

STUDIUL BIOCOMPATIBILITĂȚII IMPLANTELOR CHIRURGICALE DIN ALIAJE DE TITAN ÎN ORGANISMUL UMAN

Teza destinată obținerii
titlului științific de doctor inginer
la
Universitatea „Politehnica” din Timișoara
în domeniul INGINERIE MECANICĂ
de către

Ing. VOICU ADRIAN

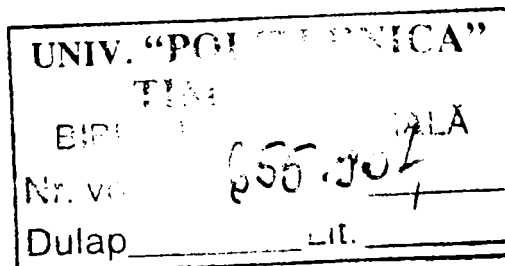
Conducător Științific

prof.dr.ing. DOINA DRĂGULESCU

Referenți

prof.dr.ing. VIOREL-AUREL ȘERBAN
prof.dr. med. GEORGETA MIHALAS
prof.dr. ing. IOAN VIDA – SIMITI
prof.dr. ing. MIRELA TOTH TAȘCĂU

Ziua susținerii tezei: 10.11.2007



Seriile Teze de doctorat ale UPT sunt:

- | | |
|------------------------|---|
| 1. Automatică | 7. Inginerie Electronică și Telecomunicații |
| 2. Chimie | 8. Inginerie Industrială |
| 3. Energetică | 9. Inginerie Mecanică |
| 4. Ingineria Chimică | 10. Știința Calculatoarelor |
| 5. Inginerie Civilă | 11. Știința și Ingineria Materialelor |
| 6. Inginerie Electrică | |

Universitatea „Politehnica” din Timișoara a inițiat seriile de mai sus în scopul diseminării expertizei, cunoștințelor și rezultatelor cercetărilor întreprinse în cadrul școlii doctorale a universității. Seriile conțin, potrivit H.B.Ex.S Nr. 14 / 14.07.2006, tezele de doctorat susținute în universitate începând cu 1 octombrie 2006.

Copyright © Editura Politehnica – Timișoara, 2007

Această publicație este supusă prevederilor legii dreptului de autor. Multiplicarea acestei publicații, în mod integral sau în parte, traducerea, tipărirea, reutilizarea ilustrațiilor, expunerea, radiodifuzarea, reproducerea pe microfilme sau în orice altă formă este permisă numai cu respectarea prevederilor Legii române a dreptului de autor în vigoare și permisiunea pentru utilizare obținută în scris din partea Universității „Politehnica” din Timișoara. Toate încălcările acestor drepturi vor fi penalizate potrivit Legii române a drepturilor de autor.

România, 300159 Timișoara, Bd. Republicii 9,
tel. 0256 403823, fax. 0256 403221
e-mail: editura@edipol.upt.ro

CUVĂNT ÎNAINTE

Teza de doctorat a fost elaborată pe parcursul activității mele în cadrul Catedrei de Mecanică și vibrații a Universității Politehnica din Timișoara.

Lucrarea intitulată *Studiul biocompatibilității implantelor chirurgicale din aliaje de titan în organismul uman* conține o parte descriptivă referitoare la aspecte generale privind proprietățile mecanice, fizice, chimice și în special electrochimice (referitoare în special la comportamentul la coroziune) precum și o parte referitoare la aspectele medicale ale problematicei biocompatibilității implantelor metalice.

Practic, ea reprezintă o continuare a realizărilor colectivului CMPICSU, unde a fost concepută, proiectată și realizată Trusa de Implantate Chirurgicale. Partea aplicativă a lucrării s-a axat pe studiul comportamentului implantelor din Titan, în special din punct de vedere al comportamentului la coroziune și pe pregătirea și funcționalizarea suprafețelor din Titan în vederea creșterii biocompatibilității acestora.

Aduc pe această cale mulțumiri deosebite regretatei doamnei prof. dr. ing. Doina DRĂGULESCU, membru corespondent al Academiei de Științe Tehnice din România și domnului prof. dr. ing. Viorel Șerban, pentru îndrumările pe care mi le-au acordat pe parcursul stagiului, precum și pentru sugestiile valoroase care m-au ajutat să conturez teza în forma actuală.

Pentru studierea atentă a conținutului tezei și pentru observațiile constructive asupra ei, îmi exprim gratitudinea și aduc mulțumiri pe această cale referenților științifici oficiali.

Timișoara, noiembrie 2007

Adrian Voicu

In memoria Doamnei prof.dr.ing. Doina DRĂGULESCU

Voicu, Adrian Aristide

Studiul biocompatibilității implantelor chirurgicale din aliaje de titan în organismul uman

Teze de doctorat ale UPT, Seria 9,Nr 18, Editura Politehnica, 2007, 180 pagini, 141 figuri, 34 tabele.

ISSN: 1842-4937

ISBN: 978-973-625-502-1

Cuvinte cheie:

Implante chirurgicale, Titan, comportament la coroziune, anodizare, celule stem

Rezumat:

Lucrarea prezintă studii teoretice și experimentale ale comportamentului implantelor chirurgicale pe baza de titan și aliaje ale acestuia.

Este studiat comportamentul la coroziune al Titanului in diferite medii și influența metodelor de prelucrare a suprafețelor asupra vitezei de coroziune.

A fost studiat și efectul anodizării, respectiv al depunerii de hidroxiapatita prin metode electrochimice, asupra biocompatibilității implantelor din Titan.

Ca o soluție de perspectivă a fost abordată și tematica celulelor stem.

TABLA DE MATERII

INTRODUCERE	7
CAPITOLUL I	10
PROPRIETĂȚILE ȘI COMPORTAREA MECANICĂ A MATERIALELOR	10
BIOCOMPATIBILE PE BAZĂ DE TITAN	10
1.1. Biocompatibilitatea	10
1.2. Proprietăți fizico-chimice și mecanice ale Ti.....	11
1.3. Aliaje ale titanului. Elemente de aliere și influențele lor.....	12
1.3.1. Ti6Al4V.....	13
1.3.2. Nitinolul.....	16
1.3.3. Aliaje ale titanului cu aluminiul și niobiul (Ti6Al7Nb).....	19
1.4. Influența uzurii asupra proprietăților mecanice ale implantelor din Ti.....	20
1.5. Concluzii	31
CAPITOLUL II	32
INTERFAȚA METAL – MEDIU BIOLOGIC	32
2.1. Răspunsul materialului la acțiunea mediului biologic.....	32
2.2. Modificarea proprietăților fizico chimice ale filmului de oxid de titan în contact cu electroliții și fluidele corporale.....	34
2.3. Interacțiunea proteine-suprafață	36
2.4. Investigarea filmelor de oxid de Ti de pe suprafața implantelor recuperate	37
2.5. Capacitatea de umezire (hidrofilia).....	40
2.6. Reacția gazdei la acțiunea biomaterialelor metalice.....	41
2.7. Concluzii.....	41
CAPITOLUL III	43
COROZIUNEA TITANULUI ȘI A ALIAJELOR SALE, IN VITRO ȘI IN VIVO	43
3.1. Noțiuni generale legate de coroziune	43
3.2. Coroziunea prin frecare	43
3.3. Difuzia pasivă a ionilor metalici	44
3.4. Aspecte electrochimice ale coroziunii	44
3.5. Cinetica electrochimică	51
3.6. Metode de protecție împotriva coroziunii.....	57
3.7. Determinarea experimentală a vitezei de coroziune	57
3.8. Comportamentul implantelor de titan în medii biologice și substituenți ai acestora	61
3.9. Analize electrochimice:	62
3.10. Studiu comparativ al coroziunii pentru diferite metale utilizate pentru confecționarea implantelor	64
3.11. Influența metodei de prelucrare asupra vitezei de coroziune.....	69
3.12. Concluzii.....	72
CAPITOLUL IV	73
PREGĂTIREA SUPRAFEȚEI IMPLANTELOR	73
4.2. Discuri de șlefuit și lustruit.....	75
4.4. Șlefuirea suprafeței	76
4.5. Lustruirea suprafețelor.....	76
4.5.1 Lustruirea mecanică	76

4.5.2 Lustruirea chimică.....	77
4.5.3. Lustruirea electrochimică	79
4.5.4. Metode de pasivare și stabilizare a suprafețelor metalice.....	81
4.6. Tratarea chimică și electrochimică a suprafeței implantelor de Ti.....	84
4.6.1. Bazele teoretice ale procesului de anodizare.....	84
4.6.2. Fenomenul de interferență optică	87
4.6.3. Realizarea experimentală a anodizării	88
4.6.4 Rugozitatea suprafeței	111
4.6.5. Prelucrarea datelor experimentale	120
4.7. Depunerea de hidroxiapatită prin metode electrochimice.....	121
4.8. Concluzii	125
CAPITOLUL V	126
UTILIZAREA CELULELOR STEM PENTRU CREȘTEREA GRADULUI DE BIOCOMPATIBILITATE	126
5.1. Celulele stem și aplicațiile lor medicale	126
5.2. Surse posibile și caracteristici ale celulelor stem	127
5.3. Aplicații medicale ale celulelor stem	130
5.4. Determinarea gradului de aderență celulară	131
5.5. Cultivarea celulelor stem pe suprafața implantelor din titan funcționalizat	134
5.6. Concluzii	138
CAPITOLUL VI	139
ASPECTE CLINICE ȘI PARACLINCE	139
6.1. Aspecte generale privind biocompatibilitatea implantelor metalice.....	139
6.2. Toxicitatea comparativă a metalelor din aliajele folosite pentru implante..	140
6.3. Reacții locale.....	142
6.3.1 Răspunsului celular și al țesuturilor moi.....	142
6.3.2. Reacția țesutului muscular.....	144
6.3.3. Răspunsul țesuturilor moi la acțiunea NiTi.....	144
6.3.4 Răspunsul perineural la acțiunea NiTi	147
6.3.5 Răspunsul osului la acțiunea implantului	148
6.4. Integrarea tisulară a titanului și Nitinolului.....	150
6.5 Răspunsul sistemic.....	151
6.6 Eliberarea Ni și răspunsul celular	152
6.7. Efectele suprafețelor implantelor asupra proliferării celulare.....	153
6.8. Modificări celulare pe suprafața implantului	154
6.9 Metode și tehnici experimentale utilizate pentru determinarea biocompatibilității.....	157
6.9.1 Metode histomorfometrice	157
6.9.2 Metode imagistice	158
6.9.3 Tehnici experimentale in vitro	159
6.10. Studii de caz	160
6.11. Implante Ti anodizate	162
6.12. Concluzii.....	163
CAPITOLUL VII	165
CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVELE CERCETĂRII	165

INTRODUCERE

Scopul general al acestei teze este acela de a studia biocompatibilitatea implantelor chirurgicale pe baza de Titan și de a evolua modul în care diversele modalități de tratare și/sau prelucrare a suprafețelor (din punct de vedere mecanic, fizico-chimic, chimic și electrochimic) influențează asupra acestora. Practic sunt urmărite etapele prin care trec implantele chirurgicale, după realizarea fizică prin tehnologii adecvate și plasarea lor în organism, continuând astfel eforturile celor care s-au ocupat cu proiectarea și realizarea lor efectivă.

Implantele se realizează în cadrul laboratorului LOPIFO. Tehnologia de fabricare se bazează pe procedee neconvenționale de tip EDM (Electro Discharge Melting), completate cu procedee chimice și electrochimice de finisare și pasivare a suprafețelor. Pentru găurire și zencuire se folosesc scule speciale de perforat, cu pas constant. Se mai utilizează așchiera cu scule de formă a suprafeței de așezare a capului șurubului.

După etapele de șlefuire și lustruire, urmează o serie de alte tratamente chimice: de pasivare, anodizare și acoperire cu hidroxiapatită. Viteza de coroziune, un factor important în evaluarea comportamentului implantelor, este folosită ca un indicator al eficienței celor mai multe dintre etapele de prelucrare enumerate mai sus.

Punctul culminant și dezideratul major al tuturor acestor prelucrări constă aplicabilitatea clinică, situație exemplificată prin un studiu de caz în care au fost folosite implantate produse în cadrul laboratorului. Materialul pentru acest studiu a fost furnizat de Spitalul de Chirurgie Buco Maxilo Facială din Timișoara, unul dintre principalii beneficiari ai implantelor realizate în cadrul colectivului din care face parte și doctorandul.

Teza este structurată pe capitole, după cum urmează:

CAPITOLUL I – Proprietățile și comportarea mecanică a materialelor metalice biocompatibile pe baza de titan – tratează aspectele generale legate de Titan, pornind de la poziția lui în Sistemul Periodic al Elementelor. După un scurt istoric al descoperirii acestuia, precum și al elaborării proceselor tehnologice de obținere industrială, sunt trecute în revistă principalele proprietăți fizice și mecanice ale Ti. În continuare sunt abordate aspecte legate de structura Ti, de modalitățile de cristalizare a acestuia, (faza α , faza β) cu descrierea particularităților și comportamentului fiecărei faze, astfel încât să se justifice utilizarea sa pentru implantare.

Un loc important în acest capitol îl ocupă aliajele Titanului, care sunt descrise atât din punct de vedere al compoziției chimice, cât și al comportamentului lor, exemplificat cu ajutorul diagramelor de fază. Ti6Al14V este unul dintre cele mai importante aliaje ale Ti, utilizat mai ales în practica stomatologică, în special datorită prelucrabilității mari și modulului de elasticitate redus, ceea ce îl face compatibil atât cu osul, cât și cu materialele ceramice. Din păcate Al conținut în acesta pare a fi responsabil pentru evoluția unei patologii neurotrope, cea mai semnificativă fiind boala Alzheimer.

Un alt aliaj extrem de important, Nitinolul (un amestec echiatomic de Ni și Ti) descoperit în 1960, prezintă de asemenea o importanță deosebită. Datorită capacității sale de memorie a formei, el a fost considerat primul biomaterial funcțional. Următorul aliaj, Ti6Al17Nb, este deosebit datorită introducerii Niobiului,

cea ce îi conferă proprietăți mecanice mai bune și o ameliorare a biocompatibilității.

CAPITOLUL II - Interfața metal – mediu biologic - prezintă principalele fenomene fizice și chimice care au loc la acest nivel. Problematika este abordată din două puncte de vedere: atât comportamentul fizico-chimic al metalului în mediul biologic sau simulări ale acestuia, cât și reacțiile gazdei la acțiunea acestuia.

O atenție deosebită este acordată interfeței implant metalic - mediu biologic. Chiar dacă grosimea acestei interfețe nu depășește 2-10 nm, particularitățile și comportamentul ei sunt extrem de importante, deoarece induc reacția ulterioară a gazdei la acțiunea implantului.

Stratul de oxid ce se formează pe suprafața acestei interfețe este deosebit de important. Grosimea, rugozitatea și prezența unor sarcini electrice remanente, condiționează tipul de proteine adsorbite pe suprafață, precum și raportul lor. Principalele proteine plasmatice fiind albuminele și fibrinogenul, ele sunt luate în calcul și în această situație. Adsorbția în primă fază a fibrinogenului are efect osteoinductiv, favorizând aderența osteocitelor direct de suprafața implantului, pe când adsorbția albuminelor este osteointegrativă, favorizând integrarea implantului prin intermediul unei capsule de țesut fibros. Prin urmare controlul acestor procese este deosebit de important, vizând comportamentul și integrarea de durată a implantului chirurgical.

CAPITOLUL III - Coroziunea implantelor metalice – abordează principalele aspecte teoretice și practice legate de coroziiune, axându-se în special pe fenomenele electrochimice care apar pe parcursul acesteia. Cea mai simplă metodă de studiu a proceselor de coroziiune este cea electrochimică, motiv pentru care ea e fost luată în calcul în mod special. După o trecere în revistă a principalelor aspecte teoretice care stau la baza metodei, sunt prezentate aparatul și modul de lucru utilizate în mod practic pentru efectuarea acestor determinări. Deoarece posibila toxicitate a unui implant metalic este dată de ionii metalici ce se eliberează de pe suprafața lui prin procese de coroziiune, determinarea comportamentului la coroziiune poate fi considerată o modalitate simplă și eficientă de a evalua atât comportamentul unui implant, cât și eficiența proceselor intermediare de prelucrare și stabilizare a suprafețelor la care acesta a fost supus.

CAPITOLUL IV – Pregătirea suprafețelor implantelor – După cum a fost menționat și în capitolul II, această etapă are o importanță deosebită. Obținerea unei suprafețe cu o rugozitate optimă, adaptată scopului implantului chirurgical, dar și suficient de pasivă din punct de vedere al reactivității fizico-chimice, necesită un șir de prelucrări mecanice, fizice și chimice, prezentate pe larg în cadrul acestui capitol.

Printre metodele de modificare a suprafeței, realizate prioritar în cadrul tezei, se numără lustruirea chimică și electrochimică, anodizarea, MAO (Micro Arc Oxidation), ASD (Anodic Spark Deposition) și depunerea de hidroxiapatită pe suprafața Ti, prin metode electrochimice.

CAPITOLUL V - Utilizarea celulelor stem pentru creșterea gradului de biocompatibilitate

În acest capitol sunt prezentate câteva aspecte legate de celulele stem: descoperirea lor, rolul și importanța în aplicații medicale, precum și perspective ale utilizării acestora.

Celulele stem au deschis noi orizonturi în medicină, permițând reconstrucția de celule, țesuturi și chiar organe uzate, defecte sau pierdute în accidente. În cadrul tezei, se urmărește modificarea unei suprafețe din titan astfel încât aceasta să permită aderența și dezvoltarea pe suprafața ei a unor celule stem în prima etapă,

dar cu posibilitatea de a se diferenția în țesut osos sau cartilagin, în funcție de necesitățile terapeutice. Studiile generale de aderență celulară, *in vivo* sau *in vitro*, au demonstrat faptul că suprafețele cu o rugozitate mare sau care prezintă o energie de suprafață ridicată se pretează cel mai bine pentru culturi celulare.

CAPITOLUL VI – Aspecte clinice și paraclinice are în vedere aspecte referitoare la toxicitatea implantelor chirurgicale metalice, precum și reacțiile organismului la acțiunea lor. Sunt trecute în revistă reacțiile imediate și cele întârziate la acțiunea implantelor și tipurile de reacții pentru fiecare tip de țesut care intră în contact cu metalul (răspunsul celular, al țesuturilor moi, perineural și al țesutului osos). În continuare sunt tratate câteva aspecte legate de răspunsul sistemic la acțiunea câtorva metale care prezintă un grad crescut de toxicitate și câteva metode și tehnici utilizate pentru evaluarea biocompatibilității, iar la final sunt prezentate câteva cazuri clinice în care au fost utilizate implantate din Titan, confecționate în cadrul laboratorului LOPIFO.

Doresc să mulțumesc în mod deosebit doamnei prof.dr.ing. Doina DRĂGULESCU - membru corespondent al Academiei de Științe Tehnice din România - pentru îndrumarea, încrederea și încurajarea pe care mi le-a acordat pe întreaga perioadă a programului meu de doctorat. Îmi exprim recunoștința pentru ajutorul acordat și materialele puse la dispoziție în calitate de director al centrului de cercetare CMPICSU, precum și satisfacția de a fi condus în aceste cercetări de o personalitate în domeniul Biomecanicii.

Mai aduc mulțumiri și domnului prof. dr. ing. Viorel Aurel ȘERBAN pentru bunăvoința sa și pentru faptul că a acceptat să mă îndrume, alături de doamna prof.dr.ing. Doina DRĂGULESCU.

Doresc să mulțumesc doamnei prof.dr.ing. Mirela TOTH TAȘCĂU pentru sprijinul moral, sfaturile și sugestiile deosebit de competente pe care a avut bunăvoința de a mi le acorda pe tot parcursul cercetărilor.

De asemenea doresc să mulțumesc domnului conf.dr.ing. Mircea DREUCEAN pentru sprijinul și îndrumările acordate la calculele statistice și referitor la tehnologiile utilizate pentru confecționarea implantelor.

Mulțumesc de asemeni colectivului catedrei de SMTT din care face parte și domnișoara drd.ing. Camelia DEMIAN, care m-au ajutat la realizarea analizelor metalografice a implantelor.

Autorul își exprimă gratitudinea față de doamna conf. dr. Gabriela TANASIE din cadrul catedrei de Fiziologie și Imunologie a UMF Victor Babeș Timișoara, care m-a ajutat în realizarea testelor *in vitro*, de aderență celulară și la cultivarea culturilor celulare pe suprafața implantelor.

De mare folos mi-a fost și ajutorul acordat de domnul prof. dr. ing. Romeo RESIGA și de doamna conf.dr. ing Corina GRUESCU.

Mai aduc mulțumiri și domnului conf. dr. Gheorghe DRĂGĂNESCU, pentru ajutorul acordat și sugestiile deosebit de utile.

De asemenea autorul precizează că realizarea plăcuțelor și a implantelor folosite pentru partea experimentală nu ar fi fost posibilă fără sprijinul domnilor Marinei COJOCAR și domului inginer Lazăr SOVEJA.

Nu în ultimul rând doresc să le mulțumesc tuturor colegilor din cadrul bazei de cercetare CMPICSU și al Catedrei de Mecanică și Vibrații a Facultății de Mecanică din Universitatea Politehnică Timișoara pentru sprijinul, sugestiile și materialul pus la dispoziție pe parcursul activității de cercetare.

CAPITOLUL I

PROPRIETĂȚILE ȘI COMPORTAREA MECANICĂ A MATERIALELOR BIOCOMPATIBILE PE BAZĂ DE TITAN

1.1. Biocompatibilitatea

Biocompatibilitatea unui material este determinată de doi factori principali: degradarea materialului în mediul intern și reacția gazdei, indusă de material.

Pornind de la reacțiile care au loc la interfața cu mediul intern, materialele pot fi clasificate în: toxice, biologic inactive (aproape inerte), bioactive sau resorbabile [124].

Pentru o mai bună înțelegere a fenomenelor legate de biocompatibilitate, se impune definirea unor termeni:

Biocompatibilitatea a fost definită drept:

„Capacitatea unui material de a induce un răspuns corespunzător al gazdei, în cazul unei aplicații specifice”.

Definiția a fost acceptată de ISO (International Standards Organization), FDA (Food and Drug Administration of USA) și ASTM (American Society for Testing and Materials) [115], [125] [158], [160].

Conform altei definiții [126]:

Biocompatibilitatea unui material reprezintă compatibilitatea unui sistem tehnic cu unul biologic, nu invers.

Biocompatibilitatea față de sânge se referă la interacțiunea dintre suprafața implantului și cele mai abundente proteine prezente în sânge: albuminele, globulinele și fibrinogenul. Toxicitatea compușilor rezultați în urma coroziunii poate fi mult amplificată prin legarea acestora de biomoleculele organismului [45], [113], [145] [168].

Biocompatibilitatea poate fi abordată atât din punct de vedere structural cât și al suprafeței.

Un material biocompatibil (biomaterial) se definește în modul următor [54], [56], [85]:

„Prin material biocompatibil se înțelege orice material care interfațează cu sistemele biologice, creat cu scopul de evaluare, tratare, îmbunătățire sau înlocuire a unui țesut, organ sau funcție a organismului.”

Știința biomaterialelor a fost definită oficial ca *„studiul interacțiunilor dintre materialele vii și cele non-vii”*:

Conform altei definiții, ea *studiază proprietățile fizice, chimice și mecanice ale materialelor, precum și răspunsul complex al gazdei la acțiunea acestora.*

Conform Legii 176/2000, prin *implant* se înțelege [137]:

„Un dispozitiv medical construit din unul sau mai multe biomateriale care este plasat în mod intenționat fie în interiorul corpului, fie acoperit total sau parțial de o suprafața epitelială.”

În cazul implantelor osoase, mai există și alți termeni specifici:

Osteointegrarea:

Formarea, în cazul unui implant funcțional, a unei interfețe directe os-material fără apariția unui țesut fibros, observabilă în limitele rezoluției microscopiei optice (0,5 μm).

Definiția se referă în special la performanțele clinice ale dispozitivului implantabil [1], [3], [67].

Un implant este considerat ca osteointegrat atunci când nu se observă nici o mișcare progresivă relativă între implant și osul cu care acesta intră în contact direct. Practic, osteointegrarea este un mecanism de ancorare prin care componentele non-biologice pot fi încorporate în mod ferm și predictibil în țesutul osos viu și această ancorare poate persista în condiții normale de încărcare.

Osteoconducția

Capacitatea de a ghida formarea osului nou pe suprafața materialului, în interiorul unui mediu osos.

Fenomenul este prezent în special în cazul implantelor din titan, datorită capacității acestuia de a stimula aderența și proliferarea osteoblastelor pe suprafața lui [108].

Osteoinducția

Capacitatea de a induce formarea de os nou în țesuturile neosoase.

Traumatismele, patologii osoase diverse și malformațiile congenitale produc defecte osoase cu lipsă de substanță ce reprezintă o adevărată provocare pentru chirurgul ortoped. Pentru repararea acestora, atât osteoinducția cât și osteoconducția prezintă o importanță deosebită [83], [109].

1.2. Proprietăți fizico-chimice și mecanice ale Ti

Titanul a fost izolat și denumit în 1791 de către William Gregor. Este un element destul de răspândit în scoarța terestră, unde poate fi găsit mai ales sub formă de rutil (TiO_2) sau ilmenit (FeTiO_3) [8], [69], [113].

Datorită afinității mari pe care o are față de elementele nemetalice, el este destul de greu de extras din minereuri. Utilizarea lui pe scară mai largă datează doar de aproximativ 50 ani, când dr. Wilhelm Kroll a pus bazele producerii industriale a Ti, după un procedeu care îi poartă numele:



Este un element metalic de culoare gri-argintie. Ocupă poziția 22 în Sistemul Periodic al Elementelor, fiind situat în grupa a IV-a secundară. Principala stare de oxidare este 4+, dar se cunosc și compuși în care Ti are și valențele de 3+ sau 2+, aceștia fiind mai puțin stabili (figura 1.1).

	TITANIUM		
DENSITATE	> 4.54	1668	< PUNCT TOPIRE
NUMĂR ATOMIC	> 22	2	
SIMBOL	> Ti	10	< CONFIGURAȚIE ELECTRONICĂ
MASĂ ATOMICĂ	> 47.90	2	
VALENȚĂ	> 2,3 4	3260	< PUNCT FERBERE

Fig. 1.1 Titanul și locul său în Sistemul Periodic al Elementelor

Se comercializează sub formă de titan CP (chimic pur) în următoarele tipuri:

Tabel 1.1 Limita maximă a impurităților (% masa) pentru Ti CP

Tip	N _{Max}	Fe _{Max}	O _{Max}	C _{Max}	H _{Max}
ASTM grade I	0,03	0,20	0,18	0,10	0,015
ASTM grade II	0,03	0,30	0,25	0,10	0,015
ASTM grade III	0,05	0,30	0,35	0,10	0,015
ASTM grade IV	0,05	0,50	0,40	0,10	0,015

Cele mai importante proprietăți ale titanului sunt sintetizate în tabelul 1.2 [107]:

Tabel 1.2 Proprietățile Ti

PROPRIETĂȚI	VALORI
Greutate atomică	47,90
Densitate	4,51 g/cm ³ (~60% față de oțel)
Punct de topire	1941 K, 1668°C, 3034°F
Punct de fierbere	3560 K, 3260°C, 5948°F
Rezistivitate	(20°C) 56 micro ohmi / cm
Efortul de curgere minim	480 MPa
Rezistența minimă de rupere la tracțiune	550 MPa
Modulul de elasticitate longitudinal	102,7 GPa
Coeficientul Poisson	0,34
Duritatea	265 (Brinell), 300 Knoop
Coeficientul de dilatare termică	8,64 x 10 ⁻⁶ /°C
Punctul de topire	1668±10°C
Căldura specifică (25°C)	0,518 J/kg K

Din punct de vedere al rezistenței mecanice, Ti prezintă un raport greutate/rezistență mecanică extrem de favorabil față de majoritatea metalelor, ceea ce îl face important pentru diverse aplicații, de la industria petrochimică până la implantele chirurgicale.

Densitatea aliajelor bazate pe Ti variază între 4,43 g/cm³ și 4,85 g/cm³. Tensiunea de rupere variază între 172 MPa pentru Ti CP Grad 1 până la aproximativ 1380 MPa pentru aliaje β tratate termic.

1.3. Aliaje ale titanului. Elemente de aliere și influențele lor

Elementele de aliere se împart în două categorii în funcție de efectul lor asupra stabilității fazei α și β [68], [102], [96], [176].

Al, O, N și Ga sunt stabilizatori α , iar Mo, V, W, și Ta sunt stabilizatori β . Mo și V au o influență mare asupra stabilității fazei β și sunt elemente de aliere obișnuite. Cu, Sn și Si sunt elemente de aliere neutre.

Titanul poate exista în două forme cristaline :

- **forma α** - cu o structură hexagonală strâns împachetată
- **forma β** - structură cristalină cubic centrată intern

În cazul Titanului nealiat, faza α este stabilă la temperaturi ce depășesc 880°C , peste care trece în faza β . Faza β este stabilă în intervalul cuprins între 880°C și punctul de topire.

Titanul nealiat prezintă o rezistență mecanică și la uzură mică. Cu scopul de a-i ameliora proprietățile mecanice, el poate fi aliat cu diferite elemente chimice.

Există următoarele tipuri structurale de aliaje ale Ti:

Aliajele α nu pot fi tratate termic, dar pot fi sudate cu ușurință. Au o rezistență medie, ductibilitate acceptabilă, reziliență și posedă proprietăți mecanice excelente la temperaturi criogenice.

Aliajele $\alpha - \beta$ pot fi tratate termic și sudate. Rezistența lor este medie spre înaltă. Pot fi formate termic, dar limita lor de fluaj la temperaturi înalte nu este la fel de bună ca cea a celor mai multe aliaje α .

Aliajele β pot fi tratate termic cu ușurință, sudate și prezintă o rezistență bună la fluaj la temperaturi intermediare. Aliajele β prezintă în general o maleabilitate deosebită.

Titanul pur suferă o tranziție de la o structură cristalografică hexagonală strâns împachetată (faza α) la o structură cubică centrată intern (faza β), la o temperatură de 883°C și rămâne în această formă până la punctul de topire (1672°C) [102].

Pe măsură ce titanului pur i se adaugă elemente de aliere, are loc o modificare a temperaturii la care are loc transformarea de fază. Elementele de aliere adăugate Ti, exceptând cositorul și zirconiul, tind să stabilizeze atât faza α cât și pe cea β . Elemente ca Al, Ga și Sn, numite stabilizatori α , stabilizează faza α la temperaturi mai ridicate, iar V, Nb, Ta și Mo, numite stabilizatori β , stabilizează faza β la temperaturi mai scăzute.

Modulul de elasticitate al aliajelor Ti are valori de aproximativ 50% din cel al oțelului. Acest lucru se traduce printr-o flexibilitate deosebită, ce stă la baza utilizării Ti pentru confecționarea dispozitivelor de fixare stomatologice și a altor dispozitive medicale implantabile.

Coeficientul de dilatare al Ti este mult mai redus decât cel al aliajelor feroase. Din acest punct de vedere Titanul este mult mai compatibil cu materialele pe bază de ceramică sau sticlă decât majoritatea celorlalte metale.

În anii 1950, aliajele de Ti erau considerate capabile să răspundă nevoii de materiale cu o rezistență specifică bună, fluaj redus, temperatură de topire ridicată și rezistență la coroziune. Aplicațiile de bază au fost inițial în domeniul aeronauticii. Utilizarea lor pentru aplicații medicale a fost luată în calcul începând din anii 1960 [43], [113].

1.3.1. Ti6Al4V

Ti6Al4V este unul dintre cele mai frecvent utilizate aliaje α - β ale Ti, datorită modulului său de elasticitate redus, apropiat de cel al osului (50-60% din cel al aliajelor Co-Cr) și prelucrabilității sale ridicate la temperatura camerei [59], [60]. Ti6Al4V rivalizează cu oțelul inoxidabil și aliaje de CoCrMo în ceea ce privește confecționarea de implante chirurgicale.

Vanadiul este un stabilizator al fazei β în soluții solide.

Alumiul este un α stabilizator tipic. După cum se vede în diagrama de fază Ti-Al din figura 1.2, adăugarea de 6% aluminiu are drept rezultat creșterea temperaturii până la care faza α este stabilă. Această fază este preferată datorită rezistenței și durității bune, precum și rezistenței la contaminarea cu oxigen la temperaturile ridicate de formare la care este expus implantul [102].

În profida utilizării lui pe scară largă, studiile recente au demonstrat că eliberarea din aliaj a ionilor de aluminiu și a celor de vanadiu poate cauza în timp neuropatia periferică, osteomalacia și boala Alzheimer [52], [177].

