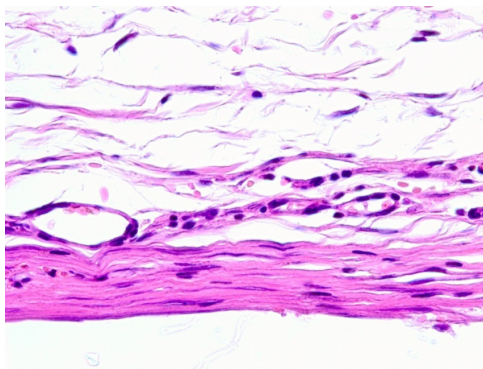


Fig. 14. Capsulă conjunctivă formată din țesut conjunctiv matur, colorație HE x 400 (proba nr. 2 subcutan).

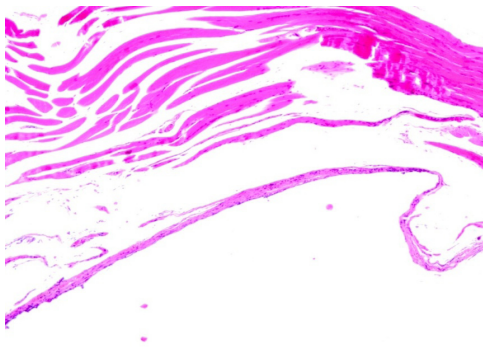


Fig. 15. Reacție conjunctivo-vasculară din jurul implantului, colorație HE x 40 (proba nr. 2 intramuscular).

La fel, și în cazul lotului la care s-a implantat proba numărul 3 de titan tratat în mediu bazic, atât examinarea macroscopică de la nivel subcutan și intramuscular, cât și examinarea histologică a evidențiat aceleași caractere de biotolerabilitate și integrare a implantului într-o capsulă conjunctivă (fig 16-19).

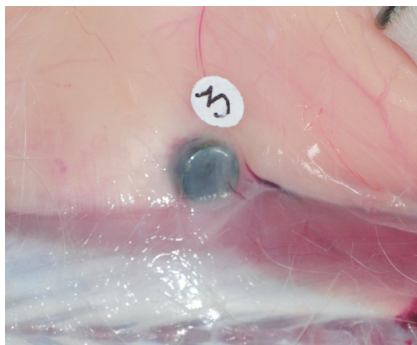


Fig. 16. Implant titan poros tratat în mediu bazic încapsulat la nivel subcutanat la 21 zile postimplantare.

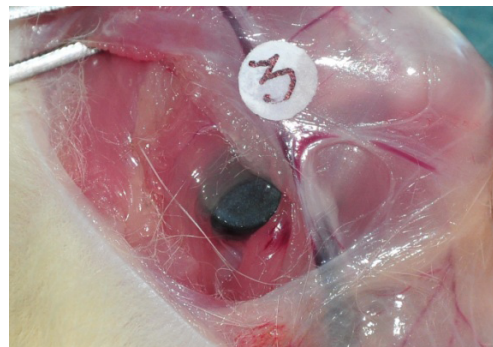


Fig. 17. Implant titan poros tratat în mediu bazic încapsulat la nivel intramuscular la 21 zile postimplantare.

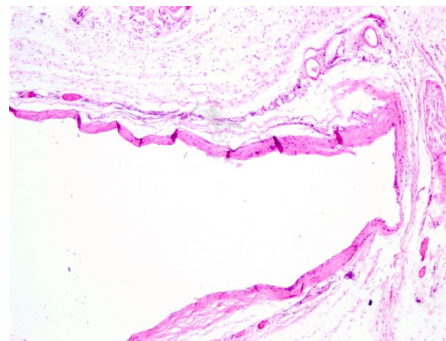


Fig. 18. Capsulă conjunctivă în jurul implantului, colorație HE x 100 (proba nr. 3 subcutan).

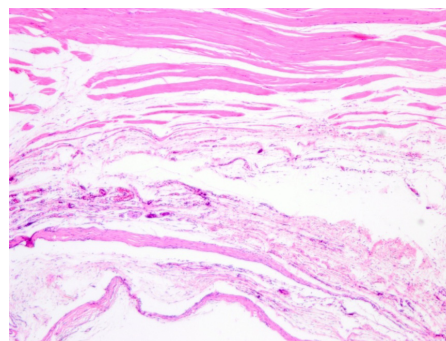


Fig. 19. Capsulă conjunctivă groasă cu aspect bistratificat, colorație HE x 40 (proba nr. 3 intramuscular).

Luând în considerare grosimea stratului conjunctiv fibros, modul de dispunere a straturilor reacției conjunctive, respectiv tipul de reacție inflamatorie și intensitatea acesteia, nu am constatat diferențe semnificative între cele trei loturi experimentale.

Discuții

Proprietățile de suprafață ale implanturilor au o deosebită importanță, deoarece interacțiunea dintre implant și țesut are loc la acest nivel, prin fenomene de suprafață [2].

Tratamentul de suprafață al implanturilor utilizate în chirurgia osteoarticulară endoprotetică are ca scop îmbunătățirea osteointegrării, prin obținerea unei suprafețe

bioactive, în sensul stimulării proceselor de adeziune-atașare-întindere-proliferare a osteoblastelor, prin efecte chimice [2]. Inițial, scopul era de a obține o bioinertie cât mai avansată, ulterior s-a trecut la producerea de straturi cu comportament bioactiv. Astfel de tratamente sunt și cele chimice în mediu alcalin, asigurând legarea grupului OH^- , respectiv în mediu acid, cu legarea grupului H_3O^+ . Testarea biocompatibilității unor implanturi la care s-au aplicat tratamente chimice de suprafață reprezintă o etapă importantă în cadrul procesului de evaluare a eficacității acestor tratamente.

Concluzii

Tratamentul în mediu acid și alcalin al probelor de titan sinterizat modifică suprafața probelor, atât din punct de vedere al porozității, cât și al compoziției chimice. Aceste modificări pot influența pozitiv osteointegrarea implantelor, prin accelerarea fenomenului de osteointegrare [6].

Rezultatele testelor de biocompatibilitate relevă faptul că, pe lângă calitățile de material bioinert și biocompatibil, titanul sinterizat realizează o interfață

fermă cu țesutul adiacent care tinde să-l încorporeze, iar tratamentul în mediu acid și alcalin nu are un efect negativ asupra biocompatibilității.

Bibliografie

1. Walenkamp GHIM. Biomaterials in surgery. Stuttgart: Georg Thieme; 1998;
2. Popa C, Căndea V, Șimon V, Lucaciu D, Rotaru O. Știința biomaterialelor: biomateriale metalice. Cluj Napoca, U.T. Press; 2008;
3. Hamada K, Kon M, Hanawa T, Yokoyama K, Miyamoto Y, Asaoka K. Hydrothermal modification of titanium surface in calcium solutions. Biomaterials, 2002; 23:2265-2272;
4. Haddowa D, Kotharia S, James PF, Short RD, Hatton PV, van Noort R. Synthetic implant surfaces. The formation and characterization of sol-gel titania films. Biomaterials, 1996; 17(5):501-507;
5. Moreno LC, Garcia-Pineros J, Delgado-Mejia E. Triple alkaline treatment of titanium surfaces for calcium phosphates growth. Braz. J. Phys. 2006; 36:3-7;
6. Nishimura N, Kawai T. Effect of microstructure of titanium surface on the behaviour of osteogenic cell line MC3T3-E1. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1998; 9(2):99-102.