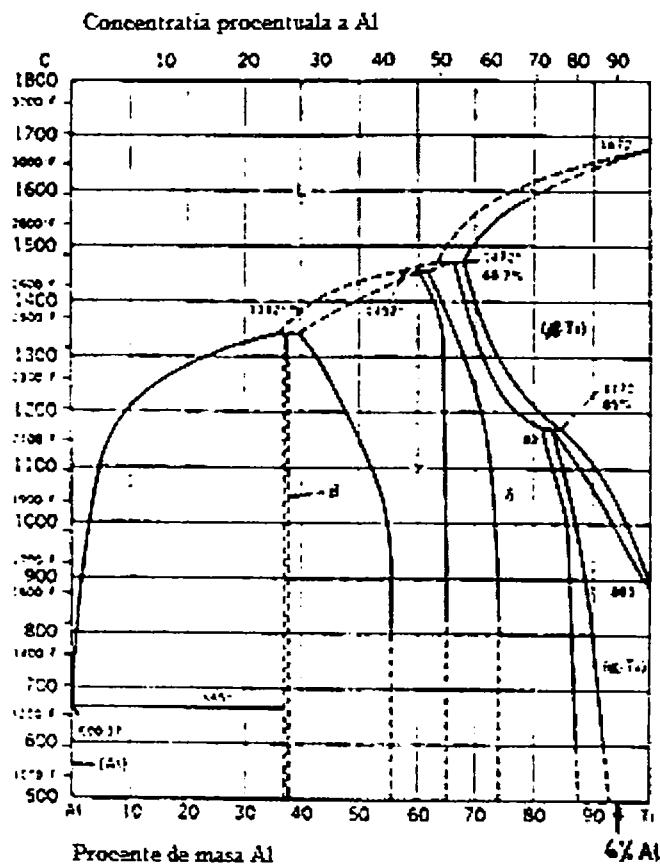


Fig. 1.2 Diagrama de fază titan – aluminiu (după Hansen)

Adăugarea unei mici cantități de aluminiu are ca efect creșterea cantității de fază α la o temperatură dată (figura 1.3).

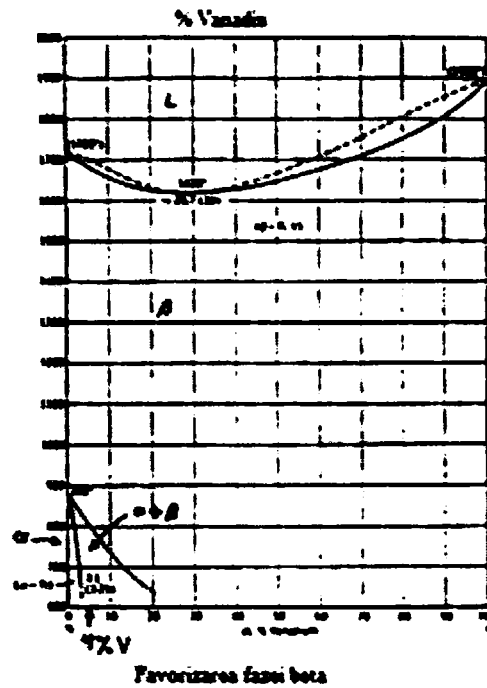


Fig. 1.3 Creșterea durității ca urmare a adăugării unei mici cantități de aluminiu

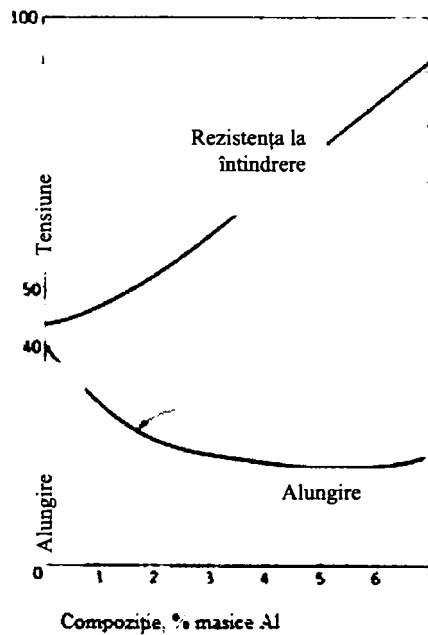


Fig. 1.4 Diagrama de fază titan – vanadiu (Hansen)

Vanadiul are ca efect stabilizarea fazei β . Adăugarea de 4% vanadiu reduce temperatura de tranziție α - β cu aproape 200°C, după cum se observă în diagrama din figura 1.4.

Faza β permite o turnare mai ușoară la temperaturi mai mici, dar în același timp este mai predispusă la contaminarea atmosferică.

Faza α este mult mai rezistentă la contaminarea cu oxigen și are o rezistență mecanică mai bună [153], [179].

Elementele chimice Zirconiu și Hafniu au o solubilitate foarte bună atât în faza α , cât și în faza β a Ti. Ele nu promovează stabilitatea de fază, dar întârzie ratele de transformare și sunt folosite ca agenți de creștere a durității. Oxigenul, azotul și carbonul sunt stabilizatori α , ce cresc temperatura de transformare.

Hidrogenul este β stabilizator și reduce temperatura de transformare. Niobiul este β izomorf și nu formează compuși intermetalici cu Ti.

Aliajul Ti13Zr13Nb ce poate substitui Ti6Al4V prezintă avantajul de a solubiliza aceste elemente de aliere (Nb și Zr) rezultând compuși cu un modul de elasticitate mai redus.

Modificarea constă în înlocuirea Al și a V cu alte elemente chimice mai puțin reactive, cum ar fi Zr și Nb. Aliajul astfel rezultat are proprietăți chimice și mecanice foarte bune. Valoarea modulului lui Young pentru acest aliaj este foarte apropiată de cea a osului, ceea ce constituie un avantaj. Deoarece toxicitatea Zr și a Nb este mai redusă decât cea a Al sau V, biocompatibilitatea lui este mai bună [76].

Impedimentul major în utilizarea pe scară largă a acestui aliaj constă în costurile mari ale elementelor de aliere și în unele probleme de ordin metalurgic.

1.3.2. Nitinolul

În anii 1960, Buehler și colaboratorii lui de la U.S. Naval Ordnance Laboratory au descoperit efectul de memoria formei la aliajele echiatomice ale nichelului și titanului, care poate fi considerată o schimbare în plaja materialelor cu memoria formei [68], [91]. Aceste aliaje au fost numite Nitinol (*Nickel-Titanium Naval Ordnance Laboratory*) [18], [19].

Primul efort de valorificare al potențialului aliajului Ni-Ti, ca material pentru implanturi, a fost făcut de Johnson și Alicandri în 1968.

Necesitatea folosirii aliajelor Ni-Ti în aplicații medicale a fost prezentată prima dată în anii 1970.

În anii 1980, ideea a dobândit mai mult suport și au fost realizate anumite experimente ortodontice, dar mai cu seamă aplicații ortopedice.

La mijlocul anilor 1990 a fost răspândită comercial prima aplicație, care a făcut schimbări în medicină. Folosirea aliajelor Ni-Ti ca biomateriale este atrăgătoare, din cauza efectului de superelasticitate și memoria formei, care sunt proprietăți complet noi, în comparație cu aliajele metalice convenționale.

Nitinolul a fost primul "biomaterial funcțional" devenit disponibil și care prezintă un interes deosebit pentru aplicațiile medicale. Forma și duritatea NiTi pot fi controlate cu temperatura. Aceste proprietăți au făcut posibilă realizarea unor implante funcționale activate la temperatura corpului. Mai mult decât atât, datorită excelentei sale elasticități, el poate fi folosit pentru confecționarea de implante supuse la eforturi și deformări continue [18], [19], [67].

Materialul prezintă comportament elastic până când solicitarea aplicată atinge limita de curgere, punct de la care se produce deformarea permanentă. În intervalul corespunzător comportamentului elastic, raportul sarcină/tensiune

determină modulul de elasticitate. Metalul cedează atunci când solicitarea atinge rezistența de rupere la tracțiune.

Materialelor implantabile li se impun, în general, două cerințe mecanice de bază: solicitările de lucru la care este supus implantul trebuie să fie mult sub efortul de curgere și în încărcările ciclice condițiile de lucru trebuie menținute mult sub limita de oboseală (figura 1.5).

Proprietățile mecanice ale NiTi depind de tipul de fază la o anumită temperatură. NiTi austenitic are în general proprietăți corespunzătoare confecționării de implantate chirurgicale.

Sunt și unele proprietăți excepționale ce ar putea fi utilizate în chirurgie. NiTi are o capacitate ridicată de amortizare și atenuare a vibrațiilor. Din punct de vedere ortopedic, această proprietate ar putea fi folosită pentru atenuarea vibrațiilor ce apar între os și proteza articulară.

Modulul de elasticitate redus al NiTi (mult mai apropiat de modulul de elasticitate al osului decât al oricărui alt implant metalic) poate fi benefic pentru unele aplicații specifice. NiTi are proprietăți unice în ceea ce privește ductilitatea și rezistența la oboseală, ce se leagă de asemenea de transformarea lui martensitică. Aceste proprietăți sunt de obicei favorabile în implantele ortopedice [67].

NiTi este un aliaj non-magnetic, prin urmare printre metodele imagistice utilizate pentru studiul comportamentului unor implantate chirurgicale confecționate din acest aliaj poate fi utilizată și rezonanță magnetică nucleară.

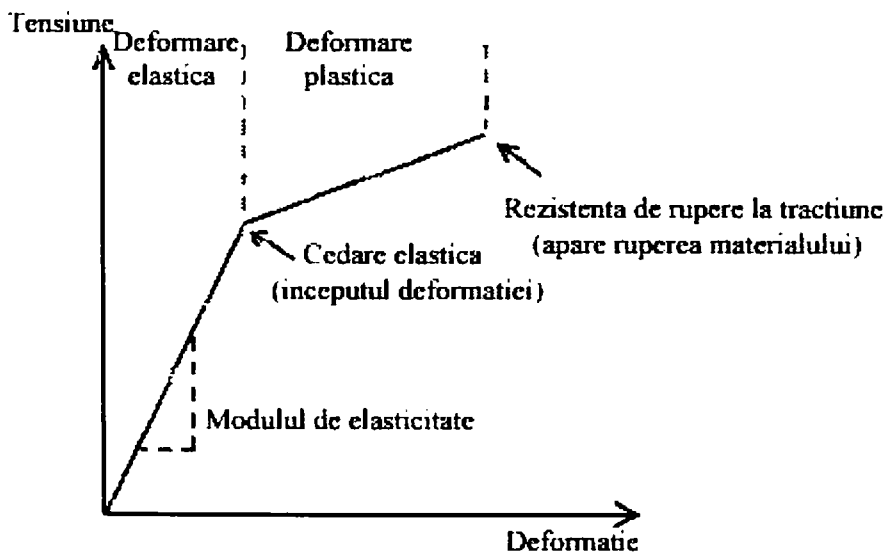
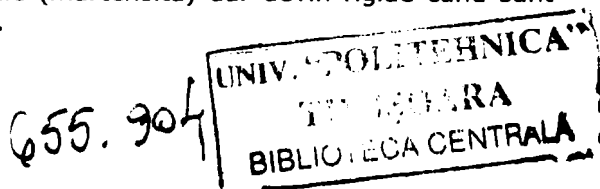


Fig. 1.5 Reprezentarea schematică a comportamentului sarcină-tensiune pentru implantele metalice

Aliajele metalice cu memoria formei Ni-Ti se prezintă sub două structuri: cristalină, numită martensită (temperatură mai scăzută) și austenita (temperatură ridicată).

Structura cristalină austenitică este cubic simplă, în timp ce martensita are o structură tetragonală complexă, cu o simetrie redusă. La temperaturi scăzute aliajele Ni-Ti sunt moi și ușor deformabile (martensita) dar devin rigide când sunt încălzite la temperaturi înalte (austenita).



Când aliajele Ni-Ti martensitice sunt încălzite, începe transformarea în *austenită*. Temperatura la care începe transformarea se numește temperatura de început de transformare austenitică A_s . Temperatura la care transformarea este completă se numește temperatura de sfârșit de transformare (A_f).

Comportamentul unic al aliajelor Ni-Ti se bazează pe temperatura critică de transformare a austenitei în martensită, numită transformare martensitică termoelastică.

Dacă deformația este întreruptă înainte de atingerea acestei temperaturi, epruveta va conține câteva variante de corespondențe diferite. Fenomenul de după deformare, care face ca prin răcire epruveta să-și revină la forma de dinaintea deformației, stă la baza proprietăților speciale, ca efectul de memoria formei și superelasticitate.

Efectul de memoria formei la aliajele Ti-Ni este condiționat de tranziția fazelor cristalografice reversibile dintre faza B2 la temperaturi înalte și faza martensitică B19' la temperaturi scăzute, eventual faza R. Stările microstructurale ale materialelor Ti-Ni sunt dependente de tratamentul mecanic și termic. Cei mai importanți factori care afectează caracteristicile structurale implică compoziția chimică, durificarea și tratamentul termic.

Utilizarea proprietăților de memorie a formei și superelasticitate ale nitinolului necesită ca piesa să fie modelată în forma dorită, printr-un tratament termic caracteristic.

Metodele de tratament termic folosite pentru a realiza forma dorită sunt similare, indiferent dacă este vorba de memoria formei sau de starea superelastică. Parametrii termici adecvați (temperatura și variația ei în timp) se determină de obicei experimental. De cele mai multe ori se preferă răcirea rapidă, cu apă sau aer.

Programarea se poate realiza practic prin două procedee: SIM (Stress Induced Martensite) sau SME (Shape Memory Effect).

În cazul SME, piesa este răcită sub M_f și adusă în forma dorită. Apoi este încălzită până la o temperatură situată peste A_f și i se permite să-și ia forma austenitică. Procedura se repetă de 20-30 de ori, după care programarea se consideră încheiată. Din acest moment piesa are o formă în faza martensitică și alta atunci când este încălzită peste faza austenitică.

În programarea SIM, obiectul este tensionat deasupra M_f pentru a i se da forma dorită și apoi este răcit sub temperatura M_f . După ce este încălzit deasupra temperaturii A_f , obiectul ia forma originară austenitică. Procedura se repetă de 20-30 ori.

Diferența dintre temperatura de tranziție la încălzire și cea la răcire se numește histerezis. Histerezisul, este, în general, definit ca o diferență de temperaturi, la care materialul este 50% transformat în austenită, la încălzire și 50% transformat în martensită, la răcire. Diferența poate fi de 20 – 30 °C. În practică, aceasta înseamnă că aliajele sunt concepute pentru a fi complet transformate la temperatura corpului uman la încălzire ($A_f < 37$ °C) și necesită răcire la aproximativ +5 °C pentru a se retransforma în martensită (M_f).

Programarea Nitinolului permite obținerea unor implante chirurgicale care își modifică forma la o temperatură situată în jurul valorii de 37 °C. Prin urmare ele pot fi introduse în corpul pacientului la o temperatură scăzută, sub o anumită formă, mai simplă. Ajungând la temperatura corpului, de 36-37 °C, forma lor trece în cea programată anterior (după ce materialul a fost deformat plastic, el își va reveni la forma programată atunci când este încălzit.)

Aceste aliaje posedă proprietăți cunoscute sub denumirea de memorie a formei.

Se recomandă folosirea lor în ortodonție, la firele dentare arcuite, la confecționarea de stenturi pentru anevrisme sau permeabilizarea vaselor sanguine, a mușchilor artificiali, a implantelor ortopedice, etc. [82] [83].

1.3.3. Aliaje ale titanului cu aluminiul și niobiul (Ti6Al7Nb)

Niobiul a fost introdus în practică la începutul anilor 1990, datorită biocompatibilității sale excelente, cu scopul de a reduce coeficientul de dilatare termică al titanului pur sau al celorlalte aliaje ale acestuia. Aliajele Ti-Nb prezintă un coeficient de dilatare termică similar cu cel al acoperirilor alumino-ceramice, pe un interval larg de temperatură. Nb este considerat un element deosebit de util pentru alierea Ti deoarece îi crește rezistența la coroziune și biocompatibilitatea.

Aliajul TiAl6Nb7 prezintă o structură eterogenă de tip α - β , îmbogățită cu Al în faza α și Nb în faza β . Compoziția lui este dată în tabelul 1.3:

Tabel 1.3 Compoziția Ti6Al7Nb

Element	Conținut
Al	5,5-6,5%
Nb	6,5-7,5%
Ta	<0,50%
Fe	<0,25%
N ₂	<0,05%
O ₂	<0,20%
C	<0,08%
H ₂	<0,009%
Ti	Diferența

Datorită faptului că citotoxicitatea reprezintă o problemă serioasă în cazul biomaterialelor, TiAl6Nb7 a fost conceput cu scopul de a înlocui vanadiul din TiAl6V4 cu aceeași cantitate de niobiu, element chimic ce aparține aceleiași grupe (a V-a) din Sistemul Periodic. Astfel au fost păstrate proprietățile mecanice favorabile ale aliajului, dar a fost redusă toxicitatea lui.

Duritatea pieselor turnate din TiAl6Nb7 este puțin mai mică decât a celor din TiAl6V4, dar prezintă o ductilitate și rezistența la coroziune și uzură mai bună. Suprafața pieselor confecționate din acest aliaj poate fi lustruită cu ușurință. Proprietățile mecanice excelente recomandă TiAl6Nb7 pentru confecționarea de implante dentare și proteze de șold. Principalele proprietăți mecanice sunt redate în tabelul 1.4:

Tabel 1.4 Principalele proprietăți mecanice ale Ti6Al7Nb

Proprietăți	Valori tipice
Rezistența la tracțiune MPa	1000 (145)
Tensiunea de încărcare MPa	900 (130)
Elongație %	12
Reducerea suprafeței %	35
Modulul de elasticitate GPa	105

1.4. Influența solicitărilor ciclice asupra proprietăților mecanice ale implantelor din Titan

Pentru a demonstra practic calitățile deosebite ale Titanului, descrise mai sus, șapte plăcuțe de tip PD6 din trusa de implante maxilo-faciale au fost testate atât în ceea ce privește comportamentul la solicitări ciclice, cât și la coroziune.

Trusa de implante cranio-maxilo-faciale este destinată rezolvării chirurgicale a fracturilor complicate ale viscerocraniului, precum și reconstrucției faciale. Ea constă din 12 tipuri de implante de forme și dimensiuni diferite, și trei tipuri de șuruburi, având o concepție modulară, adaptată mai multor tipuri de fracturi sau defecte osoase [31], [173], [174], [175], [158], [159], [160]. Componentele trusei sunt reprezentate în figura 1.6 și au fost realizate ca obiectiv al unei alte teze de doctorat [178]. Prezenta le studiază proprietățile din punct de vedere al comportamentului la coroziune și al biocompatibilității.

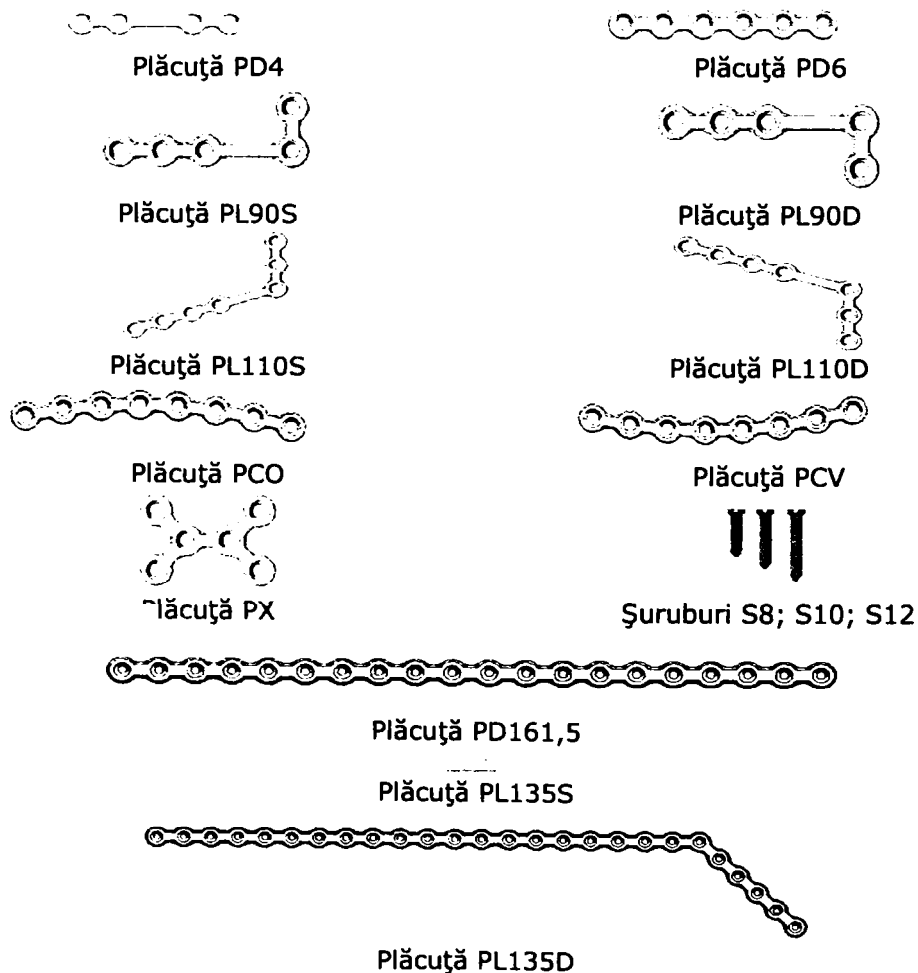


Fig. 1.6 Trusă implante cranio-maxilo-faciale

Determinarea comportării mecanice a implantelor chirurgicale s-a efectuat cu ajutorul echipamentului Multitest 5i (figura 1.7).

Echipamentul MultiTest 5i este un sistem de testare la tracțiune, compresiune și încovoiere controlat complet de calculator.

Date tehnice

Capacitate maximă 5000N

Cursa efectivă a capului 600mm

Adâncimea gâtului 100mm

Distanța maximă de prindere 610mm

Dimensiunea maximă a piesei 730mm

Bancul de lucru ocupă o suprafață mică

Semi-portabil

Domeniul de viteză 1 - 500mm/min

Compensarea abaterii de către celula de încărcare



Fig. 1.7 Echipamentul MultiTest 5-i

Șase implantate de tip PD6 au fost solicitate la un număr diferit de cicluri, cuprins între 0-500. Rata de creștere a fost de 100 cicluri. Implantatele au fost supuse ulterior procedurii de analiză a coroziunii, prin metode electrochimic (detaliat în Capitolul III) conform tabelului 1.5 [73].

Tabel 1.5. Solicitățile la care au fost supuse implantele

Nr. implant	Nr. solicitări ciclice	Coroziune
1	0	NU
2	0	DA
3	100	DA
4	200	DA
5	300	DA
6	400	DA
7	500	DA

Ulterior s-a determinat forța necesară ruperii lor, rezultatele obținute fiind sintetizate în tabelul 1.6.

Tabel 1.6 Corelația Fmax -deplasare maximă

Proba	Forța maximă [N]	Deplasarea la forța maximă [mm]
1	369.9	7,47
2	371.1	7,42
3	349.9	6,92
4	348.1	7,17
5	351.2	6,92
6	352.2	6,10
7	340.6	6,35

Fiind vorba de implantate destinate consolidării fracturilor mandibulare, a fost ales un tip de solicitări care să se încadreze în limitele fiziologice ale procesului de masticăție.

Solicitările au inclus o tracțiune până la 200 N urmată de o compresiune până la -40 N, viteza de încărcare fiind de 5 mm/min.

Se observă o rupere în două trepte, datorită ruperii implantului în zona găurii pentru șurub din mijlocul lui.

Comportamentul implantelor de tip PD6 la solicitările ciclice este reprezentat în figurile 1.8 - 1.13.

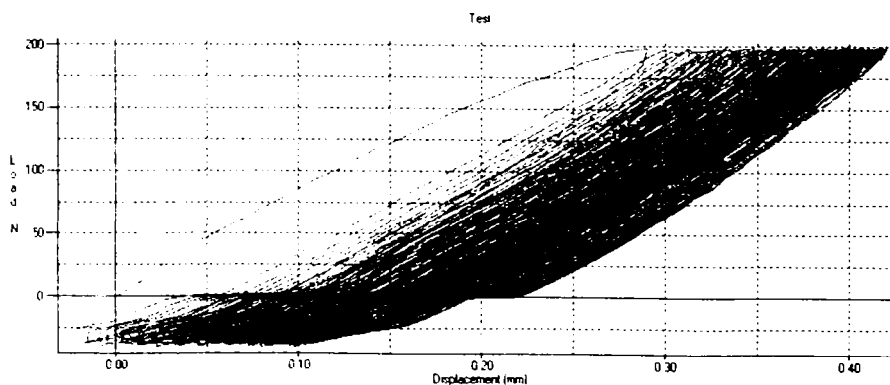


Fig. 1.8 Solicitări 100 cicluri

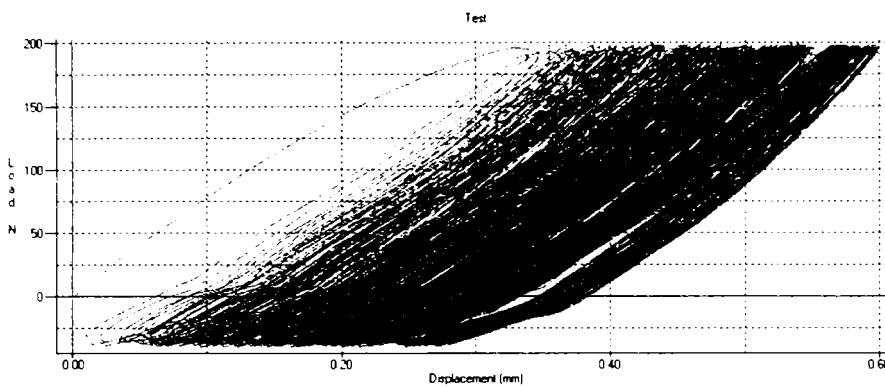


Fig. 1.9 Solicitări 200 cicluri

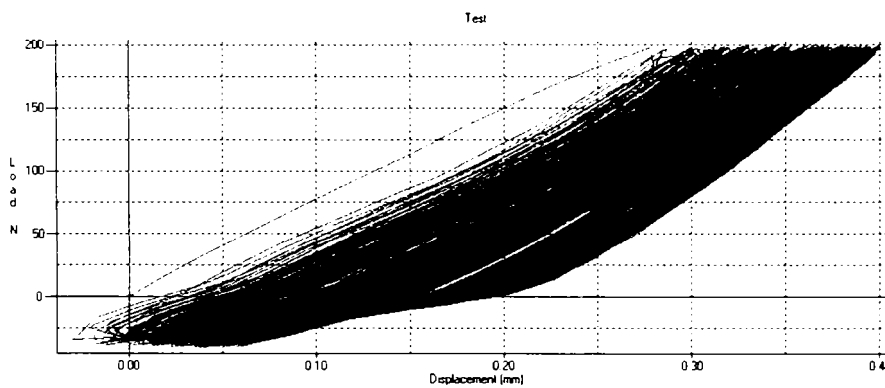


Fig. 1.10 Solicitări 300 cicluri

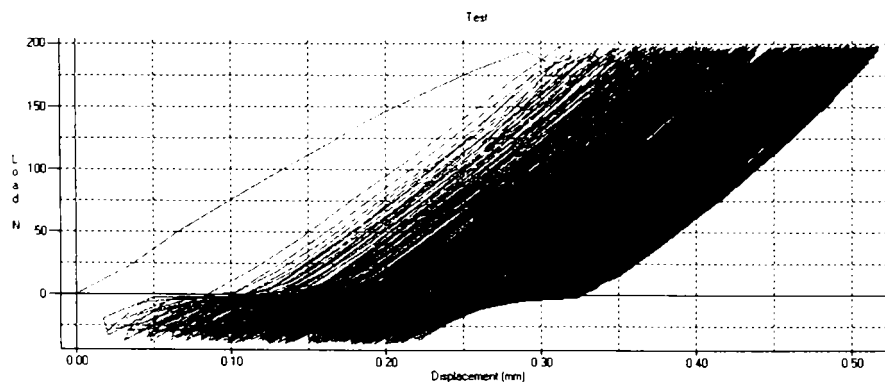


Fig. 1.11 Solicitări 400 cicluri

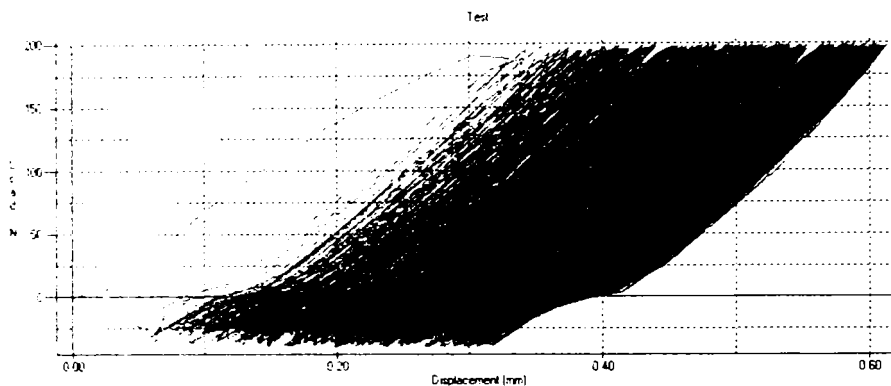


Fig. 1.12 Sollicitări 500 cicluri

Palierile care se observă pe fiecare dintre aceste curbe sunt cauzate de dispozitivul de prindere, datorită formei conice a grupului.

Prima curbă diferă față de celelalte deoarece s-a pornit de la valoarea 0, nu de -40.

Din analiza curbelor se observă că alungirea la o încărcare de 200 N variază ascendent cu creșterea numărului de cicluri.

Următoarea etapă a constat în evaluarea comportamentului la coroziune al probelor supuse la încercări ciclice [156], [148], [150], [151], [180]. Curbele obținute pentru proba martor și plăcuțele sollicitate sunt reprezentate în figurile 1.13 - 1.18.

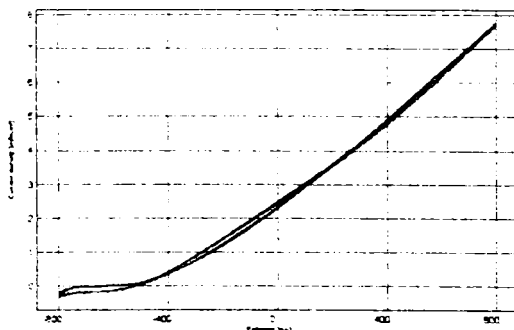


Fig.1.13 a Voltametrie ciclică Ti martor

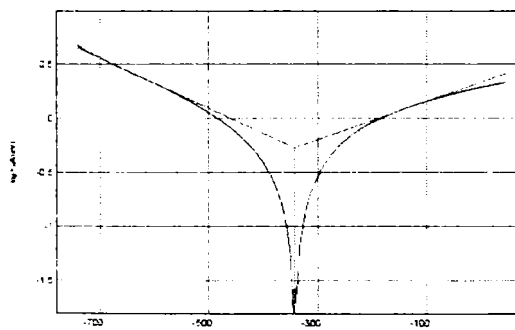


Fig. 1.13 b Transformarea Tafel Ti martor

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 4,653 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -342,0 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,5342 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 146,65 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Viteza de coroziune este proporțională cu aria cuprinsă între ramura anodică și cea catodică a curbei. În figura 1.13 a se observă că această suprafață este redusă, prin urmare și viteza de coroziune are valori mai mici față de celelalte

probe. Potențialele maxime sunt deplasate spre valori mai electronegative și corespund unei densități de curent mici, aspect caracteristic stărilor stabile electrochimic [130].

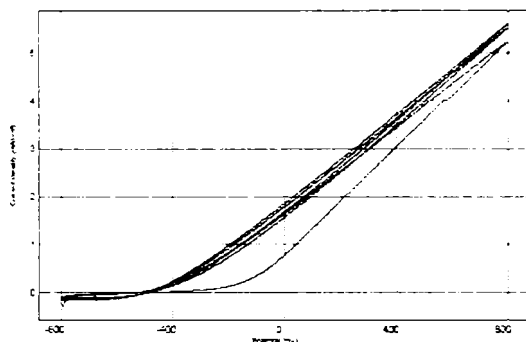


Fig. 1.14 a Voltametrie ciclică Ti 100 cicluri

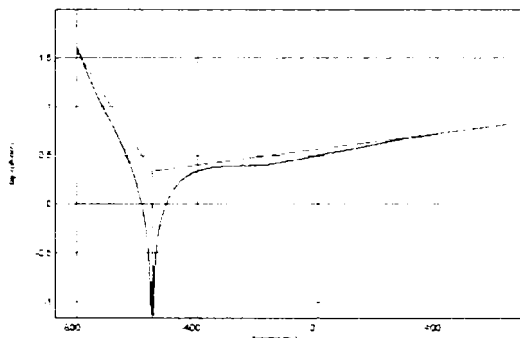


Fig. 1.14 b Transformarea Tafel Ti 100 cicluri

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 19,03 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -550,1 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 2,1848 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 42,24 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În figura 1.14 a se observă că suprafața cuprinsă între ramura anodică și cea catodică este mai mare decât în cazul anterior.

Curba corespunzătoare primului ciclu are alura deosebită față de următoarele, după care suprafața se stabilizează. Pentru următoarele două cicluri se observă o suprapunere aproape perfectă a curbelor, atât pe ramura anodică cât și pe cea catodică, ceea ce denotă o stabilizare a suprafeței.

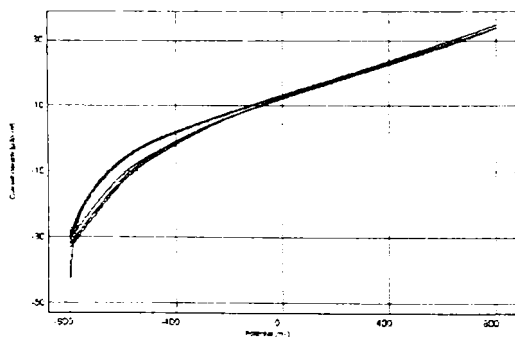


Fig. 1.15 a Voltametrie ciclică Ti 200 cicluri

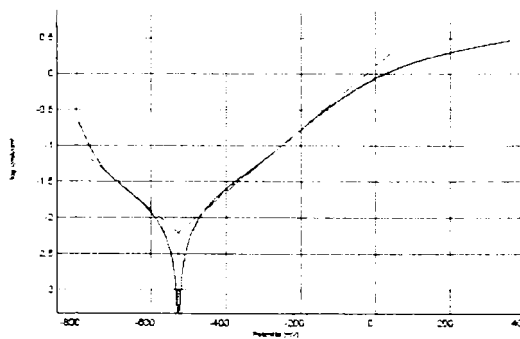


Fig. 1.15 b Transformarea Tafel Ti 200 cicluri

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 52,55 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -527,4 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,0060 \text{ mA}/\text{cm}^2$

$R_p = 5,97 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În figura 1.15 a se observă că suprafața cuprinsă între ramura anodică și cea catodică prezintă o tendință de creștere, procesele de coroziune se deplasează spre valori electronegative și densitatea de curent este mai mare decât în la probele anterioare, demonstrând prezența unor procese de coroziune mai intense. Alura curbelor anodice și catodice se păstrează. Suprapunerea acestora denotă că procesul de coroziune se desfășoară cu o viteză constantă.

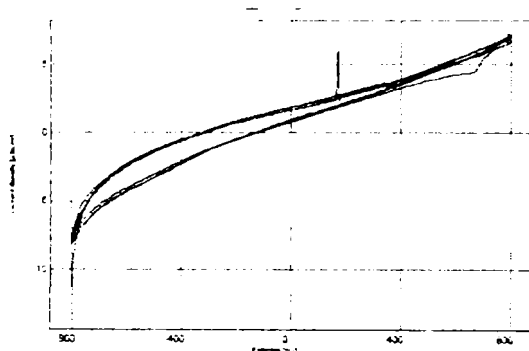


Fig. 1.16 a Voltametrie ciclică Ti 300 cicluri

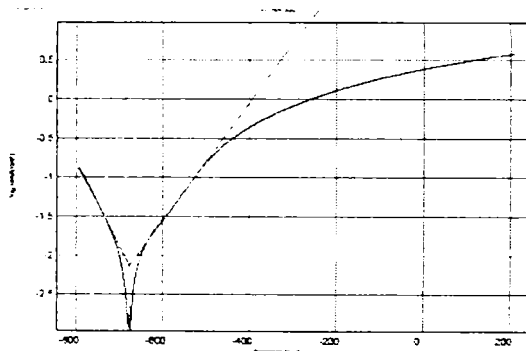


Fig. 1.16 b Transformarea Tafel Ti 300 cicluri

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 63,94 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -676,3 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,0073 \text{ mA}/\text{cm}^2$

$R_p = 2,39 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În figura 1.16 a se observă că suprafața de sub curbă este mai mare față de cazurile anterioare, fiind însoțită și de o creștere a densității de curent. Pentru primul ciclu, pe suprafața curbei se observă un vârf, corespunzător unui potențial de aproximativ 200 mV și un platou, cuprins între 400 mV – 700 mV. Aceste modificări s-ar putea datora unei străpungeri a stratului protector de oxid de Titan, urmată de refacerea acestuia (repassivare). Pentru următoarele cicluri alura curbei ramane constantă, ceea ce denotă o stabilizare a suprafeței. [9], [10], [11].

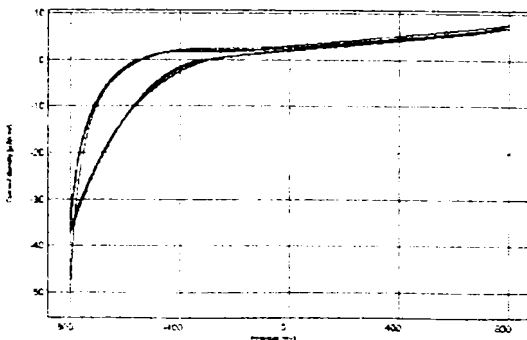


Fig. 1.17 a Voltametrie ciclică Ti 400 cicluri

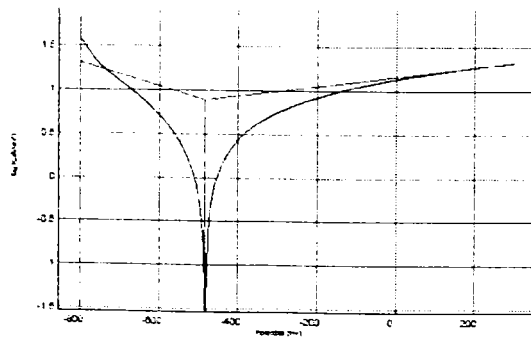


Fig. 1.17 b Transformarea Tafel Ti 400 cicluri

Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 68,25 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$E(i=0) = -483,0 \text{ mV}$** **$i_{\text{corrosion}} = 7,8349 \mu\text{A}/\text{cm}^2$** **$R_p = 27,95 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$**

În figura 1. 17 a se observă că suprafața delimitată de curbă este mare, procesul de coroziune este deplasat spre potențiale mai electronegative și densități de curent mari, ceea ce corespunde unei viteze de coroziune mai mari. Ramurile anodice și catodice ale curbelor se suprapun, demonstrând că procesul se desfășoară cu o viteză constantă [10], [11], [37].

În etapa următoare, plăcuțele au fost supuse unor solicitări de tracțiune până la rupere. Graficele rezultate pentru cele cinci implanturi sunt reprezentate în figurile 1.18 – 1.24.

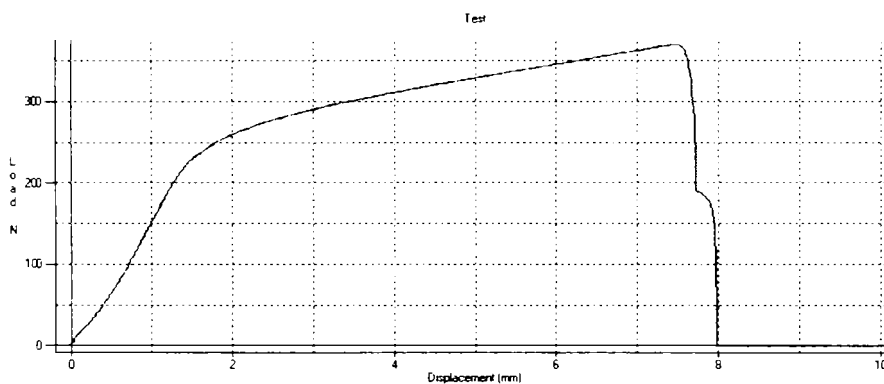


Fig.1.18 Plăcuță PD6 nesolicitată

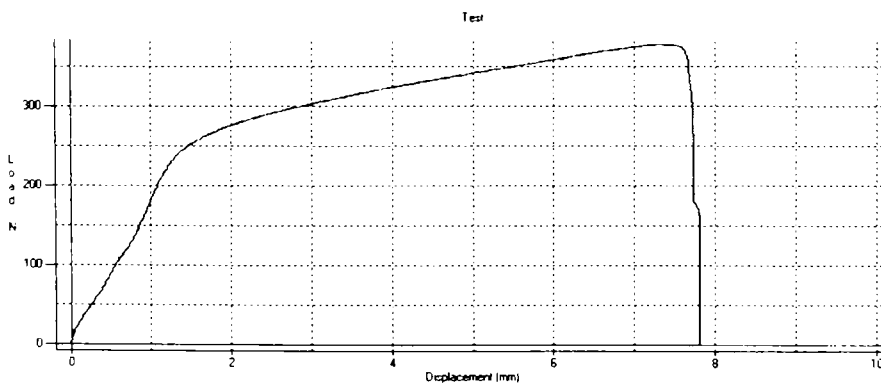


Fig.1.19 Plăcuță PD6 corodată

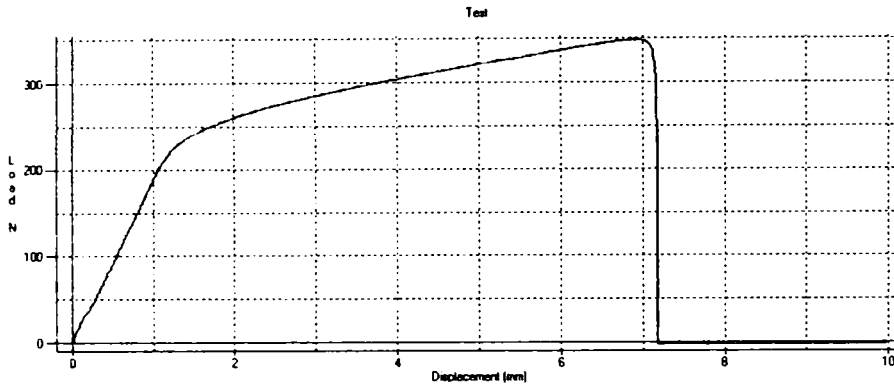


Fig.1.20 Plăcuță PD6 corodată +100 cicluri

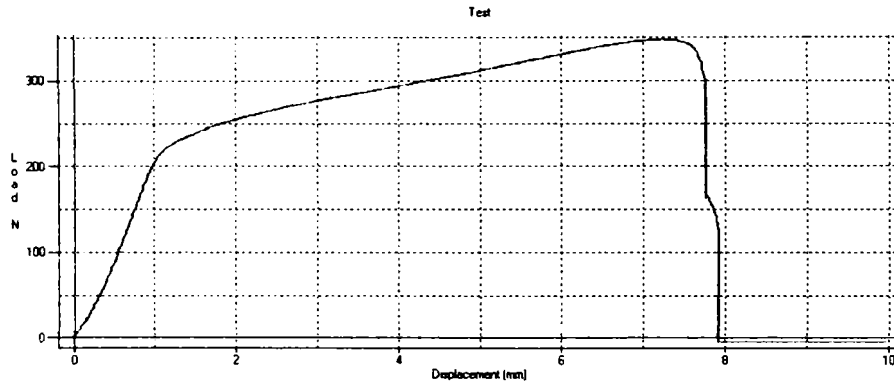


Fig.1.21 Plăcuță PD6 corodată +200 cicluri

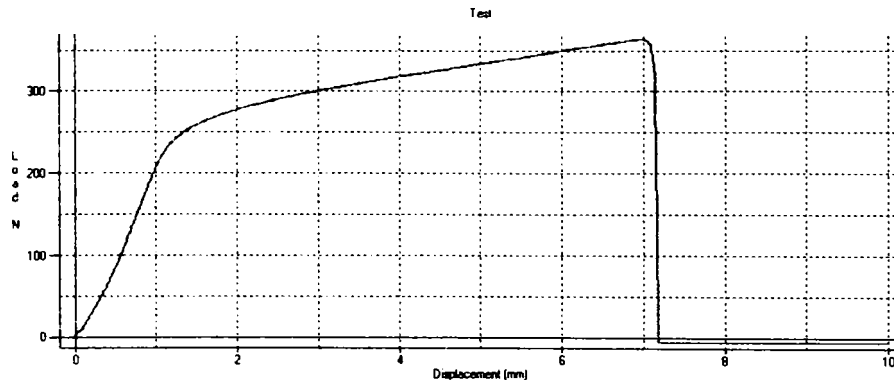


Fig.1.22 Plăcuță PD6 corodată +300 cicluri

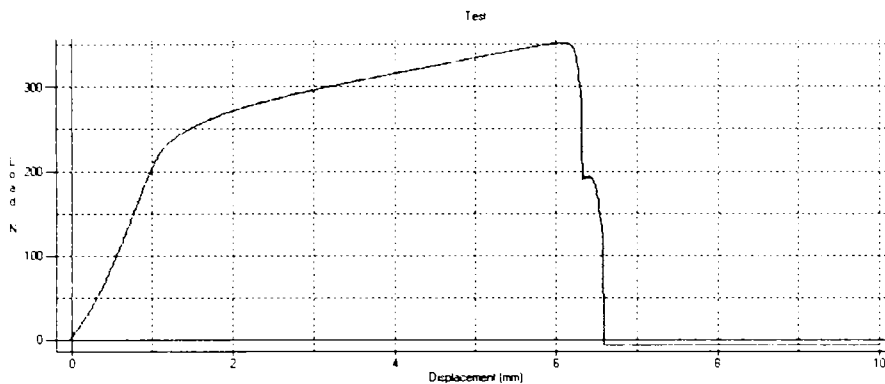


Fig.nr.1.23 Plăcuță PD6 corodată +400 cicluri

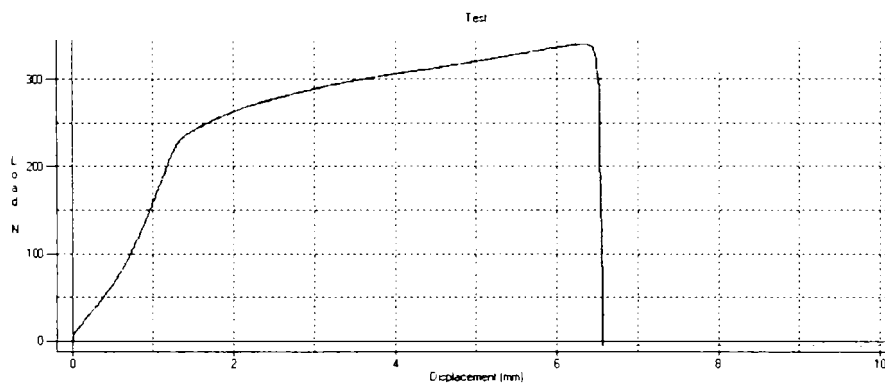


Fig. 1.24 Plăcuță PD6 corodată +500 cicluri

Din figurile de mai sus rezultă că intervalul cuprins între 0-1,25 mm (măsurat pe grafice, porțiunea abruptă a curbei) corespunde deformării elastice. El este aproximativ același pentru toate plăcuțele testate.

Pe intervalul corespunzător deformărilor plastice, panta graficului ($\tan \alpha$) este aproximativ egală pentru toate probele.

În cazul figurilor 1.18, 1.19, 1.21 și 1.23 se observă o inflexiune a curbei pe porțiunea de rupere. Aceasta e cauzată de ruperea în doi timpi a plăcuțelor, în zona găurii pentru șurub.

În figura 1.25 se observă că alungirea implantului până la rupere scade odată cu creșterea numărului de cicluri la care este supus implantul, însă această scădere nu este semnificativă. Astfel pentru un implant supus la 500 cicluri deformația până la rupere scade cu aproximativ 1 mm.

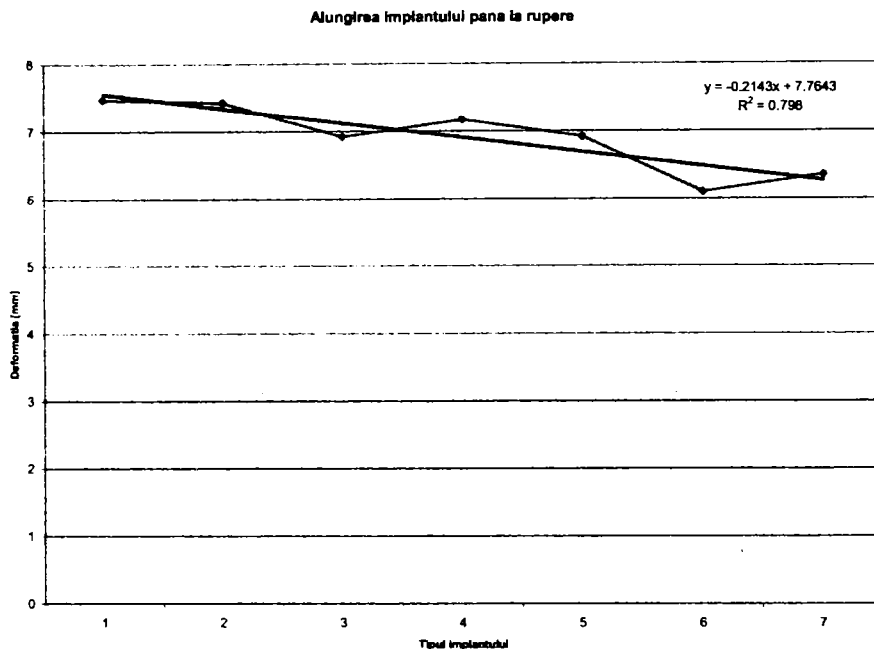


Fig. 1.25 Alungirea implantului până la rupere

În figura 1.26 se observă că odată cu creșterea numărului de cicluri forța maximă de rupere scade, acest lucru fiind datorat oboselii materialului.

În tabelul 1.7 sunt sistematizate solicitările la care au fost supuse implantele și rezultatele obținute.

Tabelul 1.7 Sistematizarea valorilor experimentale

Proba	Forța maximă	Deplasarea la forța maximă	Viteza de coroziune
Martor 1	369,9	7,47	-
Martor corodat	371,1	7,42	4,653
100 cicluri	349,9	6,92	19,030
200 cicluri	348,1	7,17	52,550
300 cicluri	351,2	6,92	63,940
400 cicluri	352,2	6,10	68,250
500 cicluri	340,6	6,35	-

Analizând datele din tabel, se pot trage următoarele concluzii:

În cazul de față, coroziunea nu influențează în mod semnificativ forța de rupere, valoarea acesteia fiind aproximativ aceeași în cazul implantului necorodat (1) și a celui corodat (2) (1.2 N).

Solicitările ciclice au în schimb o influență destul de mare asupra vitezei de coroziune, ducând la creșterea acesteia.

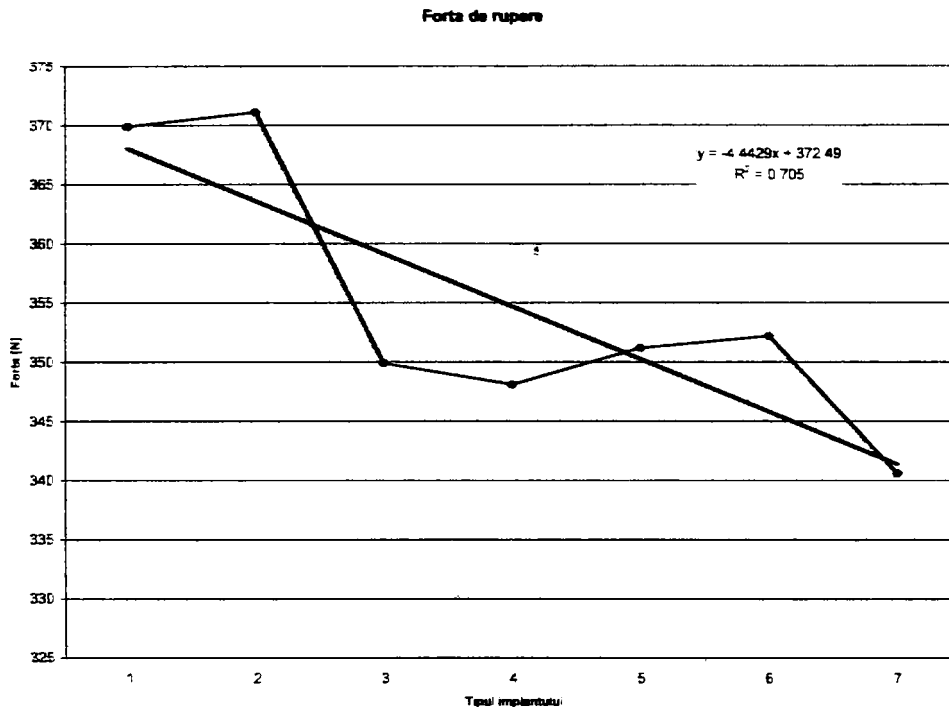


Fig. 1.26 Variația forței de rupere

1.5. Concluzii

Capitolul I al tezei conține o trecere în revistă a principalelor proprietăți chimice, fizice și mecanice ale titanului și ale câtorva dintre aliajele sale.

Ti și aliajele sale prezintă o stabilitate chimică deosebită, datorată formării pe suprafața sa a unui strat de oxizi și suboxizi de Ti, dintre care cel mai important este TiO_2 . Prezența acestui strat și particularitățile lui influențează în mod decisiv comportamentul implantului.

Proprietățile fizice și mecanice ale Ti și aliajelor sale sunt de asemenea de excepție. Adăugând la toate acestea largă răspândire în scoarță și elaborarea unor metode industriale relativ simple de obținere a Ti și a aliajelor lui, acesta devine foarte competitiv în realizarea de implante chirurgicale, aplicațiile găsindu-și justificare atât din punct de vedere medical, cât și economic.

O contribuție personală constă în abordarea complexă a studiului comportamentului implantelor din Ti, supuse simultan atât la un număr relativ redus de solicitări ciclice, cât și la coroziune, situație similară celei întâlnite în cazul tipului de implant luat în studiu (PD6).

Concluzia rezultată este că solicitările ciclice duc doar la creșterea vitezei de coroziune și nu influențează în mod semnificativ proprietățile mecanice ale implantului.

CAPITOLUL II

INTERFAȚA METAL – MEDIU BIOLOGIC

2.1. Răspunsul materialului la acțiunea mediului biologic

Suprafața unui solid în contact cu un mediu gazos sau lichid reprezintă un element de discontinuitate la nivelul fazei condensate. Atomii și moleculele localizate pe suprafață sunt într-un mediu electronic intens neomogen, formând o interfață cu o energie relativ ridicată, deoarece atomilor plasați pe suprafața metalului le lipsesc o parte din legăturile cu atomii metalici vecini, prezentând o reactivitate crescută față de mediu [57], [58], [86].

Din punct de vedere termodinamic, suprafața tinde întotdeauna să-și minimizeze energia la nivelul interfețelor, stabilizând astfel întreg sistemul. Această stabilizare se poate realiza practic pe mai multe căi, în funcție de situația existentă: poziția atomilor se poate schimba comparativ cu structura cristalină a materialului vrac, pentru câteva straturi atomice exterioare (cel mai frecvent patru-cinci); atomii de la suprafață își pot modifica aranjamentul (se pot rearanja); compoziția chimică la nivelul suprafeței unui material compus din mai multe elemente se poate schimba, prin depleția sau îmbogățirea preferențială în anumite componente sau impurități; sau suprafața se poate contamina prin absorbția unor molecule organice, ceea ce ar avea ca efect reducerea energiei interfaciale.

O caracterizare atentă a suprafeței titanului este importantă pentru că permite o mai bună înțelegere a legăturilor ce există între comportamentul biologic (*in vitro* și *in vivo*) și proprietățile probei sau ale instrumentului testat [57], [95].

Din punct de vedere chimic, titanul prezintă o rată mare de pasivare și repasivare, pe un interval mare de pH, prin formarea de oxizi și suboxizi cu un grad de solubilitate foarte redus [97]. El este capabil să formeze mai mulți oxizi stoechiometrici sau non-stoechiometrici, cum ar fi TiO , Ti_2O_3 , Ti_3O_5 , și TiO_2 , care este cel mai stabil din punct de vedere termodinamic. Structura acestui strat oxidic este foarte complicată. Foarte important pentru schimbul dintre implantele și restaurările din titan și mediul în care se implantează, este acest strat de oxizi și nu metalul în sine. Din acest motiv, în cursul prelucrării titanului sau aliajelor sale nu se execută operații ce ar putea împiedica formarea acestui strat izolanț.

Dioxidul de titan TiO_2 cel mai stabil oxid de titan; se întâlnește în natură sub formă de minerale, denumite *rutil*, *anatas* (în cristale tetragonale) și *brookit* (în cristale rombice). Măsura stabilității unei legături chimice este entalpia liberă de formare G°_f , cele mai stabile legături având valorile cele mai mici. Entalpia liberă de formare a rutilului este de 853.3 kJ/mol la temperatura camerei. Această valoare este depășită de foarte puține legături. Rutilul fiind din punct de vedere termodinamic cel mai stabil oxid titanic, rezultă că anatasul și brochitul se vor transforma în rutil prin aport de energie.

Deși are o pasivitate chimică relativ crescută, dioxidul de titan poate fi redus la numeroase faze nestoechiometrice. Cele mai importante sunt fazele Magneli Ti_nO_{2n-1} ($4 < n < 9$), oxizii Ti_3O_5 și Ti_2O_3 , precum și faza nestoichiometrică TiO_x ($0,7 < x < 1,3$). Fazele Magneli sunt formate din plăci cu structură asemănătoare rutilului, care au o grosime de $n TiO_6$ -octaedri. Plăcile au noduri sau laturi comune, economisind astfel atomi

de oxigen. Majoritățile fazelor Magneli le corespund transformări de benzi de semiconductori, Ti_4O_7 prezentând la temperatura camerei proprietăți metalice.

Oxidul Ti_3O_5 , de culoare negru-albăstruie, poate fi redus cu hidrogen la temperatura de 900°C, la TiO_3 . La 175°C trece de la semiconductor la conductor.

Ti_2O_3 se obține din Ti și TiO_2 la 1600°C. Este vorba de un material violet închis cu o relativă inerție chimică, sensibil numai față de acizii oxidanți. Tot din Ti și TiO_2 se obține și TiO ; formula înșeală, fiind vorba de un compus nestoichiometric, de culoarea bronzului și foarte oxidabil. Structura corespunde unei rețele de NaCl modificate, multe noduri din rețea rămânând libere.

Oxigenul este solubil în Titan până la o concentrație de $TiO_{0,5}$; atomii de oxigen ocupă octaedrii liberi din rețeaua cubică centrată intern, existența fazelor Ti_6O , Ti_3O și Ti_2O putând fi demonstrată cristalografic. Probabil că toate aceste faze suboxidice conțin un procent ridicat de legături metal-metal [65], [93], [147].

Caracteristicile stratului de oxid de pe suprafața Ti pur, **la temperatura camerei**, pot fi rezumate astfel (figura 2.1):

- Un film de oxid de natură amorfă sau microcristalină având de obicei grosimea cuprinsă între 3-7 nm, compus în special din cel mai stabil oxid al Ti, anume TiO_2 ;
- O interfață Ti/ TiO_2 caracterizată de un raport O : Ti care variază gradual de la 2:1 în cazul TiO_2 până aproape de zero în cazul metalului vrac;
- Hidroxidul și apa chemosorbite, legate puternic de suprafața exterioară. Proprietățile acestui strat depind în bună măsură de condițiile în care a fost pregătită suprafața probei. În plus mai poate exista un strat de apă adsorbită fizic pe suprafață;
- Stratul situat la limita exterioară constă fie din specii organice adsorbite (cum ar fi hidrocarburile) fie din compuși organometalici (alcoxizi sau carboxilați de titan), a căror concentrație depinde nu doar de cât de bine a fost pregătită în prealabil suprafața metalului, ci și de timpul de expunere la acțiunea mediului;

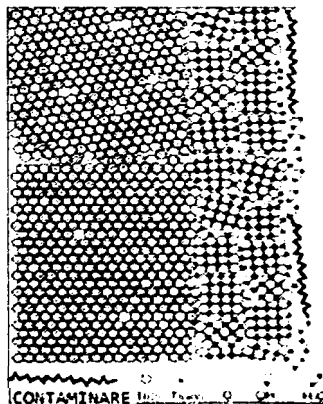


Fig. 2.1 Structura straturilor de oxizi ce iau naștere pe suprafața Ti, la temperatura camerei

Caracteristicile stratului de oxid **de pe suprafața implantelor chirurgicale** (înainte de utilizarea lor clinică) sunt diferite de cele ale suprafețelor de referință produse în condiții de laborator.

În acest caz se folosesc mostre de Ti CP preparate în condiții identice cu cele utilizate în confecționarea implantelor: lustruire mecanică, curățare prin ultrasonare în baie de solvenți organici și sterilizare, după procedeele utilizate de producător.

S-a demonstrat că în această situație, suprafața constă dintr-un strat subțire de oxid (3-6 nm) acoperit cu un strat de contaminare constând din molecule organice cu conținut de C și H și mici cantități de contaminanți anorganici, cum ar fi ioni de Ca, Cl, S, P și Na.

Grosimea stratului de oxid, precum și tipul respectiv gradul de contaminare, depind într-o mare măsură atât de procedeele alese pentru tratamentul suprafeței cât și de modul în care a fost manipulat implantul. Procedul de sterilizare are de asemenea o importanță deosebită. Spectroscopia de raze X a pus în evidență prezența mai multor tipuri de straturi de suprafață, ce pot avea compoziții chimice variate. Acestea pot conține fie un strat subțire de oxid de titan acoperit de un film de contaminanți ce conțin hidrocarburi (similar cazului discutat mai sus) fie o concentrație crescută de compuși ai siliciului cu carbonul și oxigenul [100].

Ca toate straturile de oxizi ale aliajelor nenobile și cel al titanului este sensibil la solicitarea de forfecare dezvoltată în cursul mișcărilor, dar există și metode adecvate pentru stabilizarea stratului de oxizi: electrochimice (anodizare) sau transformare chimică de fază, completate de colorări oxidative.

S-a insistat asupra chimiei oxizilor din titan datorită importanței acestora în decursul prelucrării titanului, dar și asupra integrării tisulare a implantelor din titan [64], [97]. Astfel, dacă nu se aleg instrumentele adecvate de manipulare a implantelor sau dacă acestea nu se utilizează în mod necorespunzător, se creează condiții pentru apariția fazelor de oxizi. La inserarea unui implant din titan se recomandă utilizarea unor instrumente cu parte activă tot din titan.

2.2. Modificarea proprietăților fizico chimice ale filmului de oxid de titan în contact cu electroliții și fluidele corporale

S-a demonstrat că interacțiunea dintre biomaterial și mediul biologic are loc într-o interfață îngustă, de aproximativ 1 nm [97]. Cu toate acestea este evident că interfața oxid de titan / fluide biologice este cea mai relevantă în ceea ce privește utilizarea titanului în domeniul biomedical. În profida acestui interes major, din păcate există puține informații referitoare la ea.

În general, tipurile de procese care au loc la nivelul interfeței oxid de titan/mediu biologic sunt următoarele:

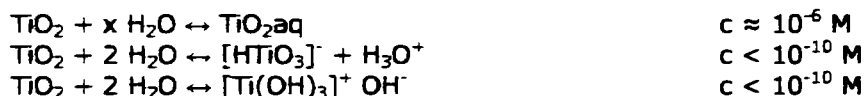
1. Hidratarea filmului de oxid : chiar dacă prezența hidroxizilor și a apei chemosorbite a fost pusă în evidență pe suprafața filmului de oxid de titan și în cazul expunerii la aer, hidratarea acestei suprafețe nu este completă și depinde de tratamentul anterior la care a fost supus materialul. Prin urmare după introducerea implantului în organismul uman este posibilă o hidratare suplimentară a suprafeței.

2. Dizolvarea și creșterea filmului de oxid sunt procese competitive; în profida naturii aparent pasive a filmului de oxid, el are o mare influență asupra cineticii dizolvării și eliberării pasive a speciilor chimice rezultate din coroziunea titanului [72].

3. Reacțiile acidobazice se produc imediat după ce metalul intră în contact cu apa și electroliții, cu formarea unor sarcini electrice la nivelul interfeței. Semnul și concentrațiile acestor sarcini depind de tipul și concentrațiile hidroxizilor prezenți pe suprafață. Sarcinile prezente pe suprafață mai influențează și interacțiunea dintre ioni sau molecule cu sarcini parțiale (proteine). De asemenea s-a mai demonstrat că interacțiunile dintre osteoblaste și procesul de formare a țesutului osos (atașare, modificări morfologice și mineralizare) sunt influențate de sarcina electrică a suprafeței.

4. Interacțiunea oxidului metalic cu ionii anorganici conținuți în fluidele corporale, cum ar fi calciul și fosfații, poate modifica în timp proprietățile suprafețelor.

La o valoare a pH-ului de 7, apropiat de cel prezent în mediile biologice, sunt posibile următoarele reacții:



În care c reprezintă concentrația și M numărul de moli

În aceste condiții, filmul de TiO_2 prezintă o ușoară sarcină negativă. Constanta dielectrică relativă a TiO_2 este apropiată de cea a apei [100].

$$\begin{array}{l} \epsilon_{\text{apă}} = 40 - 110 \\ \epsilon_{\text{util}} = 78 \end{array}$$

Prin urmare, suprafața Ti nu interacționează puternic cu proteinele din matricea extracelulară și nici nu le denaturează.

Topografia suprafeței poate avea un rol cel puțin la fel de important ca proprietățile chimice ale materialului. Prin urmare, elaborarea unor metode standardizate și cât mai apropiate de mediile biologice în care funcționează implantul devine imperativă. Dificultățile în elaborarea acestor metode se leagă de multifactorialitatea corelațiilor dintre suprafața cercetată, culturile celulare, animalele folosite în studiile experimentale și datele clinice obținute.

În figura 2.1 sunt reprezentate principalele interdependențe ce iau naștere între suprafața implantului și mediul biologic în care acesta funcționează:

Primul eveniment ce se produce imediat după implantarea metalului sau a altor biomateriale este absorbția proteinelor. Acestea provin în primul rând din sânge și fluidele înconjurătoare și ulterior din activitatea celulară din regiunea periprostetică. Odată ajunse pe suprafață, proteinele pot să se desoarbă (native sau denaturate, intacte sau fragmentate) sau să rămână in situ, mediind astfel interacțiunile țesut – implant. Se pare că această primă etapă are o importanță foarte mare în ceea ce privește reacția ulterioară a gazdei.

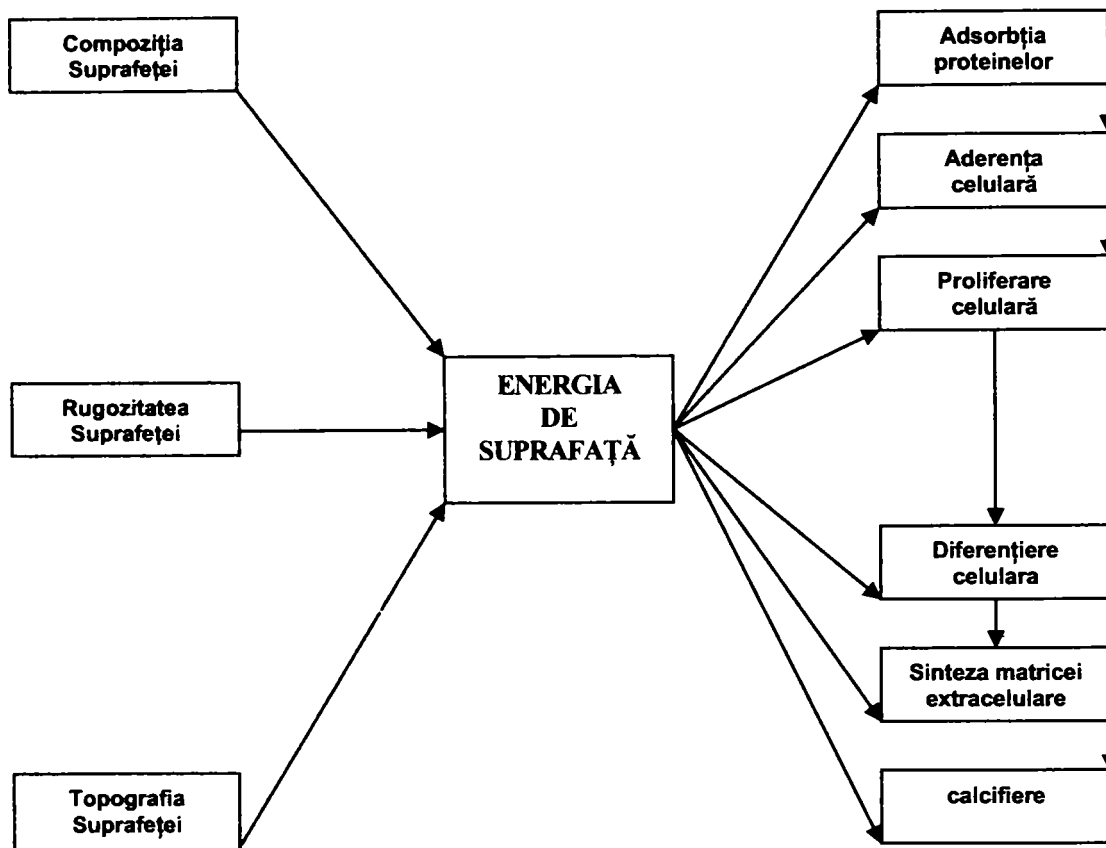


Fig. 2.1. Principalele procese care apar la nivelul interfeței

În plus față de absorbția proteinelor, pe suprafața implantelor se mai pot produce și alte modificări importante, cele mai multe de natură oxidativă. Stratul de oxid de pe suprafață poate să crească semnificativ în grosime, dar și să încorporeze Ca, P și S.

Creșterea continuă a grosimii acestuia reflectă existența unor procese electrochimice care se produc la interfața implant – mediu biologic. Producții de coroziune se pot acumula local, sau pot difuza sistemic. În unele situații, în cazul pacienților cu implant s-a observat o creștere vizibilă a concentrației metalelor atât în țesutul periprostetic, cât și în urină. De exemplu, în membranele fibroase ce încapsulează implantul au putut fi decelate niveluri de până la 21 ppm Ti, 10.5 ppm Al și 1 ppm V, în cazul unui implant confecționat din Ti6Al4V și de până la 2 ppm Co, 12.5 ppm Cr și 1.5 ppm Mo în jurul unui implant de tip CoCrMo. Chiar dacă aceste microelemente sunt importante pentru sănătate, în concentrații prea mari ele devin toxice, putând cauza reacții de hipersensibilitate și chiar dezvoltarea cancerului.

2.3. Interacțiunea proteine-suprafață

Comportamentul proteinelor la nivelul suprafeței joacă un rol extrem de important în determinarea naturii interfeței țesut-implant. Proteinele absorbite pe suprafața acestuia pot afecta coagularea sângelui, activarea complementului și adeziunea celulară sau bacteriană. Mai mult decât atât, proteinele adsorbite pot influența și proprietățile, respectiv degradarea biomaterialului.

Activitatea proteinelor la nivelul suprafeței implantului se corelează în special cu structura lor primară, prin urmare secvența de aminoacizi poate afecta natura interacțiunilor proteină-suprafață. Se pare ca moleculele de mari dimensiuni sunt cele mai reactive, deoarece sunt capabile să pună la dispoziție mai multe puncte de contact cu suprafața. De exemplu o moleculă de albumină, având masa moleculară de 67 kDa (kilo Daltoni, unitate de măsură pentru masa moleculară în cazul polimerilor) poate prezenta 77 puncte de contact, iar fibrinogenul, având masa moleculară de 340 kDa, formează 703 puncte de contact per moleculă.

Dimensiunea moleculei nu este singurul element determinant, deoarece hemoglobina, chiar dacă are doar 65 kDa, prezintă o activitate de suprafață mult mai mare decât fibrinogenul.

Datorită hidrofobicității lor, aminoacizii purtători de sarcină electrică sunt localizați în general pe partea exterioară a proteinelor și sunt predispuși la interacțiunea cu suprafețele. Prin urmare și sarcina, respectiv distribuția ei, poate influența adsorbția proteinelor. Este interesant de subliniat și faptul că proteinele prezintă o activitate de suprafață mai mare în jurul punctului izoelectric pI (pH la care proteinele au sarcina zero). Acest fenomen se explică prin faptul că moleculele proteice nu interacționează doar cu suprafața. De exemplu, 1 ml de soluție conținând 1 mg de proteine cu masa de 50 kDa vor conține aproximativ 10^{13} molecule. Un număr așa de mare de molecule vor interacționa nu doar cu suprafața, ci și între ele (interacțiuni laterale). La punctul izoelectric, fenomenul de respingere electrostatică dintre moleculele lipsite de sarcină electrică este mult mai redus, permițând unui număr mai mare de proteine să interacționeze între ele. O a doua explicație se referă la alterarea structurii proteice provocată de modificările sarcinilor electrice ale aminoacizilor componenți. În această situație, cu suprafața vor interacționa alți aminoacizi, prin urmare va fi afectat și modul în care proteina se leagă la suprafață.

Deplierea proteinelor afectează de asemenea procesul de adsorbție. Prin depliere sunt expuse mai multe puncte active ce pot funcționa ca puncte de contact cu suprafața, prin urmare rezultând o suprafață activă mai mare. Acest fenomen se observă în special la proteinele mai puțin stabile, cum ar fi hemoglobina S [12], [16].

2.4. Investigarea filmelor de oxid de Titan de pe suprafața implantelor recuperate

Diferitele etape ale interacțiunilor chimice și biochimice care se produc în prima fază a expunerii suprafeței de oxid de Ti la acțiunea mediului biologic sunt reprezentate schematic în imaginile de mai jos (figurile 2.3 – 2.6). Chiar și în această reprezentare simplificată se observă că este vorba de procese în cascadă sau simultane, care se influențează reciproc [152].

În literatura de specialitate există numeroase studii referitoare la anumite particularități ale implantelor recuperate din corpul pacienților, axate în special pe caracteristicile țesuturilor adiacente implantelor, comportamentul straturilor interfaciale, particulele de uzură, contaminare prin procese de fabricație sau sterilizare, etc [16].

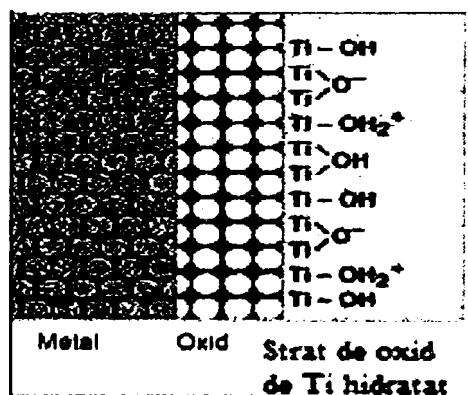
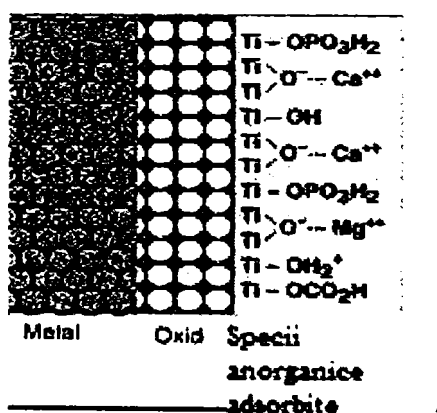
Fig. 2.2 Hidroxilarea și hidratarea filmului de TiO_2 în contact cu soluții apoase

Fig. 2.3 Adsorbția cationilor și a anionilor din fluidele corporale (în special calciu și fosfat)

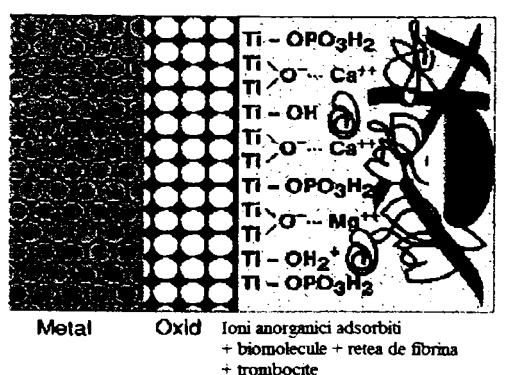


Fig. 2.4 Adsorbția biomoleculelor (proteine, glicoproteine, lipoproteine, proteoglicani, polizaharide), aderența trombocitelor, formarea rețelei de fibrină în contact cu sângele

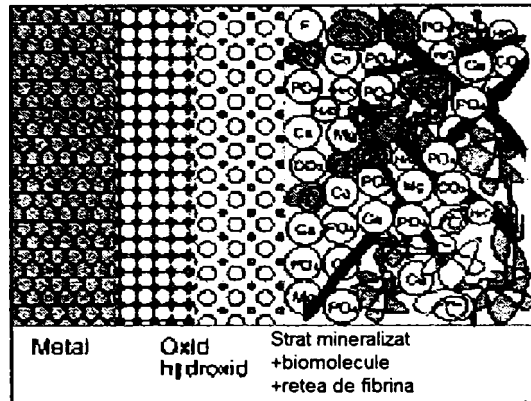


Fig. 2.5 Modificări ulterioare ale suprafeței: creșterea stratului de oxid/hidroxiid (poros, gelatinos) și coprecipitarea fosfaților de calciu împreună cu alte specii (magneziu, carbonat, fluoruri) prezente în fluid. Reacții de schimb și reorganizarea stratului proteic ("biofilm")

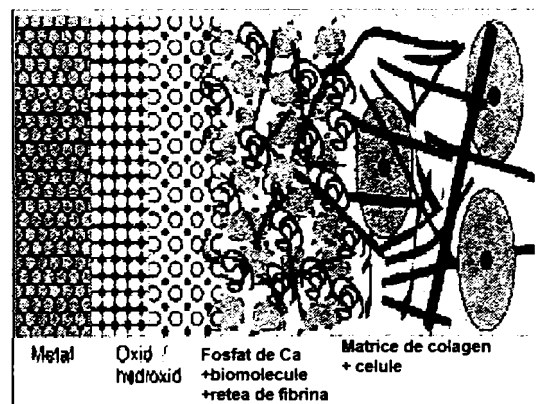


Fig. 2.6 Formarea arhitecturii interfeței pe parcursul activității celulare: depunerea matricei extracelulare, formarea rețelei de colagen, mineralizarea acesteia

În cazul unor implante subcutanate recuperate după 9 săptămâni respectiv 6 luni de la implantare, s-a demonstrat că suprafața constă dintr-un strat de TiO_2 acoperit cu un strat proteic cu o grosime de 6-9 nm. Tăria legăturii stratului organic a fost investigată prin expunere la electroliți având diferite valori ale pH-urilor și ale potențialelor redox [58], [61], [62].

Implantele recuperate din osul cortical nu au prezentat modificări semnificative ale grosimii stratului de oxid, în timp ce în cazul celor medulare s-a observat o creștere a stratului de oxid de 3-4 ori.

Încorporarea ionilor de calciu și de fosfat în stratul de oxid a fost observată în cazul implantelor localizate în osul cortical și medular, nu și în cazul celor recuperate din țesuturile moi.

Un studiu efectuat asupra unor implante stomatologice recuperate de la pacienți ca urmare a osteointegrării deficitare, a evidențiat pe suprafața acestora unele elemente specifice (Pb, Zn, Sn), absente în mod normal [6].

Concentrațiile relativ mari de Ti măsurate în țesuturile peri implant nu pot fi explicate doar pe baza reacțiilor Titanului în mediu apos [123]. Prin urmare în acest caz intervin alte cauze, unele provocate de uzura mecanică și altele activate de intermediarii oxidici.

Superoxidul O_2^- este produs de granulocitele polimorfonucleare pe parcursul proceselor inflamatorii în concentrații de $1 \text{ nmol/min}/10^7$ celule. Sub acțiunea catalitică a superoxid dismutazei (SOD) acesta este transformat în peroxidul de hidrogen (H_2O_2), care este un oxidant puternic. În urma reacției dintre TiO_2 și peroxidul de hidrogen poate lua naștere peroxidul de Titan TiO_2^{2-} și superoxidul de Titan TiO^{2-} . Descompunerea compușilor peroxidici duce la formarea unor sechestre locale de TiO_2 , $TiOOH$ și H_2O_2 .

$TiOOH$ fost pus de multe ori în evidență în capsula fibroasă din jurul unor implante respinse.

2.5. Capacitatea de umezire (hidrofilia)

Energia liberă de suprafață γ (sau hidrofilia) este un parametru important al aderenței celulare. În general se acceptă faptul că valoarea mare a energiei libere de suprafață a suprafețelor hidrofile încurajează adeziunea, deoarece energia necesară adeziunii este disponibilă fără probleme în acest caz [45], [122].

Studiile privind hidrofilia suprafețelor Nitinolului au demonstrat că unghiul de contact și energia liberă de suprafață pot fi afectate în mod sensibil în urma sterilizării. (figura 2.7 a, b; figura 2.8) [170].

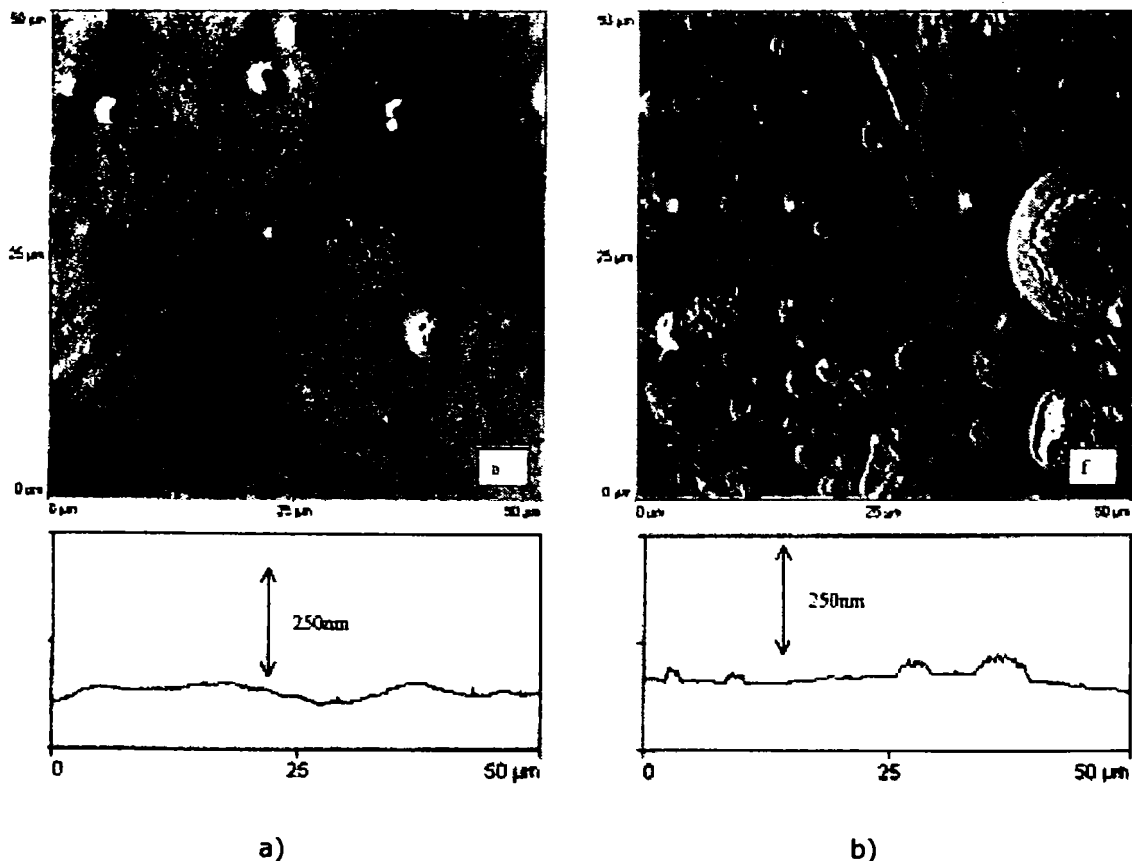


Fig. 2.7 Rugozitatea Nitinolului, înainte (a) și după sterilizarea cu oxid de etilenă(b)

Suprafața lustruită electrochimic prezintă pentru apă un unghi de contact de $67,4^{\circ}$ care corespunde unei valori a energiei libere de $36.1 \times 10^{-3} \text{ N/m}$, evidențiind un caracter hidrofob al suprafeței. Toate celelalte suprafețe, cu excepția celei sterilizate cu oxid de etilenă (EtO) sunt hidrofile ($\gamma > 50 \times 10^{-3} \text{ N/m}$).

Suprafețele lustruite electrochimic favorizează aderența și multiplicarea fibroblaștilor cu până la 50%, se pare datorită naturii hidrofobe a suprafeței ($\gamma = 36 \times 10^{-3} \text{ N/m}$).

Prin urmare, se poate trage concluzia că în urma sterilizării pot rezulta suprafețe noi, cu un impact biologic necunoscut [133].

Procedeele de sterilizare de tipul radiațiilor γ sau fasciculelor de electroni, utilizate în special pentru masele plastice, pot afecta de asemenea calitatea suprafețelor. Sterilizarea prin radiații γ a aliajelor pe bază de Ti poate avea ca efect o creștere a solubilității metalului [154], [155] [156], [157].

Expunerea la acțiunea fasciculelor de electroni, în special la temperaturi joase, poate afecta rezistența la coroziune într-un mod nedorit, datorită activării suprafeței.

2.6. Reacția gazdei la acțiunea biomaterialelor metalice

Reacția gazdei la acțiunea implantului implică o serie de evenimente la nivelul matricei extracelulare, culminând, în situația ideală, cu osteointegrarea implantului [78].

Pornind de la reacțiile ce au loc la nivelul interfețelor, materialele pot fi clasificate în toxice, biologic inactive (inerte) și bioactive sau resorbabile.

Materialele toxice nu se utilizează pentru confecționarea implantelor.

Biomaterialele metalice sunt incluse în categoria materialelor quasi inerte. Datorită proprietăților mecanice bune, se utilizează pentru confecționarea implantelor ce lucrează la încărcări mecanice relativ mari [2], [18], [19], [119].

Osteoliza, resorbția osoasă și formarea unei capsule fibroase groase între os și implant reflectă o biocompatibilitate redusă [103].

Biocompatibilitatea materialului implantat este în strânsă legătură cu reacțiile ce rezultă din interacțiunea dintre suprafața biomaterialului și reacția inflamatorie a gazdei. La aceasta contribuie mai mulți factori. Unii dintre ei, cum ar fi starea generală de sănătate, vârsta, gradul de perfuzie tisulară, factorii imunologici, sunt caracteristici ale individului, iar alții, cum ar fi rugozitatea, porozitatea, reacțiile chimice de pe suprafață, viteza de coroziune și toxicitatea elementelor metalice prezente în aliaj, țin de material.

Reacția inflamatorie mai poate fi declanșată și de particulele de uzură provenite din materiale non toxice, dar care au o anumită dimensiune. Aceste particule pot provoca activarea fagocitelor, declanșând astfel eliberarea de citokine, proteinaze, sau alți mediatori ai inflamației, ducând astfel la dezvoltarea unei inflamații cronice, însoțite de osteoliză și osteoporoză [25], [26], [27].

În cazul pierderii aseptice a implantului, aceste particule de uzură pot duce la formarea, între prosteză și os, a unei interfețe membranare de tip sinovial, slab vascularizată.

Răspunsul individual al fiecărei celule depinde de cât de bine reușește materialul folosit să reproducă mediul ei natural (extracelular). Agenții bioactivi eliberați din celulă pot ataca suprafața implantului.

Structura fizică a suprafeței are o influență mai redusă asupra răspunsului biologic al materialului, deoarece acesta se prezintă non toxic și nu eliberează nici o substanță biologic activă. Ea intervine în special în cazul absorbției proteinelor plasmatică. După implantare, are loc un proces de coagulare și vascularizare. În prima etapă, implantul este acoperit cu un cheag ce conține leucocite, eritrocite și proteine de coagulare. Implantul și trauma chirurgicală declanșează o reacție inflamatorie care elimină din zonă țesutul lezat, cheagul și bacteriile. Celulele inflamatorii, în prima etapă granulocitele plimorfonucleare apoi monocitele, îndepărtează debrisul și materialul străin. În etapa ulterioară intervin și macrofagele. În cazul unui proces inflamator prelungit, enzimele provenite de la macrofagele activate pot determina fibroblaștii să sintetizeze o capsulă fibroasă în jurul implantului. Atât timp cât activarea macrofagelor este menținută, are loc procesul de îngroșare a membranei fibroase [129].

2.7. Concluzii

Capitolul II al tezei abordează problematica interfeței titan – mediu extern, conținând oxizi și suboxizi ai Ti. Chiar dacă grosimea unei interfețe formate în mod spontan nu depășește valoarea de 3-6 nm, la nivelul ei au loc un număr foarte mare de reacții chimice și fizice. Natura și comportamentul acestei suprafețe prezintă o importanță deosebită, putând condiționa evoluția în timp a implantului.

O contribuție personală în această direcție a fost determinarea modului în care metoda de sterilizare aleasă poate influența gradul de aderență celulară, pe diverse plăcute din Ti, Ti anodizat și Ti acoperit cu hidroxiapatită, prin metode electrochimice. Concluzia rezultată, discutată mai pe larg în cadrul capitolului V, este că sterilizarea cu etilen oxid este metoda cea mai bună, favorizând aderența celulară pe toate probele evaluate.

Studiul proceselor fizice, chimice și biochimice care iau naștere la acest nivel este în continuare un subiect deschis și o provocare la adresa cercetătorilor. Din păcate dimensiunea extrem de redusă a interfeței, precum și complexitatea fenomenelor ce iau naștere la nivelul ei, cer elaborarea unor metode de studiu noi, mai sensibile și eficiente

CAPITOLUL III

COROZIUNEA IMPLANTELOR METALICE

3.1. Noțiuni generale legate de coroziune

Definiții:

Coroziunea este interacțiunea fizico-chimică dintre un metal și mediul său înconjurător, care conduce la modificarea proprietăților materialului și deseori la degradarea funcțională a acestuia, a mediului său înconjurător sau a sistemului constituit din cei doi factori [11], [42].

Coroziunea electrochimică este coroziunea care implică cel puțin o reacție anodică și una catodică [14].

Din punct de vedere al coroziunii, sistemele biologice prezintă multe particularități.

Fluidele corporale pot fi echivalate cu o soluție aerată conținând NaCl 0,9% (113 mEq/l), cu mici cantități de alte săruri sau compuși organici. Ele mai conțin și cantități variate de aminoacizi și proteine ce pot influența coroziunea metalelor. Oxigenul dizolvat în sânge poate accelera și el procesele de coroziune. pH-ul este situat în jurul valorii de 7,4. Variațiile lui sunt mici, datorită sistemelor tampon. El poate înregistra mici creșteri locale, adiacente ariei implantului, datorită răspunsului inflamator, facilitând astfel apariția speciilor reactive de oxigen (ROS).

Celulele prezintă și o sarcină electrică proprie, ce poate accelera procesele de coroziune prin mecanisme electrochimice [47].

Toxicitatea produșilor de coroziune poate să crească semnificativ prin combinarea acestora cu biomoleculele organismului [111], [116].

3.2. Coroziunea prin frecare

Chiar și în cazul Ti și al aliajelor sale, se pot întâlni probleme legate de stabilitatea chimică și mecanică. Acestea au fost atribuite de cele mai multe ori unei acțiuni conjugate de atac chimic și mecanic, așa numita coroziune prin frecare *fretting corrosion* [73], [99].

Coroziunea prin frecare este o formă de uzură caracterizată prin deplasări de mică amplitudine, de obicei mai mici de 100 μm.

În general coroziunea prin frecare este considerată responsabilă pentru cea mai mare parte din cantitatea de metal eliberat în țesuturi. Ea este cauzată de microdeplasările ce se produc la nivelul interfeței os/implant [12].

Particulele de uzură produse prin abraziune apar în special în vecinătatea protezelor articulare și a implantelor cu o anumită mobilitate, de exemplu proteza totală de șold, necimentată. Aceste particule induc reacții tisulare multiple, cum ar fi osteoliza, degradarea structurii osoase normale, reacții severe ale macrofagelor, granulom, formarea capsulei fibroase și inflamația cronică, producând astfel, în timp, destabilizarea și pierderea protezei sau a implantului. Mărirea particulelor și compoziția lor sunt esențiale în acest proces.

Intensitatea fenomenului depinde de mai mulți factori. Acțiunea simultană a mecanismelor de degradare mecanice și electrochimice

(tribocoroziune) are o importanță crucială. Cei mai importanți factori mecanici implicați sunt presiunea de contact, amplitudinea alunecării la nivelul interfeței și de frecvența mișcărilor.

Cel mai important dintre factorii chimici este prezența stratului pasiv de oxid de pe suprafața implantului. Îndepărtarea lui periodică, chiar dacă este urmată de repasivare, duce la o creștere semnificativă a vitezei de coroziune și la formarea fragmentelor de uzură.

Responsabil de fenomenul de coroziune este lichidul extracelular care înconjoară implantul. În funcție de condițiile existente, proteinele conținute în acesta pot acționa fie în mod favorabil, ca un lubrifiant, fie nefavorabil, ca un agent de chelare care se leagă de ionii metalici, grăbind astfel procesul de coroziune.

3.3. Difuzia pasivă a ionilor metalici

Eliberarea de ioni metalici prin difuzie pasivă se poate produce (chiar în cazul unei pasivări stabile) și fără existența unui atac mecanic.

În ciuda rezistenței foarte crescute la coroziune a Ti, el este eliberat din implant și se acumulează în țesuturile adiacente acestuia.

Speciile de Ti eliberate la nivel tisular pot provoca reacții locale, ce variază între sever și moderat. Ele depind de natura chimică a particulelor metalice puse în libertate. Din acest motiv, pentru a putea anticipa comportarea implantului în mediul biologic este necesar să cunoaștem modul de eliberare și compoziția speciilor de Ti eliberate.

3.4. Aspecte electrochimice ale coroziunii

În prezența unor factori de mediu, majoritatea metalelor prezintă tendința de a forma oxizi, care sunt forma lor termodinamic stabilă. Acest fenomen chimic prezintă o importanță foarte mare [55].

Coroziunea apoasă este de natură electrochimică. Ea se caracterizează prin apariția unui curent electric fără existența unei surse exterioare, prin deplasarea unor electroni ce aparțin masei metalice [87], [114].

Ecuția lui Nernst pentru o reacție de electrod

Fie M un metal în contact cu un solvent polar, cum ar fi apa. Fiecare atom metalic poate fi considerat ca un ion ce ocupă un anumit nivel energetic stabilizat sub acțiunea mediului său înconjurător electronic și care poate fi reprezentat prin entalpia sa chimică liberă molară. Pentru acești ioni ar putea exista un nivel energetic diferit în solventul polar, stabilizat de moleculele de apă înconjurătoare și care este reprezentat de entalpia chimică molară. (figura 3.1) [13].

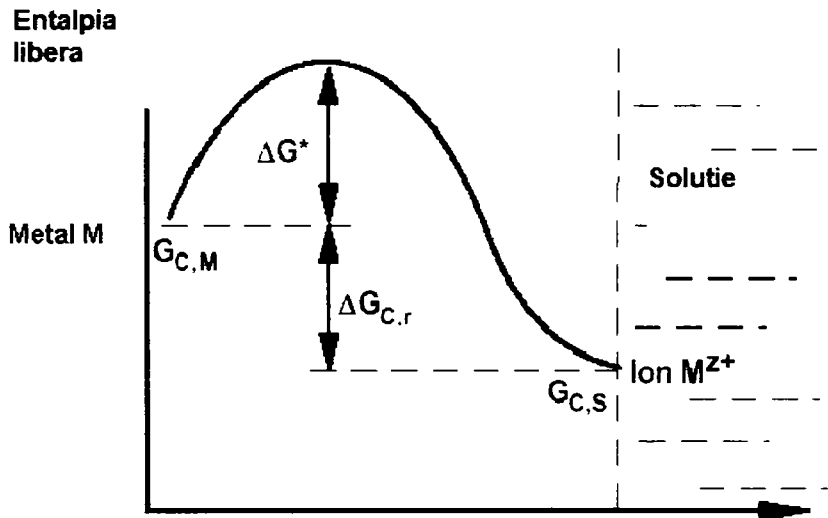
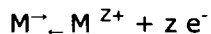


Fig. 3.1: Nivelul de energie care reflectă trecerea unui mol de metal în soluție

Datorită agitației termice, ionii metalici ar avea tendința de a trece spontan în soluție dacă ar putea depăși bariera energetică constituită de ruperea legăturilor lor electrice. Diferența dintre maximumul acestei bariere energetice și $G_{C,M}$ reprezintă **energia de activare** ΔG^* necesară trecerii metalului în soluție.

Prezența de ioni pozitivi în vecinătatea interfeței metal-apă, precum și excesul de electroni de pe suprafața metalului creează foarte rapid o barieră de potențial care are tendința de a inversa fenomenul de trecere în soluție. Se creează astfel un echilibru dinamic ce poate fi reprezentat schematic prin reacția :



Acest echilibru corespunde unui potențial E ce reprezintă diferența de potențial dintre metalul M și soluția ce conține ionii M^{Z+} . E este **potențialul reversibil** al reacției de electrod. Când acest echilibru este atins, există o egalitate în valori absolute între variația entalpiei libere chimice $\Delta G_{C,r}$ a reacției de disoluție (energia produsă de reacție) și energia electrică W_E necesară străbaterii barierei de potențial E .

La fel ca pentru o reacție chimică, entalpia liberă a unei reacții electrochimice este nulă. Energia electrică poate fi scrisă în valoare absolută :

$$W_E = zFE \quad [3.1]$$

Unde F este numărul lui Faraday (sarcina unui mol de electroni și anume 96485.3415 s A / mol)

Pe de altă parte, considerând că activitatea ionilor metalici în soluție diluată, poate fi egală cu concentrația lor, se obține :

$$G_{S,C} - G_{M,C} = \Delta G_{C,r} = \Delta G_{r,C^0} + RT \ln \frac{[M^{z+}]}{[M]} \quad [3.2]$$

Unde $\Delta G_{r,C}$ este entalpia chimică liberă standard de reacție ($[M^{z+}] = 1$) la temperatură considerată, $[M]$ este activitatea atomilor metalici din metal (egală prin definiție cu 1) și $[M^{z+}]$ concentrația ionilor metalici din soluție.

Egalând relațiile [3.1] și [3.2] pentru $[M] = 1$, rezultă:

$$zFE = \Delta G_{r,C^0} + RT \ln[M^{z+}] \quad [3.3]$$

sau:

$$E = \frac{\Delta G_{r,C^0}}{zF} + \frac{RT}{zF} \ln[M^{z+}] \quad [3.4]$$

Și înlocuind $E_0 = \frac{\Delta G_{r,C^0}}{zF}$ rezultă:

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln[M^{z+}] \quad [3.5]$$

Relația [3.3] este numită ecuația lui **Nernst pentru o reacție de electrod**.

E_0 este potențialul standard al electrodului de metal M (potențialul unui metal în echilibru cu o soluție a ionilor săi la o concentrație egală cu 1).

Pentru anumite metale numite « nobile » echilibrul în prezența apei se stabilește pentru valori ale concentrației M^{z+} neglijabile, prin urmare aceste metale pot fi considerate ca fiind inatacabile de apă.

Scara potențialelor standard de electrod

Cunoașterea și compararea potențialelor de echilibru pentru diferite reacții de electrod este foarte importantă pentru studiul coroziunii. În acest scop se măsoară potențialul de echilibru E în raport cu alt electrod (tot la echilibru) și în contact electric cu primul prin intermediul unei soluții, și care este numit electrod de referință [13], [14].

Electrodul de referință, ales în mod arbitrar, este electrodul standard de hidrogen. El este alcătuit dintr-un metal inert (platină) scufundat într-o soluție acidă normală la 25° C în care se barbotează hidrogen la presiunea de o atmosferă.

Platina este unicul donor și acceptor de electroni pentru reacția :



Celula electrochimică utilizată este reprezentată în figura 3.2:

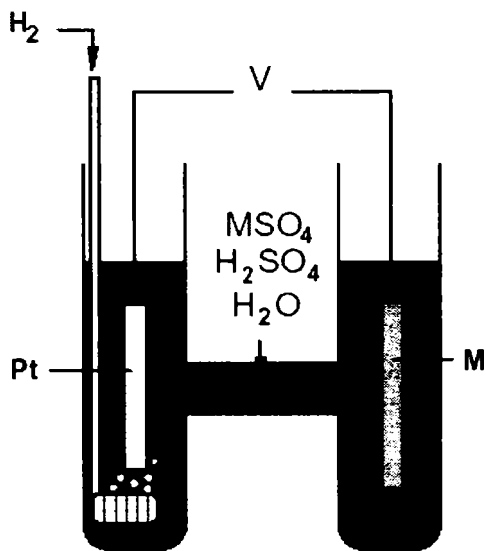


Fig. 3.2: Celulă electrochimică H_2 / M

Tensiunea V măsurată corespunde diferenței de potențial dintre metal și electrodul standard de hidrogen. Prin convenție, potențialul E_H al acestui electrod este considerat arbitrar ca fiind egal cu zero [40].

Folosind această convenție, ecuația lui Nernst poate fi reformulată astfel :

$$V = E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln[M^{z+}] \quad [3.7]$$

Valorile E_0 determinate prin această metodă pentru diferite materiale constituie **scara lui Nernst** care clasifică metalele în funcție de tendința lor de a trece în soluție la 25°C (tabelul 3.1.).

Din această scară se poate deduce că metale cum ar fi aurul, argintul sau cuprul care prezintă potențiale standard pozitive nu vor fi atacate de apă. Acestea sunt metale numite « nobile » [13].

O altă aplicație practică a scării lui Nernst este protecția unui metal cu ajutorul altuia, de exemplu cea a fierului cu ajutorul zincului, care se efectuează industrial fie printr-un procedeu numit galvanizare, fie cu ajutorul unui anod de sacrificiu pentru suprafețele foarte mari (coca navelor).

Cu toate acestea tabelul este un ghid imperfect deoarece în unele cazuri suprafața metalului se poate acoperi cu un film pasiv care are ca efect modificarea potențialului său, dând astfel metalului un caracter mai nobil.

Tabelul 3.1. Potențialele standard de electrod în raport cu hidrogenul

Echilibre	Eo la 25°C (Volți)
$Au \leftrightarrow Au^{3+} + 3e^-$	+ 1,500
$Pt \leftrightarrow Pt^{2+} + 2e^-$	+ 1,188
$Ag \leftrightarrow Ag^+ + e^-$	+ 0,799
$Hg \leftrightarrow Hg^{2+} + 2e^-$	+ 0,796
$Cu \leftrightarrow Cu^{2+} + 2e^-$	+ 0,337
$H_2 \leftrightarrow 2 H^+ + 2e^-$	0,000
$Pb \leftrightarrow Pb^{2+} + 2e^-$	- 0,126
$Sn \leftrightarrow Sn^{2+} + 2e^-$	- 0,136
$Mo \leftrightarrow Mo^{3+} + 3e^-$	- 0,200
$Ni \leftrightarrow Ni^{2+} + 2e^-$	- 0,257
$Fe \leftrightarrow Fe^{2+} + 2e^-$	- 0,440
$Cr \leftrightarrow Cr^{3+} + 3e^-$	- 0,740
$Zn \leftrightarrow Zn^{2+} + 2e^-$	- 0,763
$Al \leftrightarrow Al^{3+} + 3e^-$	-1,660

Diagramele lui Pourbaix

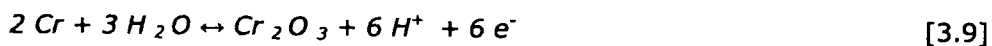
Ecuția lui Nernst [3.5], ce ne dă potențialul reversibil al unui electrod derivă din formula mai generală a potențialului de echilibru al unei reacții de oxido-reducere:

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{\prod_i [ox]^{a_i}}{\prod_i [red]^{b_i}} \quad [3.8]$$

Unde a_i și b_i reprezintă coeficienții stoichiometrici ai speciilor oxidate, respectiv reduse, iar z numărul de electroni implicați în reacție.

Numeroase reacții de electrod, în special cele ce conduc la formarea de oxizi în mediu apos, au loc sub intervenția ionilor de H^+ .

Potențialul E al unei astfel de reacții va depinde prin urmare de pH -ul soluției. Astfel, pentru oxidarea Cr în mediu apos:



Ecuția [3.6] aplicată reacției [3.7] devine:

$$E_{Cr/Cr_2O_3} = E_{0Cr/Cr_2O_3} + \frac{RT}{6F} \ln \frac{[Cr_2O_3][H^+]^6}{[H_2O]^3[Cr]^2} \quad [3.10]$$

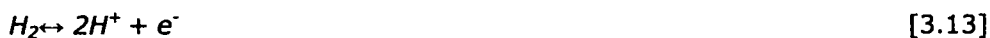
Când $[H_2O] = [Cr_2O_3] = [Cr] = 1$, relația devine:

$$E_{Cr/Cr_2O_3} = E_{0Cr/Cr_2O_3} + \frac{RT}{F} \ln[H^+] \quad [3.11]$$

La 25 °C, relația devine

$$E_{Cr/Cr_2O_3} = E_{0Cr_2O_3} - 0.059 pH \quad [3.12]$$

Și mai simplu, pentru hidrogen:



$$E_{H_2/H^+} = -0.059 \text{ pH} \quad [3.14]$$

$$E_{0H_2/H_2O} = 0 \text{ prin convenție.}$$

Iar pentru oxigen:



$$E_{O/OH^-} = 1.23 - 0.059 \text{ pH} \quad [3.16]$$

Prin urmare este posibil să reprezentăm diferitele echilibre în funcție de pH. O astfel de diagramă se numește **diagrama potențial-pH** sau **diagrama lui Pourbaix** [14].

Figura 3.3 reprezintă o astfel de diagramă simplificată potențial-pH pentru Fe. Prin convenție, această diagramă se realizează pentru o temperatură de 25 °C și pentru o concentrație de 10⁻⁶ moli/l.

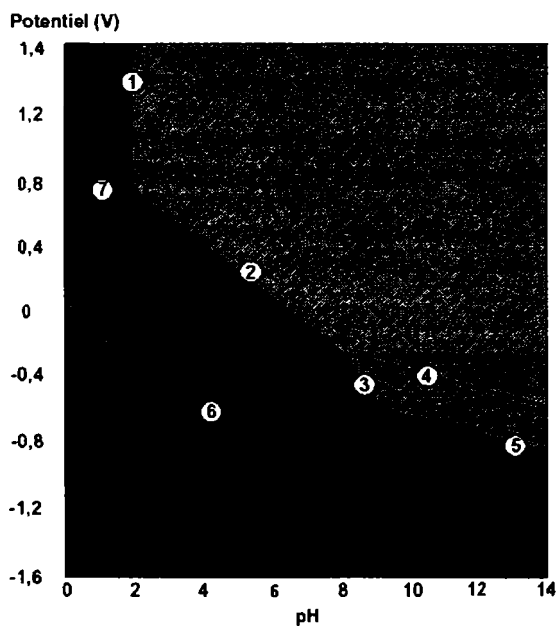


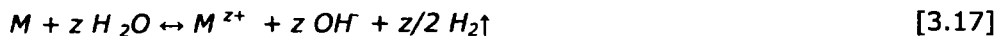
Fig. 3.3 Diagrama simplificată potențial - pH pentru fier

Se constată că într-un mediu acid sau neutru fierul poate reacționa cu protonii cu o degajare de hidrogen, în timp ce într-un mediu alcalin el rezistă mai bine la coroziune deoarece oxizii formați nu se dizolvă ușor prin reacția cu ionii de HO⁻. Această constatare este în concordanță cu practica. Într-adevăr, în mediu acid sau neutru fierul se corodează mai repede, iar în mediu bazic, rezistența sa este mai bună (de ex. în beton).

Pe diagrama din figura 3.3. sunt reprezentate două drepte, a și b. Domeniul cuprins între cele două drepte corespunde domeniului stabilității apei.

Într-o formă generală, cele două drepte delimitează trei regiuni importante:

- Toate metalele al căror potențial de echilibru, pentru o concentrație a ionilor de 10^{-6} mol/l este situat sub dreapta (a) sunt atacate de apă cu degajare de hidrogen, conform reacției:



Toate metalele ale căror potențiale de echilibru pentru o concentrație de 10^{-6} mol/l sunt situate între dreptele (a) și (b) nu sunt atacate decât în prezența oxigenului conform reacției:



Toate metalele al căror potențial de echilibru este situat sub dreapta (b) sunt termodinamic stabile.

După cum a fost deja menționat, oxizii superficiali formați pe parcursul atacului unui metal pot avea o acțiune protectoare asupra metalului subiacent. În acest caz se spune că metalul este pasivabil, filmul superficial purtând numele de film pasiv. În cazul atacului unui metal în mediu apos, la $25^\circ C$, diagramele Pourbaix permit să se definească domeniile teoretice de imunitate, de pasivare și de coroziune pentru metalul considerat, după cum se vede în figura 3.4.

Cu toate acestea, diagramele lui Pourbaix, realizate pe considerente termodinamice, dau doar informații de natură termodinamică despre stările de echilibru și posibilitățile teoretice de reacție, fără a furniza însă nici o indicație despre viteza de reacție. Acesta este obiectul cineticii electrochimice.

Cunoscând faptul că în corpul uman temperatura este de $37^\circ C$ și valoarea pH-ului în jur de 7, cu ajutorul diagramelor lui Pourbaix se poate anticipa comportamentul unui metal sau aliaj în aceste condiții și se poate concluziona dacă el se pretează sau nu pentru confecționarea de implantate.

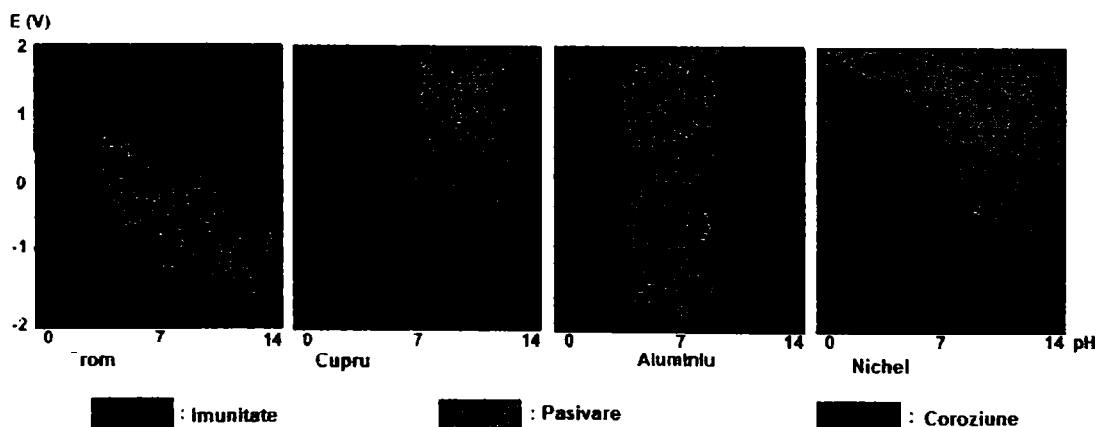


Fig. 3.4 Domeniile teoretice de imunitate, pasivare și coroziune

3.5. Cinetica electrochimică

Ecuția lui Butler-Volmer

Viteza unei reacții chimice poate fi definită ca numărul de moli ce reacționează în unitatea de timp și de suprafață a electrodului. Această cantitate s-a demonstrat a fi dificil de măsurat prin metode directe [13], [14], [87].

În cazul reacțiilor electrochimice, care implică transfer de sarcină, viteza de coroziune poate fi exprimată în termeni echivalenți unui curent:

$$J = z F v \quad [3.19]$$

Unde

J = densitatea de curent a sarcinilor : (A / m²)

z : valența metalului

F : constanta lui Faraday (96500 C / mol)

v : viteza de reacție (moli/sec)

Dacă se aplică această formulă relației ce exprimă reacția de oxido-reducere reprezentativă pentru coroziunea metalelor, se obține:



v_c definește viteza reacției catodice iar v_a pe cea a reacției anodice cărora le corespund densitățile de curent J_c și J_a (la echilibru și în valori absolute $v_a = v_c$ și $J_a = J_c$)

Vitezele de reacție sunt proporționale cu concentrațiile speciilor ce reacționează și depind de bariera de energie corespunzătoare ruperii legăturilor atomice (entalpia de activare) și urmează legea lui Arrhenius [77].

Fie pentru reacția anodică:

$$v_a = k_{Red} C_{Red} \exp\left(-\frac{\Delta G_a^*}{RT}\right) \quad [3.21]$$

Iar pentru reacția catodică:

$$v_c = k_{Ox} C_{Ox} \exp\left(-\frac{\Delta G_c^*}{RT}\right) \quad [3.22]$$

Unde k_{Red} și k_{Ox} sunt constante, C_{Red} și C_{Ox} reprezintă concentrațiile speciilor ce reacționează, ΔG_a^* și ΔG_c^* reprezintă variațiile entalpiei libere electrochimice de activare a reacțiilor anodice și a celor catodice, R este constanta gazelor = 8.314472 J/kMol °K și T este temperatura (în grade K).

Entalpia liberă de activare se poate descompune în entalpia liberă chimică de activare ΔG_{ch}^* care nu depinde de potențial și în energia electrică de transfer a sarcinilor la potențialul $\Delta\phi$ care se distribuie, pentru reacțiile parțiale, după relațiile:

Reacția parțială anodică:

$$\Delta G_a^* = \Delta G_{a,ch}^* - \alpha z F \Delta \phi \quad [3.23]$$

Reacția parțială catodică:

$$\Delta G_c^* = \Delta G_{c,ch}^* + (1 - \alpha) z F \Delta \phi \quad [3.24]$$

$\Delta \phi$ reprezintă variația de potențial la interfața metal-soluție și a coeficientului de transfer al sarcinilor ($0 < \alpha < 1$) ce traduce raportul transferului de sarcini între două reacții parțiale anodice și catodice după cum se reprezintă schematizat în figura 3.5:

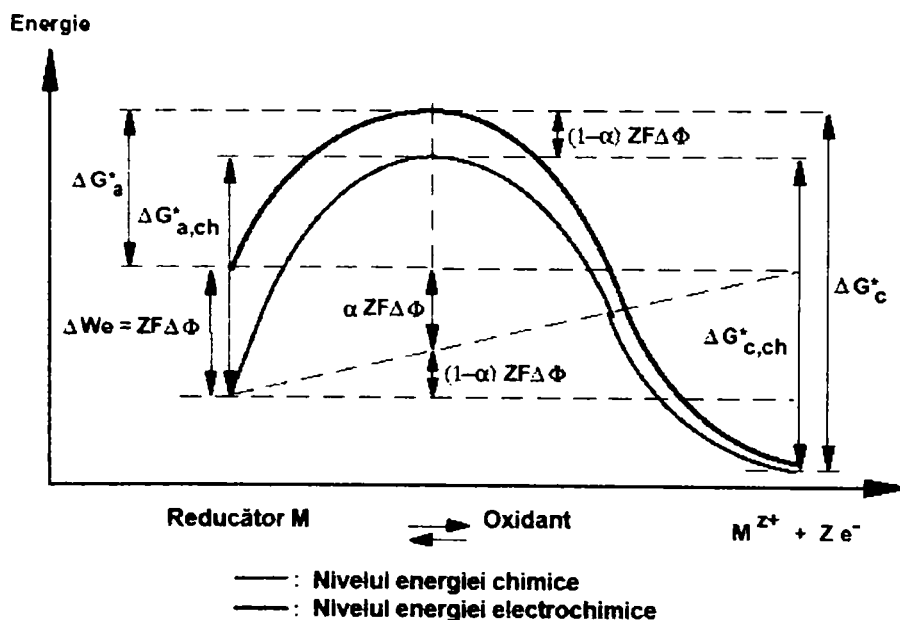


Fig. 3.5: Influența potențialului $\Delta \phi$ asupra energiei de activare a unei reacții electrochimice.

Dacă asupra electrodului M se aplică un potențial $\Delta \phi > 0$, energia a z moli de electroni din metal se va reduce cu o cantitate $\Delta W_e = z F \Delta \phi$ de energie. Prin urmare metalul va accepta mai ușor să cedeze electroni și energia de activare a reacției anodice de dizoluție va scădea cu $\alpha z F \Delta \phi$, în timp ce cea a reacției inverse va crește cu $(1 - \alpha) z F \Delta \phi$.

Cazul particular când $\alpha = 1/2$ corespunde unei curbe simetrice în raport cu axa ce trece prin vârful ei și energia ΔW_e furnizată se va repartiza în mod egal pentru fiecare reacție parțială. Raportând relațiile [3.23] și [3.24] la expresiile vitezei de reacție și utilizând expresia densității de curent [3.19] se obține, pentru valorile absolute ale densităților curenților anodic și catodic:

$$J_a = zFk_{red}C_{red} \exp\left(-\frac{\Delta G_{a,ch}^*}{RT}\right) \exp\left(-\frac{\alpha zF}{RT} \Delta\phi\right) \quad [3.25]$$

$$J_c = zFk_{ox}C_{ox} \exp\left(-\frac{\Delta G_{c,ch}^*}{RT}\right) \exp\left(-\frac{(1-\alpha)zF}{RT} \Delta\phi\right) \quad [3.26]$$

Viteza v a reacțiilor electrochimice este dată prin $v = v_a - v_c$ și în termeni de densitate a curenților de schimb: $J = J_a - J_c$.

Pe de altă parte, potențialul electrodului E este măsurat în raport cu un electrod de referință al cărui potențial E_{ref} este constant. Prin urmare rezultă:

$$E = \Delta\phi - E_{ref} \quad [3.27]$$

Utilizând relațiile [3.22], [3.23] și [3.24] și grupând termenii ce nu depind de potențialul E în constantele k'_{red} și k'_{ox} rezultă:

$$J = J_a - J_c = zFk'_{red}C_{red} \exp\left(\frac{\alpha zF}{RT} E\right) - zFk'_{ox}C_{ox} \exp\left(-\frac{(1-\alpha)zF}{RT} E\right) \quad [3.28]$$

$$\text{Unde : } k'_i = k_i \exp \frac{-\Delta G_{i,h}^* + \chi_i E_{ref}}{RT} ; \quad \chi_{red} = -\alpha zF ; \quad ; \chi_{ox} = (1-\alpha)zF$$

Cât timp reacția de oxido-reducere este la echilibru, densitatea curentului de schimb J (sau viteza globală v) sunt nule. Aceasta nu înseamnă că nu se întâmplă nimic, ci doar că există o egalitate între reacțiile parțiale anodice și cele catodice, fie ca $|J_a| = |J_c| = |J_0|$, J_0 fiind densitatea de curent de schimb al reacției de electrod la echilibru.

Prin definiție, potențialul E este egal cu potențialul reversibil E_{rev} de electrod, definit prin relația lui Nernst.

J_0 este densitatea de curent de schimb în cazul reacției de electrod la echilibru. Prin definiție, potențialul E este egal cu potențialul reversibil E_{rev} de electrod, definit prin relația lui Nernst [3.7]:

$$j_0 = zFk_{red}C_{Red} \exp\left(\frac{\alpha zF}{RT} E_{rev}\right) = zFk_{ox}C_{Ox} \exp\left(-\frac{(1-\alpha)zF}{RT} E_{rev}\right) \quad [3.29]$$

Introducând expresia pentru J_0 în expresia [3.29] obținem:

$$J = J_0 \left[\exp\left(\alpha \frac{zF}{RT} \eta\right) - \exp\left(-(1-\alpha) \frac{zF}{RT} \eta\right) \right] \quad [3.30]$$

Unde $\eta = E - E_{rev}$ reprezintă supratensiunea sau diferența potențial în raport cu valoarea de echilibru E_{rev} pentru care $|J_a| = |J_c| = |J_0|$ și $J = 0$.

Relația [3.30] este cunoscută sub numele de **ecuația lui Butler-Volmer** de electrod. Toate aceste relații fac legătura dintre potențialele electrochimice

înregistrate cu ajutorul electrozilor și reacțiile chimice (care implică direct corozia, respectiv transferul de masă). Reprezentarea grafică a potențialelor anodice, respectiv catodice și prelucrarea lor ulterioară stă la baza studiului comportamentului la corozie prin metode electrochimice [101].

Dreptele lui Tafel

În cazul unei supratensiuni η suficient de mare, una sau cealaltă dintre reacțiile catodice sau anodice devine rapid neglijabilă. Acest fenomen este ilustrat în figura 3.6, unde este reprezentată variația densității de curent J , J_a și J_c în funcție de potențialul E [13], [14].

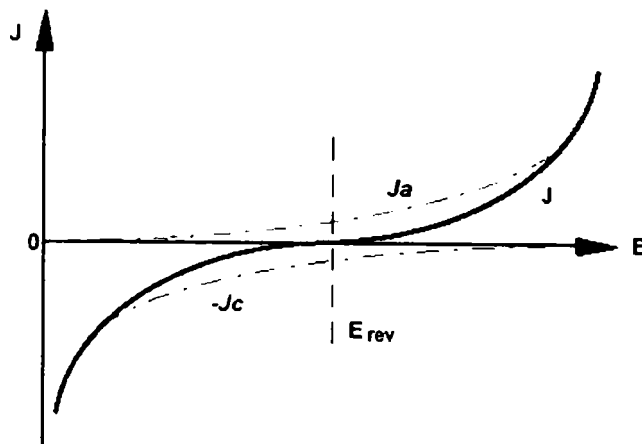


Fig. 3.6 Evoluția densităților de curent în funcție de potențial (scara liniară)

În cazul unei supratensiuni η_a anodice, va rezulta:

$$J = J_a = J_0 \exp \alpha \frac{zF}{RT} \eta_a \quad [3.31]$$

Iar pentru supratensiunea catodică:

$$J = J_c = J_0 \exp \left(-(1 - \alpha) \frac{zF}{RT} \eta_c \right) \quad [3.32]$$

Prin relațiile [3.31] și [3.32] se pot defini **coeficienții lui Tafel** anodic și catodic prin:

$$\beta_a = \frac{RT}{\alpha zF} \text{ și } \beta_c = \frac{RT}{(1 - \alpha) zF} \quad [3.33]$$

Sau:

$$\eta_a = \beta_a \ln(J_a / J_0) \quad \text{și} \quad \eta_c = \beta_c \ln(J_c / J_0) \quad [3.34]$$

Pentru ramura anodică:

$$\log_{10}(J_a) = \frac{\eta_a}{2.3\beta_a} + \log_{10}(J_0) \quad [3.35]$$

Și pentru ramura catodică:

$$\log_{10}(J_c) = -\frac{\eta_c}{2.3\beta_c} + \log_{10}(J_0) \quad [3.36]$$

Relațiile [3.35] și [3.36] reprezintă dreptele lui Tafel anodice și catodice, care descriu limitele anodice și catodice ale ecuației generale Butler-Volmer [3.30].

Reprezentarea $\log_{10}|J|$ în funcție de E este folosită în mod curent pentru determinarea parametrilor cinetici J_0 , β_a și β_c . Intersecția dreptelor lui Tafel, ce corespund la $|J_a| = |J_c| = |J_0|$ și are supratensiuni η_a și η_c nule ($E = E_{rev}$) permite prin urmare în cazul unei reprezentări de acest tip, o determinare grafică a valorilor densității de curent de schimb la echilibru. Tipul de diagramă obținut astfel este reprezentat schematic în figura 3.7.

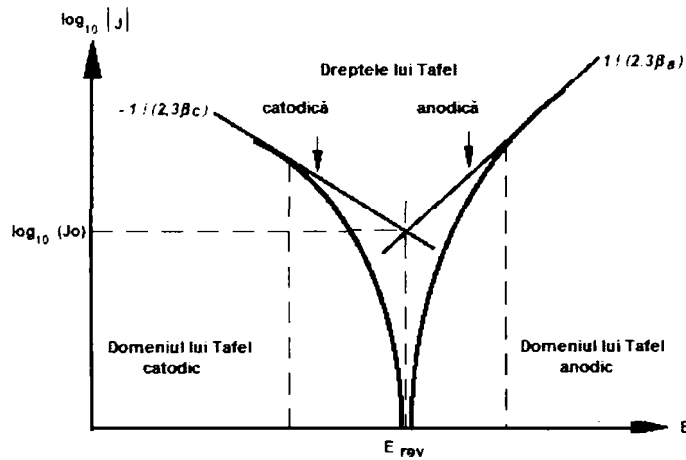


Fig. 3.7 Curba $\log_{10}|J| = f(E)$ și dreptele lui Tafel

Domeniile de potențial pentru care curba intersectează dreptele lui Tafel sunt domeniile lui Tafel anodic și catodic.

Potențialul de coroziune

Un sistem de coroziune constă practic din două reacții electrochimice cuplate ce corespund una oxidării metalului ($M \rightarrow M^{2+} + z e^-$) și cealaltă reducerii oxidantului prezent în soluție, de exemplu $2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$ (figura 3.8)

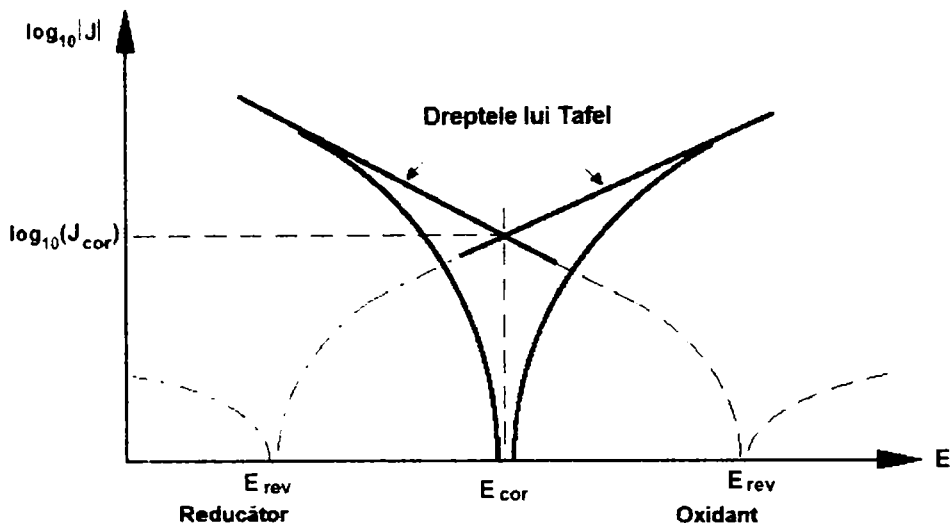


Fig. 3.8 Reprezentarea schematică a unui sistem de coroziune

În locul densității de curent de echilibru J_0 și al potențialului reversibil de electrod E_{rev} se vorbește în acest caz de **densitatea curentului de coroziune J_{cor}** și de **potențialul de coroziune E_{cor}** .

În absența unui curent exterior va exista o egalitate între valorile absolute ale densităților curenților anodici de disoluție și ale celor catodici de reducere. Curba obținută poartă numele de curba de polarizare. Această curbă (reprezentată cu linii continue în figura 3.8.) rezultă din suma curbei anodice a reducătorului și a curbei catodice a oxidantului. La fel ca pentru un sistem cu un electrod, una sau cealaltă dintre aceste reacții devine rapid neglijabilă pe măsura ce se produce îndepărtarea de potențialul de E_{cor} , și curba reîntâlnește domeniul Tafel corespunzător.

Rezistența de polarizare

În cazul unei supratensiuni η relativ scăzute, se pot înlocui relațiile exponențiale cu dezvoltările lor în serii finite. Prin urmare pentru J se obține:

$$J = J_0 \left[\left(1 + \alpha \frac{zF}{RT} \eta \right) - \left(1 - (1 - \alpha) \frac{zE}{RT} \eta \right) \right] \quad [3.37]$$

Fie

$$J = J_0 \frac{zF}{RT} \eta \quad [3.38]$$

Rezultă o relație liniară între curent și potențial și prin analogie cu legea lui Ohm definim rezistența de polarizare R_p :

$$R_p = \frac{1}{J_0} \frac{RT}{zF} \quad [3.39]$$

Reprezentarea din figura 3.8 și relația [3.39] stau la baza tehnicilor electrochimice de determinare experimentală a vitezei de coroziune, constituind fundamentul teoretic ce stă la baza determinării comportamentului la coroziune prin metode electrochimice și a interpretării rezultatelor obținute [40].

Un aspect similar au și curbele experimentale obținute cu ajutorul potențostatului galvanostat VoltaLab21 [136], [146], [147], [148].

3.6. Metode generale de protecție împotriva coroziunii

În vederea asigurării unei protecții eficiente împotriva coroziunii, pot fi folosite, la modul general, una dintre metodele următoare:

- **Alegerea judicioasă a materialului** – în cazul implantelor opțiunile sunt limitate de biocompatibilitatea acestora.

- **Adaptarea formei pieselor** - riscul coroziunii poate fi diminuat prin modificarea și adaptarea formei obiectelor la condițiile de utilizare. Soluțiile constructive se elaborează în funcție de tipul de coroziune împotriva căruia se luptă. În cazul implantelor se recomandă evitarea vârfurilor și a muchiilor ascuțite deoarece acestea se comportă ca niște concentratori de sarcină, accelerând coroziunea pe suprafața lor.

- **Adăugarea în mediu a unor inhibitori ai coroziunii** – metodă aplicabilă doar industrial.

- **Utilizarea unor acoperiri speciale** - pot fi aplicate atât pe piese metalice, cât și pe materiale plastice (sondele și cateterele din mase plastice, care devin radio-opace în urma unui astfel de tratament). În acest scop se pot folosi metale nobile (Au, Ag) sau platinice (Pt, Rh, Ir, Os).

3.7. Determinarea experimentală a vitezei de coroziune

Determinarea comportamentului la coroziune prin metode electrochimice s-a realizat în laboratorul CIDUCOS, acreditat RENAR în conformitate cu SR EN ISO/ CEI 17025: 2005, certificat de acreditare nr. 477-L /2007. Metoda are la bază corelația directă ce există între potențialul de coroziune $E (I_0)$, curentul de coroziune $I_{\text{corrosion}}$ și rezistența de polarizare R_p , ce reprezintă mărimi electrice măsurate între electrozi și cantitatea de metal transferată în mediul coroziv. Cele mai folosite unități de măsură pentru viteza de coroziune sunt [g/an] și [mm/an] [136], [146], [151], [178] [179] [180].

$I_{\text{corrosion}}$, $E (I_0)$ și R_p pot oferi date suplimentare referitoare la stabilitatea chimică a metalului testat și la rezistența stratului protector de pe suprafața acestuia.

Potențostatul Voltalab 21 permite utilizarea următoarelor metode de lucru: potențiale de circuit deschis (OCP), coroziune galvanică (Evans), coroziune în puncte (Pitting corrosion) și voltametrie ciclică.

Aparatura folosită la determinarea vitezei de coroziune constă din:

- **Potențostatul / galvanostatul VoltaLab 21**, (figura 3.9) de construcție compactă, cu un generator de semnal integrat. Este însoțit de softul propriu de achiziție VoltaMaster 4. Folosind softul de achiziție VoltaMaster 4, rata maximă de scanare este de 10 mV/s. VoltaLab 21 înregistrează rezistența de polarizare și potențialul de coroziune pentru un interval de timp destul de

lung, (ore până la zile). De asemenea mai sunt disponibile și module de determinare a coroziunii în puncte și a coroziunii galvanice.



Fig. 3.9 Potențiostatul/galvanostat VoltaLab 21

- **Celula electrochimică BEC/EDI** este confecționată din sticlă tip pyrex și permite termostatarea. În plus aceasta poate fi utilizată cu mai multe tipuri de electrozi.
- **Electrozi**
- B20B110 1 XR110 - Electrod de referință din calomel
- B35M110 1 XM110 - Electrod de platină ($\varnothing = 1 \text{ mm}$, $l = 10 \text{ mm}$)

Reactivi și soluții de lucru pentru determinarea comportamentului la coroziune în medii biologice:

- Ser fiziologic
 - Soluție Ringer
 - Soluție Ringer lactat
 - Albumină serică bovină (BSA)
 - Salivă artificială
 - Soluții de albumină cu concentrații diferite
 - Apă distilată, pentru prepararea unor soluții și spălarea echipamentului
 - KCl pentru completarea electrolitului.
- **Echipament de calcul de tip PC.**

Pregătirea probei se face în următorii pași:

- Înainte de efectuarea determinării, proba se degresează, se spală din abundență cu apă distilată și se șterge cu hârtie de filtru. Se poate efectua în prealabil și o lustruire pe hârtie abrazivă.
- Pentru teste cu caracter biologic, încercările fizice se efectuează în condiții de mediu cât mai apropiate de cele fiziologice și anume: pH 7,3 - 7,4 și temperatura de 37°C . Pentru saliva artificială valoarea pH-ului poate varia între 5,5-7. Condiția de pH este îndeplinită prin utilizarea unor medii adecvate (menționate mai sus). În anumite situații se pot efectua determinări și la alte valori ale pH-ului.
- Pentru teste cu caracter biologic temperatura vasului de coroziune se menține în jurul valorii de $37 \pm 2^{\circ} \text{C}$ prin utilizarea unei băi de termostatare.

Pentru creșterea încrederii în rezultatele încercărilor, s-au efectuat un număr de 20 de încercări pe probe confecționate din Titan CP Grad 2, având aceeași compoziție chimică și ale căror suprafețe au fost prelucrate în aceleași condiții: lustruire mecanică, lustruire chimică, pasivare în acid azotic 10 % urmată de fierbere în apă distilată timp de trei ore. Ca mediu de coroziune a fost folosită o soluție perfuzabilă de Ringer lactat. Toate determinările au fost efectuate la temperatura de 37 °C, menținută constantă prin termostatare.

Valorile obținute precum și cele calculate din acestea, sunt prezentate în tabelul 3.2:

Tabelul 3.2

Nr. Crt.	Valoare determinată (nm/an)	X-Xmed	(X-Xmed) ²
1	455,8	-110,445	12198,210
2	472,0	-94,245	8882,214
3	501,2	-65,045	4230,917
4	510,6	-55,645	3096,422
5	516,7	-49,545	2454,757
6	519,2	-47,045	2213,279
7	529,9	-36,345	1320,995
8	532,0	-34,245	1172,754
9	536,3	-29,945	896,733
10	536,8	-29,445	867,0375
11	538,6	-27,645	764,2737
12	538,7	-27,545	758,7546
13	574,9	8,655	74,90037
14	592,4	26,155	684,0579
15	597,1	30,855	952,0002
16	599,6	33,355	1112,5230
17	608,6	42,355	1793,9040
18	612,3	46,055	2121,0170
19	773,6	207,355	42995,890
20	778,6	212,355	45094,43

Pentru un număr de determinări de coroziune $n \geq 10$, respectiv 20 de valori, determinarea incertitudinii de măsurare se face astfel [22], [136]:

- Se calculează media aritmetică a valorilor determinate:

$$\bar{q} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = 566,254 \text{ nm/an} \quad [3.40]$$

- Se calculează abaterea standard a valorilor determinate:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2} = 83,8812 \text{ nm/an} \quad [3.41]$$

- **Se determină intervalul de confidență al mediei valorilor determinate, urmărind secvența:**
 - Se stabilește nivelul de încredere al determinărilor de 95% (γ);
 - Din tabele statistice se alege valoarea parametrului $t\left[\frac{1+\gamma}{2}, n-1\right]$
 - unde $n=20$ este numărul gradelor de libertate (de determinări)
 - Se obține $t=2$
- **Se determină abaterea standard a mediei**

$$s_q^- = \frac{s}{\sqrt{n}} = 18,7594 \text{ nm/an} \quad [3.42]$$

- **Limitele intervalului de confidență al mediei (incertitudinea extinsă):**

$$U = t \cdot s_q^- = 37,5128 \text{ nm/an}$$

Prelucrarea datelor măsurărilor

Se face utilizând softul de achiziție VoltaMaster 4, ce însoțește aparatul. În cazul probelor care conțin un singur metal, se utilizează în calcule valența acestuia pentru care dă oxizii cei mai stabili din punct de vedere termodinamic.

În cazul aliajelor, se utilizează în calcule o valență medie, calculată conform relației:

$$V_m = \sum_{i=1}^n \frac{m_i}{100} \times v_i \quad [3.43]$$

Unde:

- V_m = valența medie luată în calcul
- m_i = masa procentuală a metalului i din aliaj
- v_i = valența metalului i

Din meniul **Sequence edition** se selectează metoda și parametrii de lucru.

Fișierele de date obținute în urma încercării sunt de tip VM4Files.exp și de tip text.

Acestea pot fi prelucrate atât de software-ul aferent, dar pot fi și ușor importate în orice program de calcul statistic.

După prelucrare se obțin curbele caracteristice (Tafel, Evans, Stern) din care se determină viteza de coroziune (h), exprimată în mm/an (sau în submultiplii ai acestor unități).

Transformarea rezultatelor din mm/an (h) în mg/an (m) se face ulterior, din datele suplimentare cunoscute: suprafața electrodului (s), densitatea materialului (ρ) și grosimea corodată (h): $m = s \times \rho \times h$ [mg/an].

Modul de tratare a rezultatelor aberante

Rezultatele aberante se obțin de cele mai multe ori datorită unor erori grosolane. La baza acestora pot sta unul dintr-un factorii următori:

- Conectarea greșită a electrozilor la aparat
- Unul sau mai mulți electrozi nu sunt introduși corect în mediul de lucru

- Contacte electrice imperfecte
- Depuneri de oxizi pe suprafața contactelor sau a electrodului de lucru
- Fluctuații mari ale tensiunii de alimentare
- Selectarea unei metode de determinare inadecvate

În această situație se impune verificarea instalației, determinarea cauzei erorii și eliminarea ei. Rezultatele obținute în această situație nu se validează.

3.8. Comportamentul implantelor de titan în medii biologice și substituenți ai acestora

Plasma umană reprezintă un mediu extrem de complex, compoziția ei medie fiind cea din tabelul 3.3:

Tabelul 3.3 Principalii componenți ai plasmei umane

Component	Concentrație (mg/ml)	Masă moleculară
Albumină	40,00	66000
IgG	15,00	150000
a1-Antitrypsină	3,00	54000
Fibrinogen	3,00	340000
a2-Macroglobulina	3,00	725000
Transferină	2,60	77000
IgA	2,30	162000
a2-Haptoglobina	2,00	100000
HDL	2,00	195000
Complement 3	1,60	180000

În practică este imposibil de reprodus un mediu de o asemenea complexitate prin urmare se utilizează substituenți ai acestuia, în special soluții perfuzabile de tip Ringer, Ringer lactat, Hartman, etc.

Suprafața implantului interacționează cu proteinele plasmatice cu cea mai mare concentrație: albuminele, globulinele și fibrinogenul [117], [118].

În organismul uman, implantele sunt supuse la acțiunea unui mediu cu proprietăți relativ constante: 37°C, pH=7,2-7,4 și o compoziție a mediului constă. În pofida acestor aparențe, mediile biologice sunt mult mai agresive decât par, în special datorită celulelor specializate de tip monocitar-macrofagic, capabile să producă enzime litice și peroxidice extrem de agresive.

Tipul de proteine adsorbite pe suprafața implantului (primul strat), sau raportul albumine/proteine au o influență foarte mare asupra eliberării de ioni metalici. Albumina se leagă puternic de suprafața metalică și de ionii metalici eliberați din implant, influențând viteza de coroziune și toxicitatea. Fibrinogenul stimulează agregarea plachetară, în timp ce albumina o previne. Suprafața substatului are de asemenea un rol crucial. Prezența unor grăunți în structura oxidică cristalină duce la apariția unor modificări în distribuția locală a electronilor. Atunci când fibrinogenul este absorbit pe o astfel de suprafață, electronii lui sunt transferați structurii cristaline, ducând la fragmentarea lui și la activarea plachetelor sanguine. TiO₂ amorf reduce descompunerea fibrinogenului, fiind prin urmare mult mai avantajos în ceea ce privește biocompatibilitatea față de sânge.

În scop experimental au fost folosite trei plăcuțe de Ti cu dimensiunile de 10x10x1,5 mm și având compoziția chimică dată în tabelul 3.4:

Tabelul 3.4 Compoziția chimică a plăcuțelor de Ti

N	C	H	Fe	O	Al	V	Mo	Zr	Si	Ti	Σres
0,030	0,050	0,003	0,120	0,110	0,480	-	--	--	0,050	base	0,250

Suprafețele lor au fost lustruite și clătite din abundență cu apă distilată. Temperatura la care au fost efectuate toate determinările a fost de 37°C, menținută constantă prin termostatare [161].

Determinările au fost efectuate în următoarele medii: soluții Ringer lactat, salivă artificială și albumină 2 g/l, dizolvată în Ringer lactat [23].

Compoziția soluției perfuzabile Ringer lactat:

Na⁺ = 147 mmol/l
 K⁺ = 4 mmol/l
 Ca²⁺ = 2,28 mmol/l
 Cl⁻ = 111 mmol/l
 Acid lactic = 44,6 mmol/l.

Compoziția salivei artificiale:

KCl = 1,5 g/l,
 NaHCO₃ = 1,5 g/l,
 NaH₂PO₄ = 0,5 g/l,
 KSCN = 0,5 g/l,
 acid lactic = 0,9 g/l

3.9. Analize electrochimice

Analizele electrochimice au fost efectuate prin voltametrie ciclică, utilizând metoda Tafel. Electrozii de lucru a fost chiar plăcuțele de Ti, având o suprafață efectivă de 2 cm². Ca electrod de referință a fost folosit ESC, iar electrodul auxiliar a fost unul de Pt.

Variațiile potențialelor și ale Rp pun în evidență prezența unui film pasiv, protector, foarte stabil la expunere îndelungată, prin urmare materialul folosit prezintă o stabilitate pe termen lung în toate mediile în care a fost testat [42], [44].

Diferențele observate ale Rp și vitezei de coroziune în mediul de albumină pot fi induse de interacțiunea albuminei cu ionii metalici eliberați de pe suprafața implantului.

În figurile 3.9, 3.10, 3.11 se prezintă comportamentul la coroziune în diverse medii pentru probe de titan cu suprafața corodată de 2 cm² și care au fost supuse aceluiași regim de prelucrare prealabilă. Determinările au fost făcute la 37°C, în baie de termostatare.

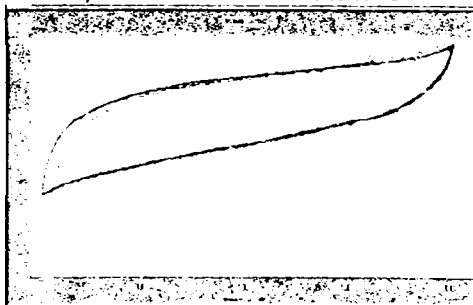


Fig. 3.9 a Voltametrie ciclică în Ringer lactat

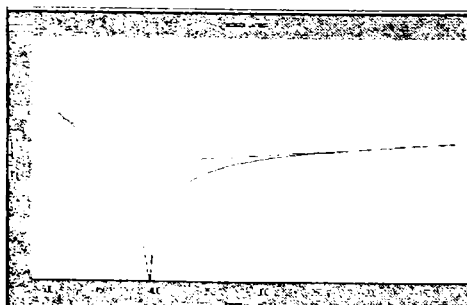


Fig. 3.9 b Transformarea Tafel în Ringer lactat

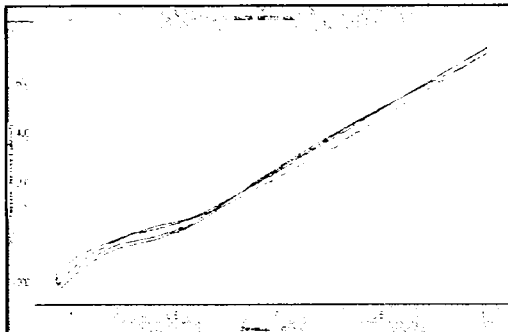
Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 566,770 nm/an** **$R_p = 294,46 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$** **$E(i=0) = 387,92 \text{ mV}$** 

Fig. 3.10 a Voltametrie ciclică în salivă artificială

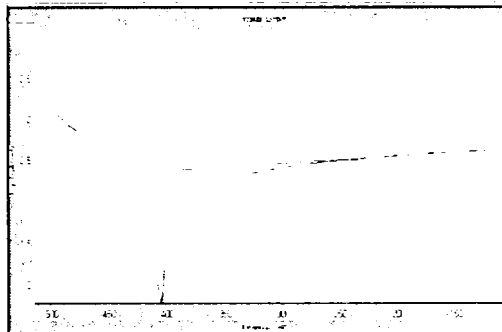


Fig. 3.10 b Transformarea Tafel în salivă artificială

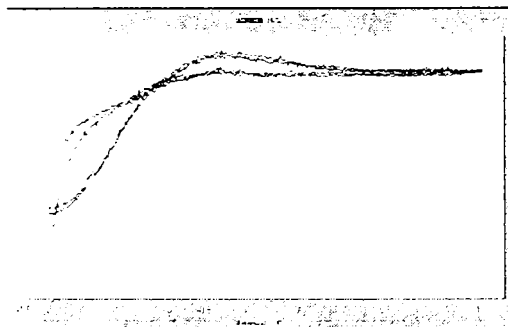
Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 25,49 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$R_p = 7,62 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$** **$E(i=0) = -849,12 \text{ mV}$** 

Fig. 3.11. a. Voltametrie ciclică în albumină 2 %

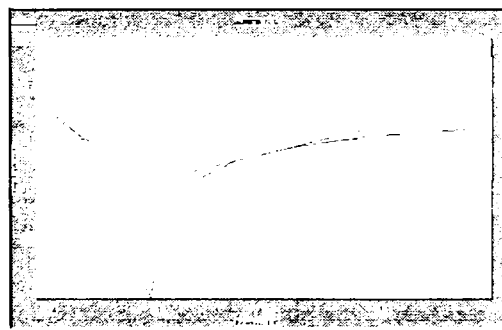


Fig. 3.11.b Transformarea Tafel în albumină 2%

Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 10,94 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$R_p = 18,65 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$** **$E(i=0) = -1255,03 \text{ mV}$**

Voltamogramele ciclice din figurile de mai sus reprezintă variația densității de curent în funcție de potențial, exprimată în $\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} / \text{V}$, în mediile de mai sus. Transformările Tafel sunt reprezentările grafice ale variației logaritmului densității de curent în funcție de potențial, pentru curbele obținute prin voltametrie ciclică, $[\log(\mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}) / \text{V}]$. Ele permit calculul valorilor pentru viteza de coroziune, rezistența de polarizare R_p și calculul potențialului de coroziune $E(i=0)$ [117], [118].

După cum se observă, viteza de coroziune depinde de mediile în care se desfășoară procesul. Valoarea cea mai mare a fost obținută în soluția de albumină.

Valorile obținute în Ringer lactat (0,00057 mm/an) sunt comparabile cu cele obținute de alți autori, în medii similare – 0,0001 mm/an în soluție Ringer și 0,00035 mm/an în soluție Hank. Diferențele pot fi induse de micile abateri ale compoziției metalelor testate [23], [117], [118].

Diferențele semnificative observate între soluțiile Ringer lactat și de albumină 2g/l subliniază influența proteinelor asupra vitezei de coroziune. La prima vedere se poate trage concluzia că pentru a modela cât mai corect mediile biologice, se recomandă adăugarea unei mici cantități de proteine (2%-4% dacă se dorește simularea plasmei și 40% pentru modelarea lichidului sinovial). Determinarea cât mai exactă a acestei cantități și elaborarea unor modele care să reproducă cât mai fidel mediile biologice ar putea fi obiectul unor studii ulterioare.

Pe parcursul procesului de coroziune se eliberează doar o cantitate mică de ioni de Ti. Pentru un an, considerând un implant cu aria de 2 cm², rezultă o concentrație a acestora de 0,5103x10⁻³ mg/l în Ringer lactat, 0,225 mg/l în salivă artificială și 0,0099 mg/l în soluția de albumină 2g/l. Toate valorile se situează sub concentrația maximă admisă pentru Ti (2 mg/l, fără nici un semn de toxicitate clinică, conform datelor din literatura de specialitate) [88].

Diferențele observate ale R_p și vitezei de coroziune în mediul de albumină pot fi induse de interacțiunea albuminei cu ionii metalici eliberați de pe suprafața implantului.

3.10. Studiu comparativ al coroziunii pentru diferite metale utilizate pentru confecționarea implantelor

În acest scop s-au utilizat șapte plăcuțe metalice, confecționate din mai multe metale biocompatibile, cu suprafața de 20x101 mm, având compozițiile chimice prezentate în tabelele 3.4 – 3.10.

În prealabil, plăcuțele au fost prelucrate metalografic, prin șlefuire, lustruire și pasivare, conform metodei descrise mai sus [144], [161].

Determinarea vitezei de coroziune s-a efectuat electrochimic, folosindu-se metoda voltametriei ciclice. Evaluarea comportamentului la coroziune s-a efectuat în soluție Hartman, având compoziția:

NaCl = 6,02 g/l
 KCl = 0,37 g/l
 CaCl₂/CaCl₂ x 2H₂O = 0,29 g/l
 Na lactat = 3,14 g/l
 osmolaritate = 3,14 g/l

În cazul oțelului 316 L, având compoziția chimică dată în tabelul 3.4 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.12a și 3.12b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.4. Compoziția chimică a probei de oțel 316L

C%	Si%	Mn%	Cr%	Ni %	Mo%	Cu%
0,045	0,336	1,020	17,200	12,530	2,100	0,370
V%	W%	Al%	Nb%	Ti%	Co%	
0,06	< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,158	

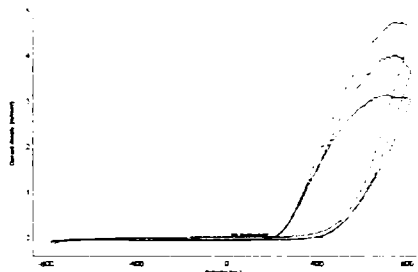


Fig. 3.12 a Voltmetrie ciclică 316L

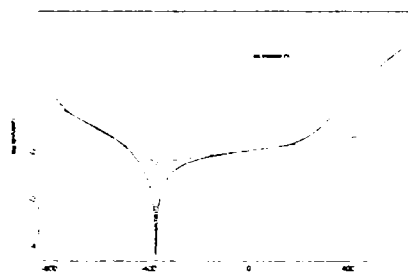


Fig. 3.12 b Transformarea Tafel 316L

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 59,42 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -391,20 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,0060 \text{ mA}/\text{cm}^2$

$R_p = 15,37 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În cazul oțelului 304 L, având compoziția chimică dată în tabelul 3.5 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.13a și 3.13b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.5. Compoziția chimică a probei de 304L

C%	Si%	Mn%	P%	S%	Cr%	Mo%
$\leq 0,03$	$\leq 1,0$	$\leq 2,0$	$\leq 0,045$	$\leq 0,03$	18,0-20,0	-
Ni%						
8,0-12,0						

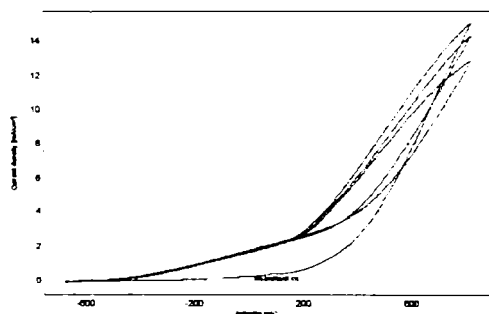


Fig. 3.13 a Voltmetrie ciclică 304L

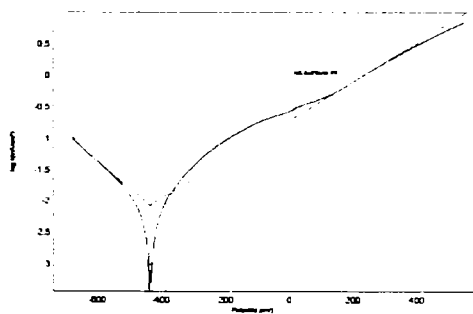


Fig 3.13 b Transformarea Tafel 304L

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 82,37 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -452,1 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,0084 \text{ mA}/\text{cm}^2$

$R_p = 5,01 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În cazul oțelului 321, având compoziția chimică dată în tabelul 3.6 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.14a și 3.14b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.6. Compoziția chimică a probei 321

C%	Si%	Mn%	P%	S%	Cr%	Mo%
≤ 0,080	≤ 1,0	≤ 2,0	≤ 0,045	≤ 0,03	17,0-19,0	-
Ni%	Ti%					
9,0-12,0	≥ 5x wt%C					

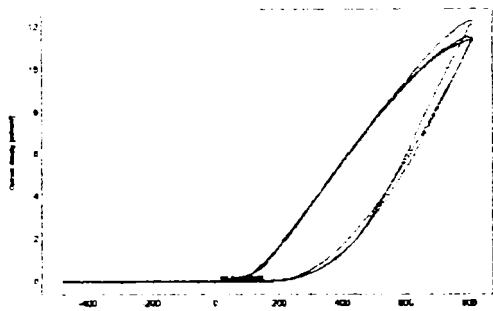


Fig. 3.14 a Voltametrie ciclică 321

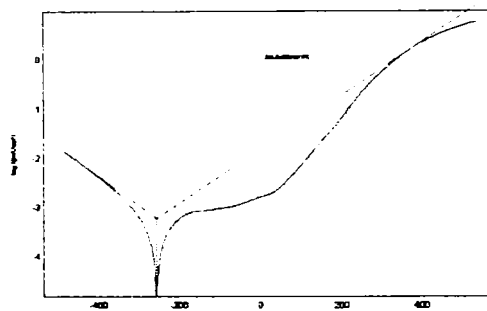


Fig. 3.14 b Transformarea Tafel 321

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 29,01 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -336,0 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,0029 \text{ mA}/\text{cm}^2$

$R_p = 21,89 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În cazul probei 316 Ti, având compoziția chimică dată în tabelul 3.7 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.15a și 3.15b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.7. Compoziția chimică a probei de 316Ti

Elementul	Min. (%)	max. (%)	Altele (%)
C		0,08	
Si		0,75	
Mn		2,00	
P		0,04	
S		0,030	
Cr	16,00	18,00	
Mo	2,00	3,00	
N		0,100	
Ni	10,00	14,00	
-			Ti ≥ 5x (C+N) ≤ 0,70

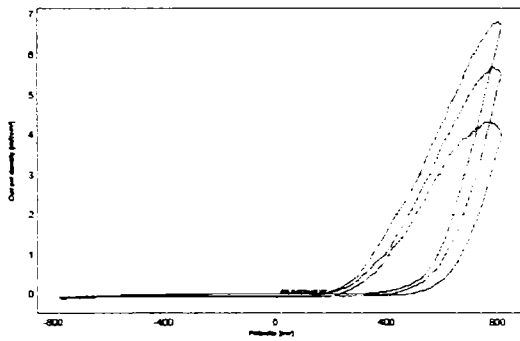


Fig. 3.15 a Voltametrie ciclică 316Ti

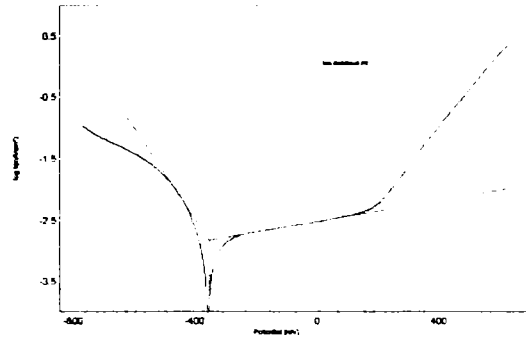


Fig. 3.15 b Transformarea Tafel 316Ti

Rezultate experimentale

Viteza de coroziune = 14,91 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -372,6 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,0015 \text{ mA}/\text{cm}^2$

$R_p = 36,88 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În cazul probei Co-Cr, având compoziția chimică dată în tabelul 3.8 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.16a și 3.16b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.8. Compoziția chimică a probei de Cr-Co

Fe%	C%	Si%	Mn%	P%	S%	Cr%	Cu%	Nb%	Co%
8,460	0,069	0,795	<0,198	0,021	0,009	>65,390	0,086	<0,000	>24,880

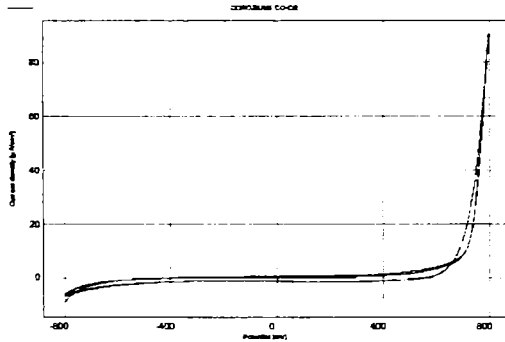


Fig. 3.16 a Voltametrie ciclică CoCr

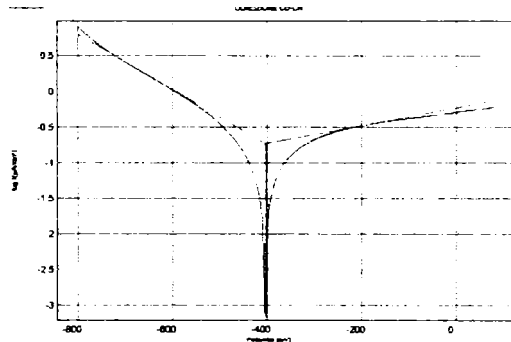


Fig. 3.16 b Transformarea Tafel CoCr

Rezultate experimentale

Viteza de coroziune = 5,533 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -404,2 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,1869 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 382,14 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În cazul probei Ti6Al4V, având compoziția chimică dată în tabelul 3.9 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.17a și 3.17b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.9. Compoziția chimică a probei de Ti Al V

Element	Concentrație
Ti	88,580
Al	6,503
Mo	0,000
Mn	0,082
V	4,503
Fe	0,174
Cr	0,059
W	0,000

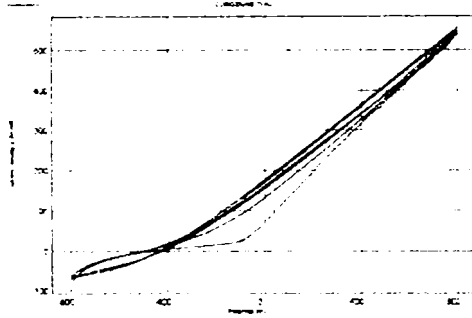


Fig. 3.17 a Voltametrie ciclică Ti Al V

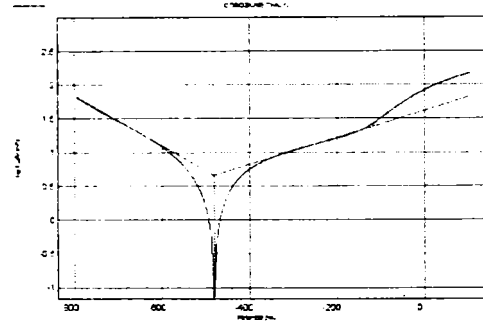


Fig. 3.17 b Transformarea Tafel Ti Al V

Rezultate experimentale

Viteza de coroziune = 84,77 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -481,2 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 4,5551 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 12,78 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

În cazul probei de Ti, având compoziția chimică dată în tabelul 3.10 și comportamentul la coroziune reprezentat prin curbele 3.18a și 3.18b, se obțin rezultatele experimentale:

Tabelul 3.10. Compoziția chimică a probei de Ti

Si%	Mn%	Cr %	Ni%	Mo%	Al%	Cu%
0,15	0,09	0,05	< 0,01	< 0,03	0,39	0,32
V%	W%	Zr%	Nb%	Sn%	Fe%	
< 0,15	< 0,73	0,01	0,03	1,13	0,10	

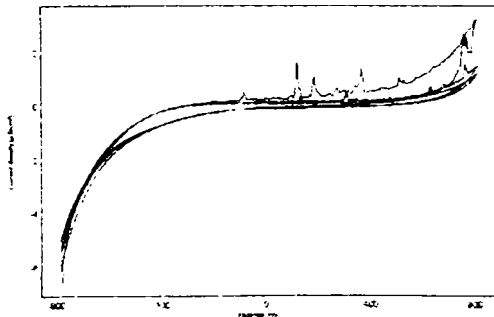


Fig. 3.18 a Voltametrie ciclică Ti

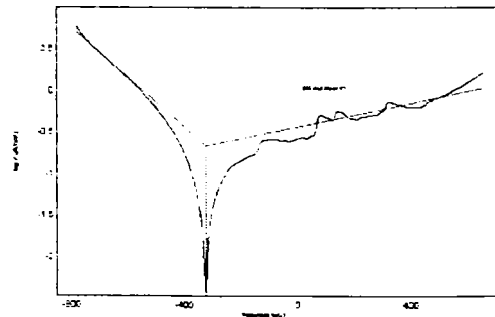


Fig. 3.18 b Transformarea Tafel Ti

Rezultate experimentale**Viteza de coroziune = 1,870 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$E(i=0) = -345,2 \text{ mV}$** **$i_{\text{corrosion}} = 0,2147 \mu\text{A}/\text{cm}^2$** **$R_p = 625,94 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$**

În tabelul 3.11 sunt sintetizate datele experimentale obținute. Toate determinările au fost efectuate în aceleași condiții de mediu corosiv, temperatură și prelucrare inițială a suprafeței.

Tabelul 3.1 Ordonarea probelor testate în funcție de vitezele lor de coroziune

Material	Viteza de coroziune $\mu\text{m}/\text{an}$
Ti	1,870
CoCr	5,533
316 Ti	14,910
321	29,010
316L	59,420
304L	82,370
TiAlV	84,770

Cum era de așteptat, titanul este situat pe primul loc, având cea mai scăzută viteză de coroziune. Un rezultat oarecum neașteptat este valoarea relativ mare obținută pentru aliajul TiAlV. Alura voltamogramei ciclice obținute ar putea sugera prezența a două regiuni de coroziune. Prima, situată la valori mai electronegative și cu o suprafață mai mică aparține Ti, iar cea de a doua, având o suprafață mai mare și o deplasare spre valori mai pozitive, aparține Al. Practic Al ar avea contribuția majoră la viteza de coroziune.

3.11. Influența metodei de prelucrare asupra vitezei de coroziune

Așa cum s-a arătat, starea suprafeței joacă un rol major în analiza comportamentului la coroziune și întrucât aceasta este influențată de metodele de prelucrare, în acest subcapitol s-a analizat influența unor metode de prelucrare.

În cadrul experimentelor s-au urmărit influențele pe care le au diferitele metode de prelucrare a titanului.

Și în aceste cazuri ca mediu de coroziune a fost folosită soluția Hartman.

Ca prim exemplu au fost folosite implantate de tip PD6, confecționate din Ti CP grad 2, cu grosimea de 0,8mm. Suprafața acestora nu a fost supusă nici unui tratament de lustruire chimică sau pasivare.

Tăierea cu laser a implantelor chirurgicale s-a efectuat la Universitatea din Artois – Franța, Institutul Tehnologic din Bethune, în cadrul laboratorului Centre d'Applications de Laser de Flandres Ar4tois (CALFA), pe parcursul unei burse Socrates la care au participat alți membri ai colectivului. Laserul folosit este cu dioxid de carbon **CI 200** (figura 3.19) acesta având comanda numerică **NUM 750 CNC**.



Fig.3.19 Laserul CI 2000

Decuparea conturului implantului se realizează după desenul de execuție salvat în format .dxf. Desenele de execuție au fost elaborate o dată cu modelul 3D. Pentru transferul conturului ce urmează a fi tăiat folosind laserul există două programe:

- **Laser DX3** utilizat pentru a crea programul de comandă numerică după desenul de execuție în format dxf
- **DNC32** care transferă programul de comandă numerică în memoria echipamentului laser.

Laser DX3 permite pe lângă crearea programului de comandă numerică și setarea ordinii de tăiere a conturilor închise, precum și modul de atac al fiecărui contur de către fascicolul laser. Decuparea implantelor s-a realizat atât cu fascicol laser continuu cât și pulsatoriu.

Viteza de coroziune determinată experimental pentru implantate debitate cu ajutorul laserului este de peste 10 ori mai mare decât în cazul implantelor din Ti obținute prin debitare mecanică (de exemplu $1,870 \mu\text{m}/\text{an}$, conform determinărilor din capitolul III) (figurile 3.19a, b) [136],[180]. Astfel este subliniată din nou importanța pasivării suprafețelor implantelor.

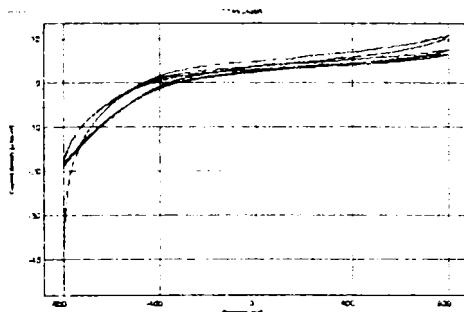


Fig. 3.19 a Voltametrie ciclică Ti laser

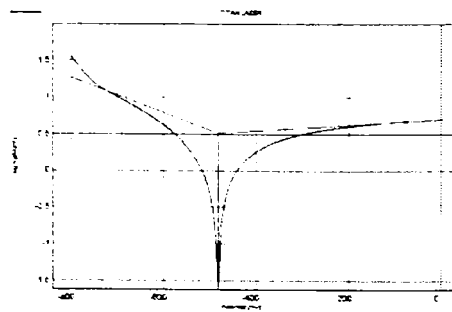


Fig. 3.19 b Transformarea Tafel Ti laser

Rezultate experimentale

Viteza de coroziune = $28,36 \mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -482,7 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 3,2558 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 38,37 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Un alt procedeu care influențează comportamentul la coroziune al Titanului este îmbinarea prin sudură. În acest scop a fost folosită o probă debitată chiar din cordonul de sudură și o proba martor debitată din materialul sudat.

În exemplul următor a fost determinată experimental influența sudurii asupra vitezei de coroziune a Ti. Folosind un cordon de sudură și un martor prelevat din aceeași probă (figurile 3.20)a, b și 3.21a, b)

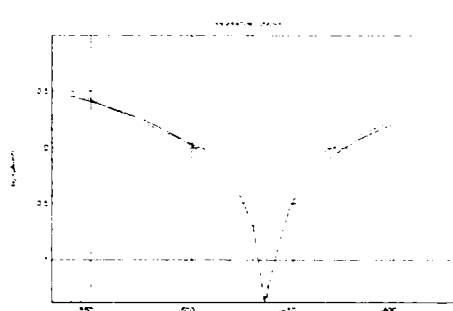
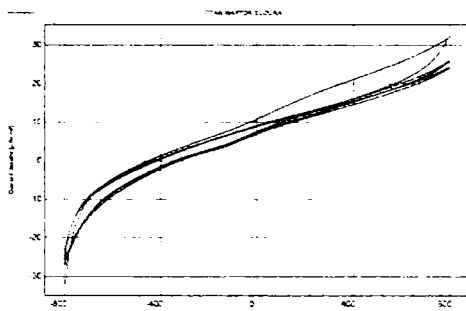


Fig. 3.20 a Voltametrie ciclică Ti martor

Fig. 3.20 b Transformarea Tafel Ti martor

Rezultate experimentale

Viteza de coroziune = 4,735 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -462,5 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,5436 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 36,84 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

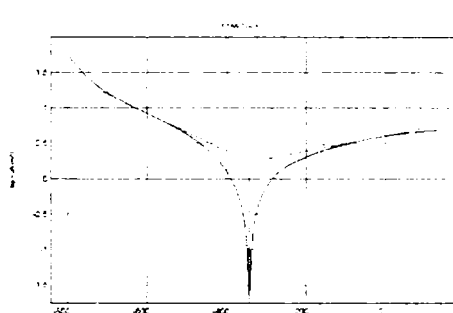
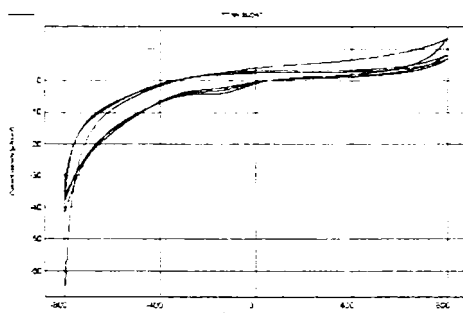


Fig. 3.21 a Voltametrie ciclică Ti sudat

Fig. 3.21 b Transformarea Tafel Ti sudat

Rezultate experimentale

Viteza de coroziune = 14,97 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -343,1 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 1,7189 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 52,48 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Rezultatele determinărilor au fost sistematizate în tabelul 3.14.

Tabelul 3.14 Influența prelucrării asupra vitezei de coroziune

Nr. Crt	Prelucrare/îmbinare	Viteza coroziune $\mu\text{m}/\text{an}$
1	Martor	4,735
2	Debitare laser	28,360
3	Sudură	14,970

După cum se observă din rezultatele determinărilor de mai sus, orice formă de prelucrare sau tratament poate avea efecte asupra vitezei de coroziune a Ti, afectând fie integritatea sau grosimea stratului protector de oxizi, fie structura cristalină a metalului.

3.12. Concluzii

Pe parcursul Capitolului III au fost documentate teoretic și practic aspectele legate de coroziune în general și de determinare a vitezei de coroziune prin metode electrochimice, cu ajutorul potențostatului VOLTALAB 21.

După o trecere în revistă a principalelor aspecte electrochimice ale procesului de coroziune, problematica este abordată și practic, prin prezentarea aparaturii și metodelor utilizate pentru determinarea vitezei de coroziune prin metode electrochimice.

În continuare sunt prezentate aplicații practice ale metodei, cu referire la studiul comportamentului la coroziune al Titanului, în diverse medii sau supus la diverse metode de prelucrare.

În urma determinărilor efectuate în diverse soluții, cum ar fi Ringer, Ringer lactat, salivă artificială și soluții de albumină, s-a constatat că mediul are o importanță foarte mare asupra vitezei de coroziune.

O contribuție personală constă în studiul comportamentului implantelor din Ti în diverse medii care simulează condițiile biologice (soluție Ringer lactat, soluție Hartmann, salivă artificială și albumină 2 g %). În urma determinărilor efectuate a rezultat că mediul coroziv are o influență foarte mare asupra vitezei de coroziune. Proteinele în special duc la o accelerare a coroziunii, deoarece au proprietatea de chelatori, legându-se de ionii metalici, facilitând astfel difuzia acestora. Prin urmare, atunci când avem în vedere realizarea unor medii corozive cât mai apropiate de plasma umană, ar fi indicată introducerea de proteine. Concentrația acestora ar putea varia între 2% - 4%, atunci când se dorește simularea plasmei și 40% când se dorește simularea lichidului sinovial.

Un alt aspect a constat în demonstrarea superiorității titanului față de alte metale sau aliaje folosite pentru confecționarea implantelor, cel puțin din punct de vedere al vitezei de coroziune. În aceleași condiții de efectuare a determinărilor (soluție Hartmann, 37°C) Titanul a avut cea mai mică viteză de coroziune, confirmând faptul că este un metal de elecție pentru confecționarea implantelor chirurgicale.

Ultimul aspect practic abordat pe parcursul acestui capitol a constat în studiul efectelor pe care le au câteva prelucrări ale Ti asupra comportamentului la coroziune. Debitarea laser, debitarea prin electroeroziune și sudarea Titanului duc la creșterea vitezei de coroziune, prin urmare după efectuarea acestor operațiuni este necesară o pasivare a suprafețelor.

CAPITOLUL IV

PREGĂTIREA SUPRAFEȚEI IMPLANTELOR

Una dintre cele mai importante condiții pentru obținerea unor suprafețe cât mai biocompatibile și mai satisfăcătoare ca aspect exterior este curățirea minuțioasă a suprafeței ce urmează a fi acoperită. Toate obiectele, oricât de curățate ar părea la o examinare superficială, au pe suprafața lor impurități care pot interacționa cu mediile biologice.

După natura lor, impuritățile care se întâlnesc pe suprafețele metalice se împart în trei categorii:

- oxizi și compuși asemănători;
- grăsimi, uleiuri și alte substanțe organice;
- corpuri străine din solide de diferite proveniențe, rămase sau căzute pe suprafața obiectelor, rezultate în urma prelucrării lor.

Pregătirea mecanică a suprafețelor constă în netezirea și nivelarea acestora pentru îmbunătățirea aspectului general. În funcție de starea suprafețelor și a gradului de finisare dorit, piesele se supun la două operații: șlefuire și lustruire. Ambele se efectuează în mod similar și cu același gen de utilaje. La șlefuire se îndepărtează cantități relativ mari de material, în vederea nivelării suprafețelor, în timp ce lustruirea are ca scop finisarea suprafețelor. Ea realizează reducerea adâncimii rizurilor și a zgârieturilor provenite de la prelucrarea anterioară. Prin lustruire se îndepărtează cantități relativ reduse de metal. De multe ori lustruirea poate fi executată și după alte procese chimice sau electrochimice, pentru a se obține o calitate superioară a suprafeței.

4.1. Materiale abrazive

Materialele principale care se folosesc pentru așchiera și netezirea suprafeței metalului sunt așa-numitele substanțe abrazive sau dure. Ca material abraziv poate fi folosit orice mineral natural sau sintetic ale cărui granule prezintă duritate ridicată și proprietăți așchietoare. Materialele abrazive trebuie să aibă muchii ascuțite pe care le păstrează chiar dacă se sparg; mărimea granulelor este standardizată (STAS 1753-76).

Tabelul 4.1. conține materialele abrazive utilizate în practica șlefuirii și lustruirii, iar tabelul 4.2 conține mărimea granulelor de abrazivi folosiți la prelucrarea suprafețelor metalice prin șlefuire și lustruire [75], [102].

Tabelul 4.1. Materiale abrazive pentru șlefuire și lustruire

Felul materialului abraziv	Denumirea materialului abraziv	Domeniul de utilizare	Observații
Naturale	Corindon, piatră ponce, cuarț, șmirghel, tripoli, crocus, diamant	Numai în cazuri particulare	

Sintetice	Carbură de siliciu, electrocorund, oxid de aluminiu, carbură de bor, carbură de wolfram	Pentru șlefuirea oțelului cu conținut ridicat de carbon, oțeluri rapide, bronzuri;	În special Al ₂ O ₃
		Metale moi cu rezistență redusă de rupere, alame, bronzuri, Al, Cu, metale sinterizate	În special SiC
Pulberi abrazive	Oxid roșu de fier, var de Viena, oxid verde de crom (Cr ₂ O ₃), cretă	Metale nobile, nichel, crom oțeluri	Colțuri rotunjite

Tabelul 4.2. Mărimea granulelor de abrazivi

Granulația conform STAS 1753-76		Clasificarea conform STAS 4202-63	Întrebuințare	Frațiunea principală trece prin sita cu dimensiunea nominală a laturii ochiului
Sistemul metric (0,01 mm)	În țoli			
200	10	Grosolan	Degroșări. Șlefuire din care rezultă șpan puțin	2500
160	12			2000
125	16			1660
100	20			1250
80	24			1000
63	30	Mijlociu	Pentru șlefuire fină	800
50	36			630
40	46			500
32	54			400
25	60	Fină	Pentru lustruire	315
20	70			250
16	80			200
12	100			160
10	120			125
	150	Foarte fină	Lustruire fină	100
6	180			80
5	230			63
4	250			50

4.2. Discuri de șlefuit și lustruit

Tabelul 4.3. sunt prezentate cuprinde câteva tipuri de discuri întrebuințate în fazele pregătirii suprafețelor metalice de la șlefuirea brută până la lustruirea finală.

Materialul abraziv înglobat în liant și aplicat pe discuri formează dispozitivul de prelucrare a metalelor prin șlefuire și lustruire.

Tabelul 4.3. Discuri de șlefuit și lustruit

Materialul discului	Liantul pentru înglobarea materialului abraziv	Domeniul de utilizare	Observații
Material abrazive, SiC, corindon, șmirghel	Argilă refractară, caolin, feldspat, talc, pulbere de silice	Șlefuire brută, degroșare	Se numesc discuri abrazive
Lemn, pâslă, piele fibră (sisal)	Clei de tâmplărie, silicat de sodiu etc.; rășini epoxidice, clei urelit, lacuri de bachelită	Șlefuire fină	-
Țesătură (de bumbac), dril, finet, barchet, pânză cort	Grăsimi și uleiuri semisolide	Lustruire	Pentru piese de formă complicată
Cauciuc	Clei de tâmplărie, cauciuc	Șlefuire	-
Discuri lamelare confecționate din hârtie abrazivă	-	Șlefuiți de diverse grade	Pentru piese de formă complicată
Perii din fibră sisal	-	Mătuire, îndepărtarea urmelor mai mari de șlefuire	În special pentru aluminiu

4.3. Defecte care apar în timpul șlefuirii

Cauzele apariției acestor defecte pot fi:

- *defecțiuni vizibile și invizibile ale materialului*: zgârieturi pe suprafețe, incluziuni de zgură, urme adânci de laminare;
- *defecțiuni cauzate de sculele de șlefuire*: inexactitatea discului (excentricitatea), trepidația axului, material abraziv cu granulație neuniformă;
- *defecțiuni care provin din cauza neglijenței lucrătorilor*: scule necorespunzătoare, șlefuire neuniformă, apăsare prea tare sau insuficientă a piesei pe discuri, proces tehnologic inversat, omiterea unor faze de șlefuire;
- adânciturile se formează pe suprafața pieselor dacă discurile de șlefuit nu au fost fasonate cu suficientă grijă;
- suprafețele lucioase pun în evidență și amplifică orice defecțiune existentă.

4.4. Șlefuirea suprafeței

Indiferent de metoda prin care au fost obținute, implantele necesită o prelucrare corespunzătoare a muchiilor și suprafețelor. Eventualele bavuri prezente s-ar putea detașa în timpul sau post implantare, declanșând formarea unui granulom de corp străin. Muchiile tăietoare ar putea provoca leziuni la nivelul țesuturilor adiacente. În plus, formele ascuțite se comportă ca niște concentratori de sarcină, accelerând proceselor de coroziune [69], [102].

Șlefuirea suprafețelor se face cu materiale abrazive, în următoarele etape:

1. Șlefuirea de degroșare - se face la polizor, prin apăsare ușoară, folosind discuri abrazive de carborund sau electrorund cu număr de granulație 25-16.
2. Șlefuirea intermediară se face pe hârtie de șlefuit cu granulație crescândă în finețe, începând cu granulația 20.
3. Șlefuirea fină se face cu hârtie de șlefuit cu granulație crescândă în finețe, începând cu granulația 8.

În cazul șlefuirii manuale, se fixează hârtia de șlefuit pe o placă metalică sau de sticlă, proba metalografică fiind mișcată prin apăsare.

4.5. Lustruirea suprafețelor

Lustruirea suprafețelor are o importanță deosebită, deoarece calitatea acesteia poate influența decisiv modul în care implantul este acceptat de organism. Ea poate fi realizată prin metode mecanice, chimice și electrochimice.

4.5.1 Lustruirea mecanică

Lustruirea probelor se execută mecanic cu mașina de lustruit, care este prevăzută cu un disc rotitor pe care se fixează o pâslă din lână merinos. La lustruire se depune pe pâslă o suspensie de oxid de aluminiu (alumină), oxid de magneziu, praf de diamant (sau spray) de diferite granulații (1,2 - 5,6 μm). Proba lustruită se spală cu apă, se degresează cu alcool și apoi se usucă prin tamponare cu vată sau hârtie de filtru, recomandabilă fiind uscarea într-un curent de aer cald.

Șlefuirea și lustruirea mecanică pe aparate automate se aplică tot mai mult, în special, când se are în vedere un număr ridicat de probe. În figura 4.1 se prezintă mașina de șlefuit și lustruit probe metalografice, Jean WIRTZ PHONIX 4000/2.



Fig. 4.1 Mașina de șlefuit și lustruit probe metalografice

Aparatul are un trunchi metalic pe care sunt fixate simultan 6 probe. Pe cele 2 discuri se poate fixa hârtia metalografică de o anumită granulație sau pâsla necesară lustruirii probelor. Probele sunt fixate pe un suport metalic sau pe suporturi din masă plastică.

Axul motorului asigură suportului cu probe o mișcare de rotație uniformă pe suprafața discului cu hârtie metalografică, ce se rotește în sens invers, cu o viteză de rotație foarte mare.

4.5.2 Lustruirea chimică

Lustruirea chimică se recomandă în cazul unor suprafețe metalice bine pregătite anterior, curate, pentru piesele cu un profil complicat, a căror curățare este dificilă prin alte metode. Metoda permite și o netezire simultană a microasperităților suprafețelor. De asemenea se pretează foarte bine atunci când se urmărește obținerea unui anumit grad de luciu [75].

Avantajele lustruirii chimice constau în obținerea unor suprafețe netede-lucioase fără utilizarea unei surse de curent exterioare; la lustruirea aliajelor se elimină pericolul de dizolvare al componentilor de aliere, evitând astfel declanșarea unor fenomene de coroziune electrochimică.

În cazul titanului ea este destul de greu de realizat, datorită stabilității chimice ridicate a acestuia. Pot fi folosite două rețete, ambele având la bază acidul fluorhidric HF:

În tabelul 4.4 sunt prezentate două rețete ce pot fi aplicate pentru lustruirea titanului, precum și parametrii de lucru. Prima rețetă este mai agresivă și își găsește justificarea în cazul suprafețelor cu țunder.

Cea de a doua rețetă are o acțiune mai blândă, fiind utilizată în special în cazul pieselor care au suferit deja o lustruire mecanică prealabilă, având mai mult un scop corector și de a conferi un aspect mai plăcut suprafețelor.

Tabelul 4.4. Compoziția chimică a soluțiilor utilizate pentru lustruirea Ti

Metalul lustruit	HNO₃ d = 1,40	280 ml	45-50	1
	Compoziția soluției	Cantitate (masa, volum, %)	Parametrii de lustruire	
	HF d = 1,15	60 ml	Temperatura (°C)	Durata (min)
	apa	660 ml		
Titan	Rețeta 1			
	H₂SO₄ d = 1,84	200 ml	60-65	1-2
	HNO₃ d = 1,40	200 ml		
	HF d = 1,15	100 ml		
	Rețeta 2			

Figura 4.2. reprezintă o plăcuță confecționată din Ti, cu dimensiunile de 20x10x1,5 mm, decupată prin electroeroziune. În figura 4.2. a se observă porțiunile de pe margini, de culoare mai închisă, provocate de acțiunea arcului electric, precum și o serie de zgârieturi și incluziuni de zgură pe suprafață.

Deoarece placuța prezentă o suprafață cu multe incluziuni și neregularități, având în același timp și un grad redus de prelucrare, fără muchii sau suprafețe care să necesite o menajare, a fost preferată rețeta 1, mai agresivă și cu rezultate mai rapide în acest caz.

În fig. 4.2. b se observă aceeași plăcuță, după ce a fost lustruită chimic.

În urma procesului de lustruire, au fost eliminate cele mai multe impurități și neregularități de pe suprafața probei, aceasta recăpătându-și culoarea și luciul caracteristice titanului.

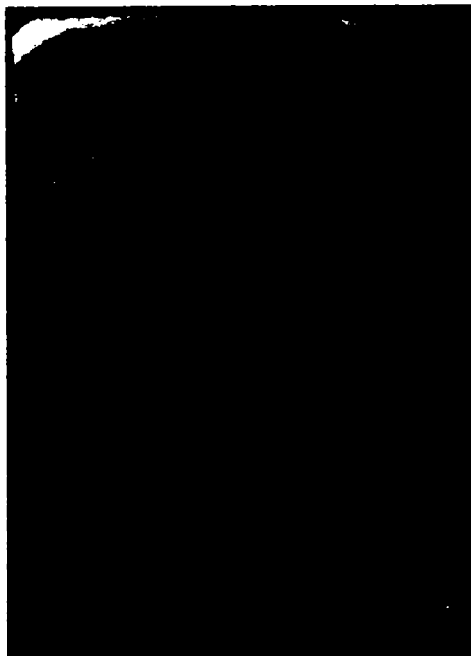


Fig. 4.2.a Plăcuță Ti nelustruită

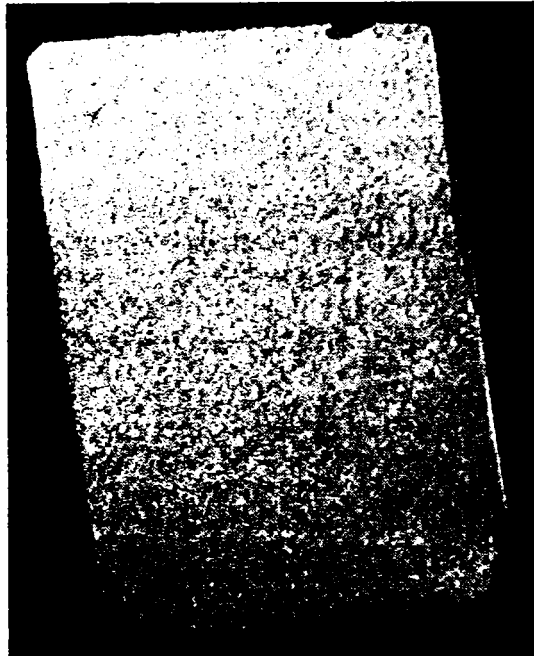


Fig. 4.2. b Plăcuță Ti lustruită chimic

În concluzie, lustruirea chimică a titanului își găsește justificare datorită multipleror avantaje pe care le prezintă:

- cantitatea de manoperă necesară pentru lustruirea chimică este mult mai mică decât în cazul lustruirii mecanice;
- timpul necesar pentru această etapă a procesului de finisare este mult mai mic;
- nu produce deformări, decalibrări sau tensiuni în material;
- poate pătrunde și în regiuni mai greu sau inaccesibile lustruirii mecanice (orificii, suprafețe filetate, etc.);
- calitate superioară a suprafețelor;
- HNO_3 care intră în compoziția amestecurilor de lustruire chimică are și un efect de pasivare și stabilizare a suprafețelor.

O contribuție personală a constat în elaborarea câtorva rețete de lustruire chimică a Ti, adaptate în funcție de tipul și particularitățile suprafeței care se lustruiește. Acestea sunt prezentate în tabelul 4.4. Prima soluție se poate utiliza în cazul suprafețelor cu un grad redus de prelucrare și acoperire cu țunder. Caracterul agresiv al soluției, dat de concentrația mare a reactanților, permite remedierea unor defecte destul de mari de pe suprafața probei.

Reactanții celei de a doua soluții sunt mai diluați, acțiunea soluției este mai puțin agresivă, lustruirea durează puțin mai mult, dar se pretează pentru suprafețe mai sensibile, cu un grad crescut de prelucrare și cu o geometrie mai complexă. Pentru situații intermediare, reactanții au fost amestecați și în alte rapoarte.

4.5.3. Lustruirea electrochimică

Tehnica electrolustruirii își are originea în lucrările consacrate fenomenului de netezire a neregularităților superficiale ale cuprului prin dizolvare anodică, în soluții de pirofosfat [75].

Fenomenul este deosebit de complex. Este de menționat, de pildă caracterul oscilant periodic al potențialului, la o densitate de curent dată; amortizarea oscilațiilor în timp depinde de puritatea metalului anodic. În zona curentului limită, unde și capacitatea de lustruire este maximă, anodul manifestă proprietăți electrochimice apreciabile, asociate cu apariția unui film semiconductor superficial. Proprietățile semiconductoare și grosimea extrem de redusă a stratului au fost puse în evidență prin măsurători ale rezistenței și capacității stratului dublu de la interfața metal/electrolit. Nu lipsesc nici dovezi despre caracterul de fenomen controlat prin transport de masă. Viteza de diminuare a neregularităților de pe suprafața metalului variază exponențial cu timpul.

Fenomenului de electrolustruire, adică al dizolvării mai rapide a proeminențelor de pe suprafața metalică, i se pot da mai multe explicații. Una dintre ele ia în considerare distribuția primară a curentului și concentrarea liniilor de câmp pe proeminențe. Alta face apel la așa numitul *efect Kelvin*, conform căruia entalpia liberă superficială a atomilor metalici ce urmează să fie dislocați din metal și dizolvați este superioară pe proeminențe, în comparație cu zonele din adânciturile profilului. Nu trebuie neglijate nici defectele de rețea sau tensiunile induse în structura superficială, de tratamentele la care a fost supusă piesa și nici fluxurile difuzive ale ionilor rezultați prin oxidarea anodică, mult mai mari pe proeminențe decât în adâncituri; pe vârfuri câmpul de difuzie convexă permite transport difuziv sferic. În sfârșit, filmele pasivante superficiale se constituie mai ușor în adâncituri decât pe vârfuri și în anumite cazuri, fixarea adsorbivă specifică a unor ioni (ClO_4^- , Cl^- , etc.) dotați cu proprietăți de anihilare a filmelor pasivante protectoare manifestă preferință pentru proeminențe.

Pe baza datelor experimentale acumulate, condiționarea fenomenului apare specifică (în funcție de sistem) și relativ complexă, astfel că o singură explicație nu este posibilă. Dintre modelele existente, cel mai potrivit pare a fi cel care se bazează pe distribuția secundară a curentului, legată de controlul difuziv al curentului ce corespunde dizolvării. Existența unor specii complexogene în faza de volum și difuzia lor spre suprafața metalului care se dizolvă poate deveni determinantă de viteză; diferența dintre fluxul de agent complexogen pe vârfuri (mai mare) și cel din adâncituri (mai mic) poate genera unele modificări specifice, cum ar fi acumularea în adâncituri a ionilor metalici neangajați complex soldată cu apariția unei componente catodice, care micșorează, local, curentul anodic de dizolvare și producerea unor modificări în stratul de reacție (de exemplu formarea unui film de oxizi). Acestea condiționează apariția fenomenului de strălucire, observat în electrolustruire, în urma dizolvării cristalelor superficiale. Fenomenul s-ar datora acoperirii suprafeței cu un film protector, capabil să controleze dizolvarea și să o transforme într-un proces caracterizat prin hazard fără neomogenități energetice pe suprafața metalului.

Acceptând controlul difuziv al electrolustruirii unui profil regulat putem considera că mecanismul reacției are loc în 3 etape:

1. Formarea adatomului, ionizarea lui și expulzarea lui de-a curmezișul stratului dublu;
2. Angajarea în complex a ionului în preajma electrozudului;
3. Difuzia ionului complex spre faza de volum a soluției.

Lustruirea electrochimică este o operație de prelucrare a suprafețelor metalice prin care se realizează nivelarea acestora. În acest scop, piesa de lustruit reprezintă anodul iar electroliții folosiți pot fi acizi sau alcalini.

Pregătirea prealabilă a probelor în vederea lustruirii electrochimice se face până la un stadiu care asigură denivelări sub 2 μm , ceea ce corespunde unei lustruiri pe 3-4 hârtii metalografice.

Avantajele procedurii constau în simplitate, fiabilitate și în faptul că se pretează la automatizare. În plus se evită deformările pieselor, se produce o pasivare care îmbunătățește rezistența la coroziune și se pun în evidență defectele de suprafață.

Eficacitatea netezirii microreliefului prin lustruire electrochimică depinde de regimul de electroliză și de calitatea inițială a suprafețelor.

În principiu, electroliții folosiți în tehnica lustruirii electrochimice trebuie să conțină trei componente:

- un oxidant care promovează dizolvarea anodică și formarea unui strat de oxid pe suprafața metalului (de ex. acidul azotic sau percloric) sau în general un agent complexogen, de exemplu F^- , CN^- sau BF_4^- ;
- un agent de depasivare, în general un acid sau hidroxid alcalin, în asemenea concentrații încât stratul protector de oxid să fie foarte puțin stabil și să se mențină doar la o grosime mică;
- un promotor al stratului de difuzie, care în general este un component având vâscozitate mare (glicerina, H_2SO_4 , H_3PO_4) sau un component care scade concentrația efectivă a moleculelor de apă (de exemplu anhidrida acetică sau un alcool).

Acidul ortofosforic este adesea considerat ca fiind electrolitul care întrunește toate cele trei condiții.

Probele lustruite electrochimic au o rezistență mai mare la coroziune în comparație cu cele lustruite pe cale mecanică.

Adaosul unor substanțe anorganice și organice mărește considerabil gradul de luciu obținut; fluorura de potasiu și manitolul în concentrații de 7,1 g/l respectiv 3,2 g/l acționează în acest sens.

Electroliții cu acid fosforic și anhidridă cromică permit aplicarea unor densități de curent mai mici, ceea ce constituie un avantaj economic.

Tendențele noi în domeniul perfecționării procesului de lustruire electrochimică sunt îndreptate spre creșterea durabilității electroliților, scăderea temperaturii și a densității de curent. În acest scop s-a propus introducerea în electrolit a unor adaosuri de substanțe organice ca de exemplu manitolul sau acidul lactic, care pot acționa și ca inhibitori de coroziune. Adăugarea acestor compuși coboară densitatea anodică de curent optimă pentru lustruire și îmbunătățește gradul de reflexie al suprafețelor lustruite.

În tabelul 4.5. sunt date compozițiile electroliților pentru lustruirea electrochimică și regimul de lustruire în cazul titanului.

Tabelul 4.5. Compoziția electroliților pentru lustruirea electrochimică a titanului și regimul de lucru

Metalul de lustruit	Compoziția soluției	Concentrația	Temp. °C	Densitate de curent A/dm ²	Tensiune V	Durata min	Material catodic
Titan	CrO ₃ HF 40%	400 g/l 100 ml/l	25	20-50	-	1-3	Oțel inox. plumb
	Etilenglicol HF 40% Apă	8,8% greut. 6,0 % greut. 6,0 % greut.	40-45	8-11	-	4-6	Oțel inox.
	Glicerină HNO ₃ d=1,4 HF 40%	600 ml 100 ml 200 ml	20-30	20-30	-	2-5	Platină
	Etilenglicol HF 40% NH ₄ F NH ₄ NO ₃ Apă H ₃ PO ₄ d=1,4 Tetraoxalat de potasiu Apă	81 % greut. 3 % greut. 5 % greut. 5 % greut. 6 % greut. 40-70% greut 1-15% greut Rest	25 25	20-30 15-35	- -	1-5 2-5	Platină Oțel inox.

4.5.4. Metode de pasivare și stabilizare a suprafețelor metalice

Pasivarea are rolul de a stabiliza comportamentul la coroziune, prin scăderea energiei de suprafață. Ea poate fi realizată prin mai multe moduri:

Pasivarea cu acid azotic – se face în concordanță cu ASTM F86-04, metoda dezvoltată inițial pentru a crește rezistența la coroziune a implantelor chirurgicale realizate din oțeluri inoxidabile sau aliaje pe bază de cobalt – crom [144]. Ea și-a dovedit eficacitatea și în cazul tratării suprafețelor implantelor chirurgicale realizate din titan, în special datorită acțiunii asupra filmului de oxid ce ia naștere pe suprafața acestora. Cu toate acestea, în special în cazul aliajelor de Ti6Al4V, uneori se poate observa și fenomenul invers, de reducere a grosimii stratului și o eliberare de ioni metalici.

Pasivarea termică a fost considerată drept un tratament favorabil de stabilizare deoarece duce la creșterea grosimii filmului protector și reduce concentrația titanului aflat în stări de oxidare mai puțin stabile: +II și +III. De asemenea a mai fost remarcat faptul că un tratament la 400°C reduce concentrația hidroxizilor de pe suprafață, datorită desorbției acestora.

Pe suprafețele tratate termic (400 °C) ale unor probe de Ti-6Al-4V a fost pusă în evidență prezența Ti, Al și V în formă redusă și formarea unui strat protector de oxid mai compact, parțial microcristalin (rutil).

Tratamentul de îmbătrânire, constând în fierberea probelor în apă distilată, are efecte favorabile și de stabilizare a stratului protector de oxid, în special în cazul probelor pasivate în HNO₃. O creștere ușoară a grosimii stratului de oxid (aprox. 1 nm) a fost observată după 4 ore de fierbere în apă distilată.

Tratamentul în plasmă în atmosferă de oxigen duce de asemenea la creșterea grosimii stratului de oxid cu 5-6 nm.

Oxidarea anodică este un proces foarte important, folosit pe scară largă pentru Ti și aliajele acestuia.

În concluzie, există multe argumente care pledează în favoarea tratamentelor de stabilizare, efectuate cu scopul de a îmbunătăți rezistența la coroziune a Ti și a aliajelor lui, reducându-se astfel și cantitatea de ioni metalici eliberați în mediul biologic. Chiar dacă acestea prezintă o tendință naturală de îmbătrânire, ea se produce doar în timp. Prin urmare tratamentele de stabilizare ale suprafețelor pot fi foarte utile în perioada imediat următoare implantării, reducând probabilitatea eliberării unor specii metalice. În etapele următoare ale procesului de integrare a implantelor, *in vivo*, nu mai pot fi observate diferențe între suprafețele stabilizate și cele nestabilizate.

Efectele favorabile ale pasivării asupra comportamentului la coroziune pot fi puse cel mai ușor în evidență prin metode electrochimice. În exemplul de mai jos se studiază comportamentul unei plăcuțe din Ti, cu dimensiunile de 20x10x1,5 mm, anodizată în prealabil la o tensiune de 40 V, în mediu de H₂SO₄ 1 M. Pasivarea probei s-a efectuat conform ASTM F86-04, în laboratorul LOIFFO [144], [178], [179], [180].

Determinarea comportamentului la coroziune s-a realizat prin voltametrie ciclică, utilizându-se soluția Hartman ca mediu coroziv.

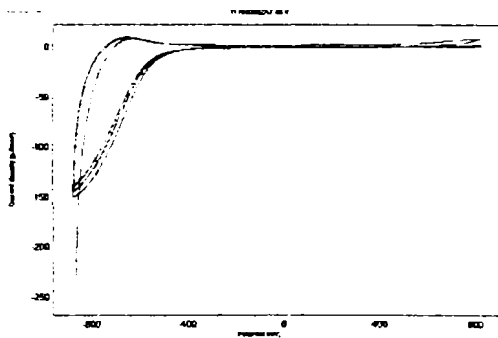


Fig. 4.3. a. Înainte de pasivare, voltametrie ciclică

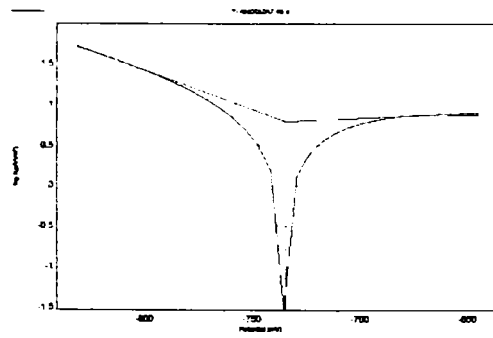


Fig. 4.3. b. Înainte de pasivare, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 53,62 μm/an

E(i=0) = -737,2 mV

i corrosion = 6,1556 μA/cm²

Rp = 9.02 kΩ*cm²

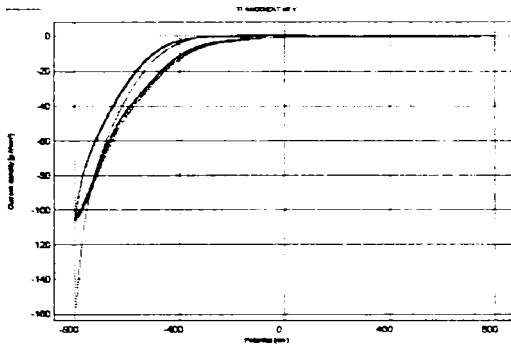


Fig. 4.4. a După pasivare, voltametrie ciclică

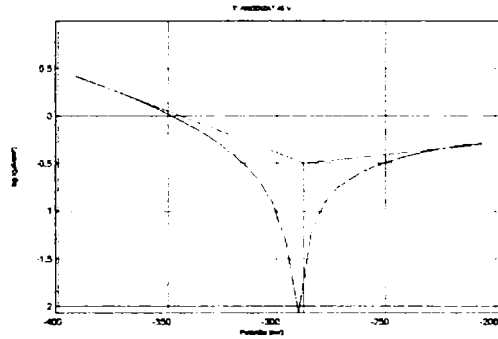


Fig. 4.4. b După pasivare, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 2,781 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -287,4 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,3193 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 116,64 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

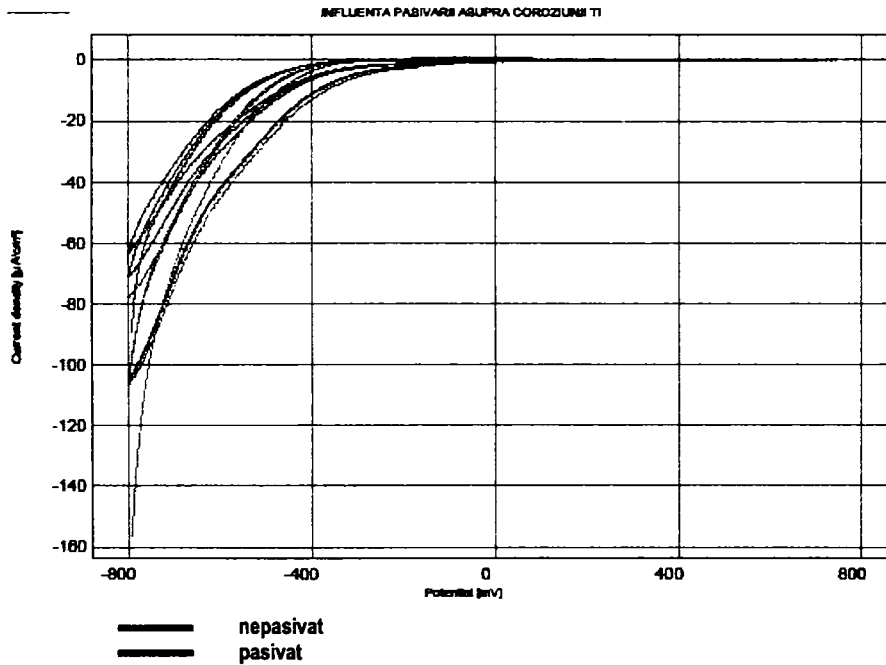


Fig. 4.5. Influența pasivării asupra vitezei de coroziune.
Suprapunerea celor două voltamograme

Se observă că pasivarea plăcuței de Ti reduce în mod semnificativ viteza de coroziune, de la 53,62 $\mu\text{m}/\text{an}$ în cazul probei nepasivate la doar 2,781 $\mu\text{m}/\text{an}$ în cazul celei pasivate.

Chiar dacă suprafețele sunt stabile pentru ambele probe și curbele de polarizare anodice se suprapun peste cele catodice pentru toate ciclurile, se observă că pentru aceleași valori ale densităților de curent, suprafața descrisă de curbe este mai mare pentru proba nepasivată decât pentru cea pasivată. Prin urmare și viteza de coroziune va fi corespunzător mai mare [136], [146], [180].

O contribuție personală a constat în demonstrarea eficienței pasivării asupra implantelor din Ti confecționate în cadrul LOPIFO.

4.6. Tratarea chimică și electrochimică a suprafeței implantelor de Ti

Aceste metode includ pasivarea, anodizarea colorată, anodizarea alcalină și electrolustruirea. Ultima poate fi aplicată înainte sau după anodizare. Cea mai importantă aplicație a tratamentelor electrochimice este anodizarea colorată. Aceasta aduce un plus de funcționalitate implantelor stomatologice și ortopedice. În urma acestui tratament, suprafețele câștiga un plus de rezistență la uzură și coroziune, precum și o ameliorare a răspunsului biologic [36], [38], [46].

4.6.1. Bazele teoretice ale procesului de anodizare

Datorită faptului că procesul este deosebit de complex, el nu a fost încă deplin elucidat. Procesul poate fi împărțit în trei faze, reprezentate în figura 4.6 [38].

1. Faza de anodizare;
2. Străpungerea stratului de oxid;
3. Formarea unui strat nou, cu proprietăți ameliorate.

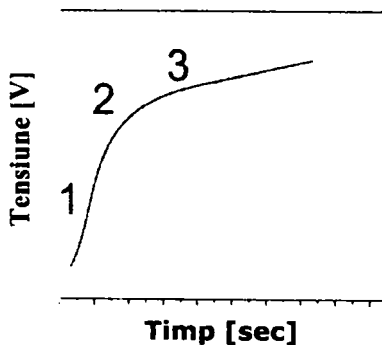


Fig. 4.6. Variația tensiunii în timp pentru cele trei faze ale anodizării

În prima fază, care durează de obicei primele 20-30 secunde, pe suprafața anodului se formează un strat de oxid metalic. Reacția poate fi împărțită în două etape:

Prima are loc la nivelul interfeței titani/oxid de titan



Și a doua:



Suma reacțiilor ce au loc la nivelul ambelor interfețe poate fi formulată astfel:



Oxidul de titan are o rezistență electrică mult mai mare decât electrolitul. Prin urmare căderea de tensiune se produce în principal de-a lungul stratului de oxid. Ionii de Ti și de oxigen vor migra prin acest film sub acțiunea câmpului electric produs de căderea de tensiune. Atât timp cât câmpul electric este destul de puternic pentru a forța trecerea ionilor prin oxid, grosimea stratului de oxid va crește. Grosimea finală a acestuia va fi proporțională cu diferența de potențial aplicat. Viteza medie de creștere se situează în jurul valorilor de 1,5-3 nm /V. Această estimare este valabilă doar peste limita potențialului de străpungere a stratului de oxid. Aceasta depinde de rândul ei de compoziția electrolitului și de regimul de anodizare. Tensiunea tipică de străpungere variază în jurul valorii de 100V. Filmul anodic conține anastase și oxid de titan amorf [35], [66].

Pe parcursul creșterii stratului de oxid, acesta poate fi impurificat cu anioni încorporați din electrolit.

Un proces de anodizare standard, utilizat în scop de protecție anticorozivă sau decorativă, se termină de obicei în această fază.

Tratamentul de anodizare în plasmă (APC treatment) este o formă mai avansată și extremă de oxidare anodică, care duce, în a doua fază a procesului, la străpungerea electrică a stratului – barieră de oxid format în prima fază a procesului.

Pentru a ioniza centrele de impurități încorporate în prima fază este necesar un câmp electric E puternic. Anionii încorporați acționează ca donori, eliberând electroni în banda de conducție a oxidului.

Dacă grosimea stratului de oxid depășește drumul liber mediu al electronilor, electronii prezenți în banda de conducere câștigă suficientă energie în câmpul de anodizare pentru a fi capabili să ionizeze atomii înconjurători din stratul de oxid. Procesul de anodizare duce atât la multiplicarea electronilor mobili cât și la ruperea legăturilor ionice între constituenții oxidici.

În momentul în care curentul electric atinge o densitate critică locală, are loc o descărcare electrică primară în punctul cel mai slab al stratului de oxid, anume la nivelul structurilor tip bulă. Lumina emisă de electronii ce se recombina cu ionii poate fi observată sub forma unor scânteii ce se deplasează pe întreaga suprafață a anodului [35], [66].

Energia acestor scânteii este foarte mare. Pentru o singură scântea se măsoară o putere disipată de 35 W și o densitate de curent peste 10⁴ A /cm². Se poate concluziona că densitatea de energie este suficient de mare pentru a genera local temperaturi extrem de mari (până la 8000 °C pentru o singură descărcare, pe o suprafață cu diametrul de 1μm). Intervalul dintre descărcări este de 10 - 20 μs.

Disiparea unei cantități mari de energie rezultată în urma procesului de străpungere are ca efect topirea materialului anodic și o reacție chimică a acestuia cu electrolitul.

În cea de a treia și ultima etapă a procesului de APC, stratul de oxid metalic nou format duce la refacerea stratului de oxid la locul străpungerii prin formarea unui nou strat de acoperire oxidică, cu o grosime de aproximativ 1 μm . Solidificarea și răcirea din locul străpungerii provoacă un stress termic care se transmite stratului de oxid înconjurător, ducând la o nouă străpungere electrică, în vecinătatea primei. Acest proces se repetă până când întreaga suprafață este acoperită cu un nou strat de oxid, mai gros, care conține un substrat din oxizi metalici, o fază mixtă alcătuită din substrat și constituenții electrolitului și o fază constând exclusiv din constituenții electrolitului [36].

Curentul de străpungere, care se presupune proporțional cu curentul de anodizare, crește proporțional cu grosimea stratului, deoarece au loc tot mai multe ionizări de impact.

Un alt aspect important se referă la corelația dintre tensiunea de străpungere și concentrația electrolitului. Deoarece densitatea curentului de străpungere este direct proporțională cu cantitatea de anioni încorporați în stratul de oxid, densitatea critică a curentului de străpungere este atinsă mai repede în cazul unei concentrații mai mari a electrolitului. Prin urmare tensiunea de străpungere VB scade odată cu creșterea concentrației electrolitului.

Practic, prin aplicarea unei tensiuni pozitive pe suprafața unei probe din titan, imersate într-un electrolit, se produce fenomenul de oxidare anodică (anodizare), tradus prin formarea unui strat nou, mai gros, de TiO_2 . Atunci când potențialul aplicat crește peste un anumit prag, pe suprafața probei se produc microarcuri electrice, ca urmare a străpungerii stratului dielectric de TiO_2 . Din momentul în care apar aceste străpungeri, ionii de Ti din implant și cei de HO^- din electrolit încep să se deplaseze în direcții inverse unii față de alții, formând foarte rapid un nou strat de TiO_2 . Stratul nou format este poros și prezintă o aderență fermă față de substrat, elemente benefice pentru comportamentul ulterior al implantului.

Un alt avantaj al procesului de anodizare în arc constă în posibilitatea încorporării ionilor de P și Ca în stratul de suprafață, prin controlul compoziției și concentrației electrolitului. Printr-un tratament hidrotermic corespunzător, aceștia pot chiar să cristalizeze sub formă de hidroxiapatită sau alți fosfați de calciu.

Studii recente, care au avut în vedere răspunsul biologic la acțiunea implantelor din Ti, au demonstrat că procesul de anodizare în arc reprezintă una dintre cele mai bune metode de modificare a suprafeței implantelor.

Acest tratament este capabil să:

- crească grosimea stratului de oxid;
- înglobeze în stratul oxidic diferiți ioni;
- moduleze proprietățile hidrofiele sau hidrofobe ale substratului.

În particular pentru aplicațiile biomedicale, este posibil ca să:

- crească absorbția selectivă a unor proteine specifice;
- crească capacitatea de osteointegrare;
- reducă aderența bacteriană;
- se funcționalizeze suprafața cu ajutorul unor compuși macromoleculari.

Rezistența la coroziune a titanului se datorează formării spontane a unui strat oxidic având grosimea de 2-10 nm. Cu ajutorul procesului electrochimic de oxidare anodică este posibil să se crească grosimea acestuia până la 100 – 300 nm și chiar mai mult. Ca urmare a acestui proces, sunt ameliorate biocompatibilitatea și rezistența la coroziune.

4.6.2. Fenomenul de interferență optică

Atunci când lumina trece prin stratul de oxid de titan cu o grosime crescută, se produce fenomenul de interferență. Practic, microporii prezenți pe suprafața probei anodizate se comportă ca o rețea de difracție. Prin urmare nici culoarea rezultată nu este una reală, datorată unei pigmentări de suprafață, ci mai degrabă una optică, rezultată prin interferență și care depinde într-o mare măsură nu doar de grosimea stratului și de diametrul porilor, ci și de natura și proprietățile fascicolului incident. Fenomenul este reprezentat schematic în figura 4.7:

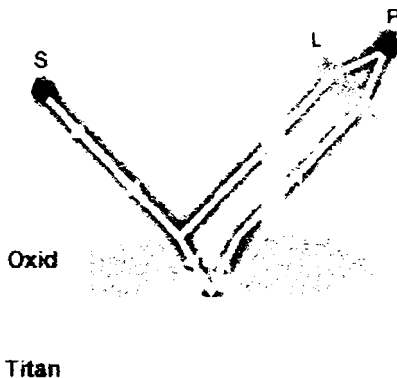


Fig. 4.7. Interferența optică pe suprafața probei de Ti anodizat

În figura 4.7, L este cristalul și P este retina. Lumina provenită de la sursa S este reflectată atât de suprafața stratului extern cât și de stratul de titan situate sub acesta. Fascicolul reflectat ajunge în punctul P defazat în mod diferit, funcție de proprietățile stratului de oxid.

Există o corelație foarte bună între potențialul de anodizare aplicat, grosimea stratului de oxid și culoarea rezultată. Prin urmare, controlând potențialul, este posibil să se obțină o anumită culoare. Paleta culorilor ce pot fi obținute prin anodizarea titanului este reprezentată în figura 4.8.

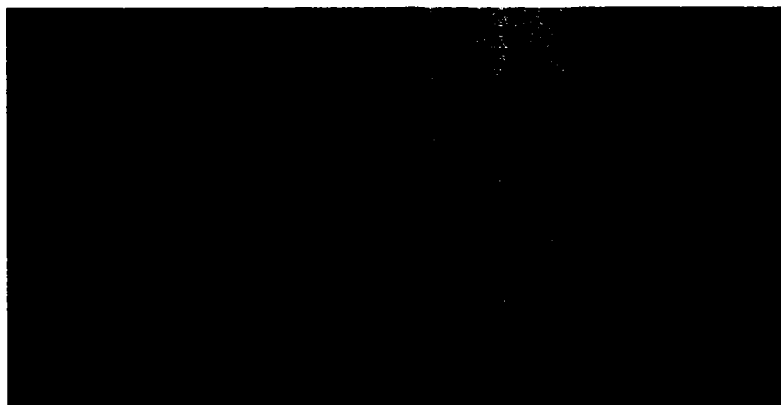


Fig. 4.8. Paleta de culori ce pot fi obținute prin anodizarea Ti

4.6.3. Realizarea experimentală a anodizării

Scopul acestor *tratamente biomimetice* este acela de a modifica oxidul de titan de pe suprafața implantului astfel încât mediul biologic să intre în contact cu o suprafață care simulează (mimează) proprietățile fiziologice ale osului în curs de remodelare.

Noile suprafețe biomimetice ar trebui să prezinte:

- o morfologie controlată la scară micro dar și nano;
- proprietăți de adsorbție selectivă a proteinelor;
- aderența crescută a osteoblaștilor;
- stimularea mineralizării osoase.

Pentru partea experimentală s-au folosit plăcuțe confecționate din titan CP grade 2, având dimensiunile de 20x10x1,5 mm. Debitarea plăcuțelor s-a realizat cu ajutorul mașinii de electroeroziune cu fir DK7732F (figura 4.9) care face parte din categoria mașinilor unelte de dimensiuni gabaritice mici, echipată cu comandă numerică tip MNC-A. Mașina se evidențiază printr-un design „ecologic”, adică emisii reduse de zgomot și o protecție suplimentară la praf. Centrul de comandă numerică conferă precizie ridicată de prelucrare în condiții de economie de material [161], [178], [179], [180].

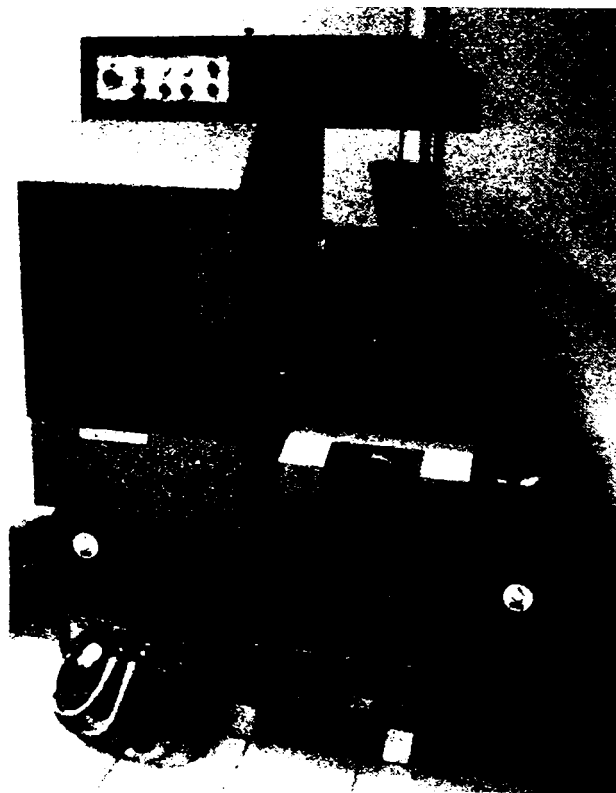


Fig. 4.9 Mașina de prelucrat prin electroeroziune tip DK7732F

Caracteristicile tehnice ale mașinii sunt:

- Dimensiuni masă de lucru (X,Y): 360x610 mm;
- Cursa maximă masă de lucru (X,Y): 320x400 mm;
- Precizie de poziționare: eroarea maximă pe oricare dintre axe este de 12 micrometri (0,012 mm);
- Greutatea maximă a piesei prelucrate: 350 kg;
- Dimensiunile maxime ale mașinii (X,Y,Z): 1300x1250x1700 mm;
- Grosimea maximă a piesei prelucrate: 300 mm;
- Grosimea firului de tăiere: 0,1+/- 0,3 mm;
- Dielectric : apă deionizată.

Principiul de funcționare a mașinii se bazează pe eroziunea materialului de prelucrat cu ajutorul descărcărilor electrice dintre semifabricat (conectat la un pol electric) și firul de lucru (conectat la celălalt pol). Mașina este capabilă să genereze contururi geometrice complicate, imposibil de realizat în alte condiții, de o precizie dimensională, a formei și rugozitate a suprafeței foarte bune. Se pot genera sau debita piese cu grosimi foarte diferite prin reglajul discret al intensității curentului din fir. Procesul are loc sub un mediu dielectric continuu care favorizează scânteierea.

După debitare, plăcuțele au fost prelucrate mecanic, pentru îndepărtarea bavurilor și rotunjirea muchiilor și a colțurilor, cu scopul de a se evita concentrarea de sarcini electrice în aceste regiuni. Etapa următoare a constat în lustruirea chimică a plăcuțelor, cu ajutorul unui amestec conținând HF, HNO₃ și H₂SO₄.

Ultima etapă de pregătire a plăcuțelor a constat în pasivarea lor, conform ASTM F86-04.

Anodizarea propriu - zisă s-a efectuat într-o soluție de H₃PO₄ cu concentrația 1M, (1 mol/litru) timp de 1 minut, în condiții potențiostatice. S-a efectuat o serie de anodizări la valori diferite ale tensiunii, cu scopul de a se determina o tensiune de anodizare pentru care stratul de oxid rezultat are un comportament optim din punct de vedere al grosimii, rezistenței la coroziune, rugozității și aderenței celulare. Valorile înregistrate ale parametrilor anodizării sunt sistematizate în tabelul 4.6.

Tabel 4.6 Parametrii electrici ai procesului de anodizare

Tensiune V	Curent maxim A
40	0,3
60	0,8
80	2,3
100	2,8
120	3,4
140	3,9
160	4,3
200	5,5
250	6
300	8

Analiza metalografică scoate în evidență modificări pe suprafața plăcuțelor, care au aspecte diferite, în funcție de potențialul aplicat.

Microstructurile au fost analizate cu ajutorul microscopului optic Olympus BX51M și stereo Olympus SZ7X din dotarea Laboratorului CIDUCOS – UPT, acreditat RENAR în baza SR EN ISO/ CEI 17025: 2005, certificat de acreditare nr. 477-L (figura 4.10).

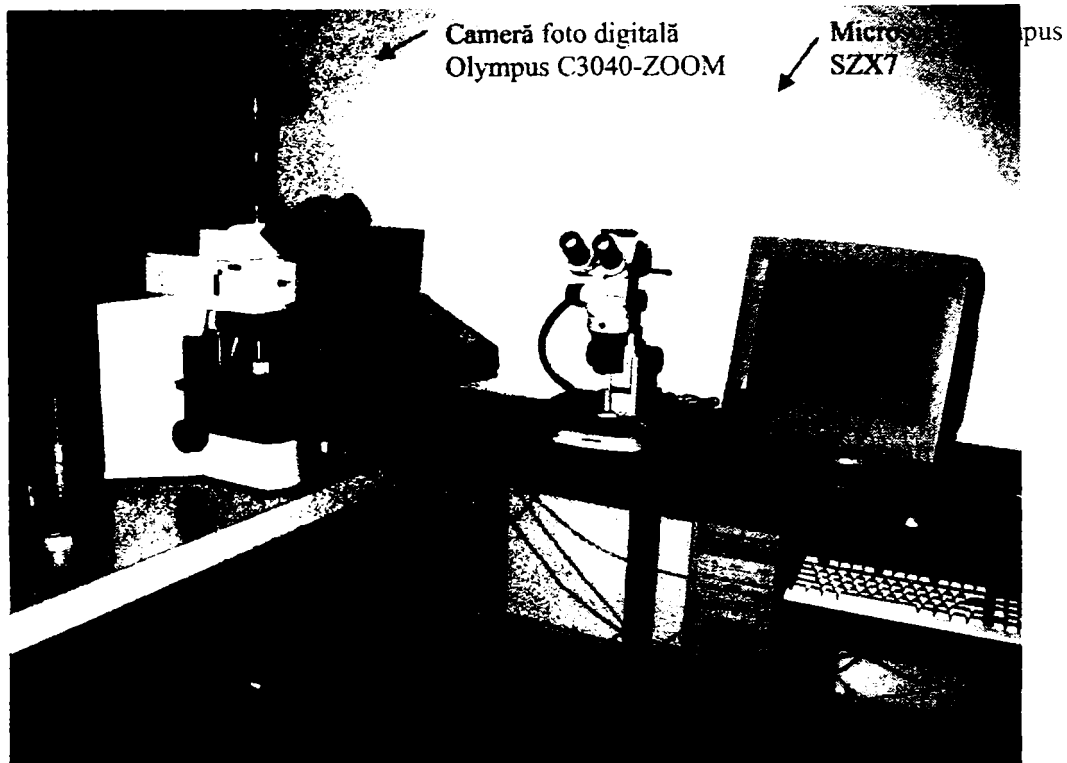


Fig. 4.10 Microscopul optic și stereo pentru examinări metalografice

Structura inițială a probelor analizate este formată din grăunți poliedrici de α -Ti, cu mărimea de grăunte corespunzătoare punctajului 8-9, (figura 4.11) [153].

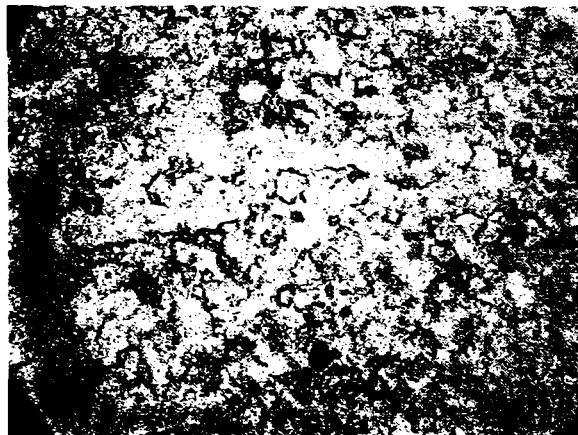


Fig. 4.11. Structura microscopică a probelor analizate, MO 500x

Pentru studierea caracteristicilor stratului anodizat, a fost analizată structura suprafeței pentru fiecare probă prin microscopie optică. Aspectele caracteristice sunt prezentate în figurile 4.12 – 4.20.

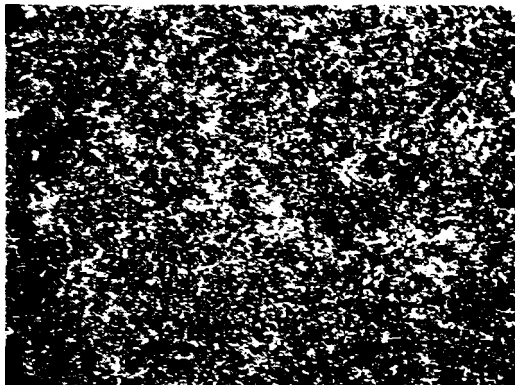


Fig. 4.12 a Structura microscopică a probei 40 V, MO 50x, lumină normală

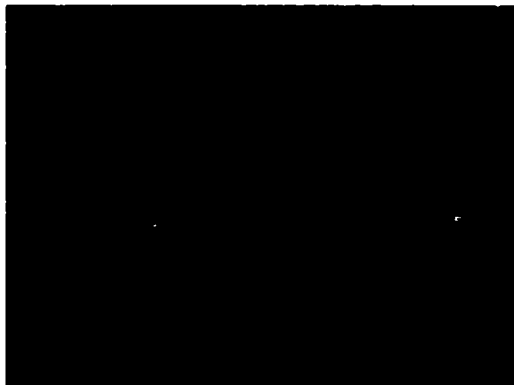


Fig. 4.12 b Structura microscopică a probei 40 V, MO 50x, lumină polarizată

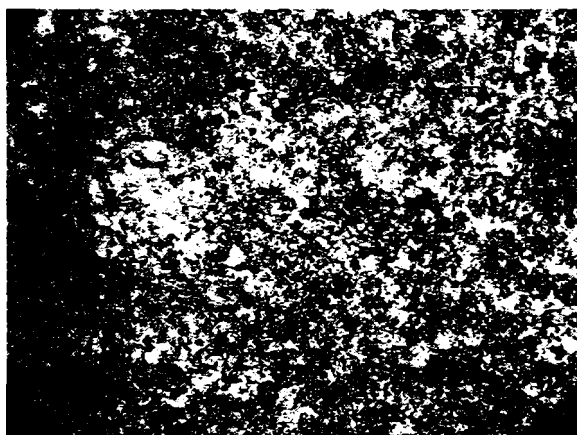


Fig. 4.12 c Structura microscopică a probei 40 V, MO 200x, lumină normală

Tensiunea de 40 V la care a fost realizată anodizarea este situată doar puțin deasupra valorii minime de stăpungere a stratului nativ de oxid. Modificările rezultate în acest caz sunt minime.

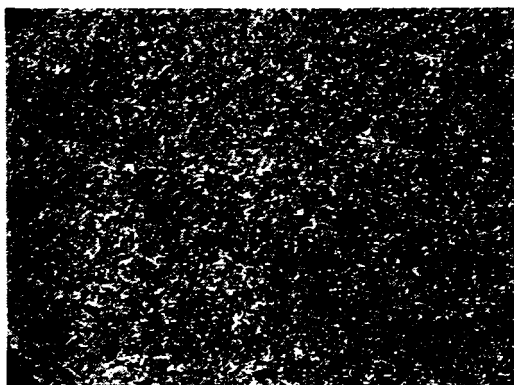


Fig. 4.13 a Structura microscopică a probei 60 V, MO 50x, lumină normală

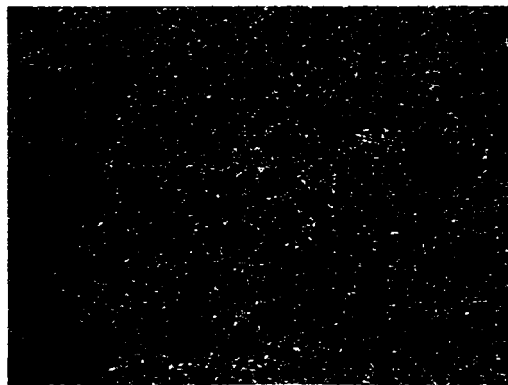


Fig. 4.13 b Structura microscopică a probei 60 V, MO 50x, lumină polarizată

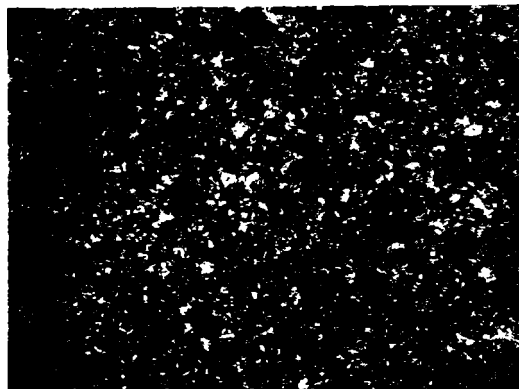


Fig. 4.13 c Structura microscopică a probei 60 V, MO 200x, lumină normală

După anodizarea Titanului la 60V încep să apară modificări vizibile pe suprafața plăcuțelor. Aceasta capătă o culoare roz-violet. Culoarea este optică, fiind produsă de porii ce iau naștere pe suprafața superficială de oxid de Titan și care se comportă ca o rețea de difracție. Ea variază (pentru toate probele) în funcție de caracteristicile luminii incidente.

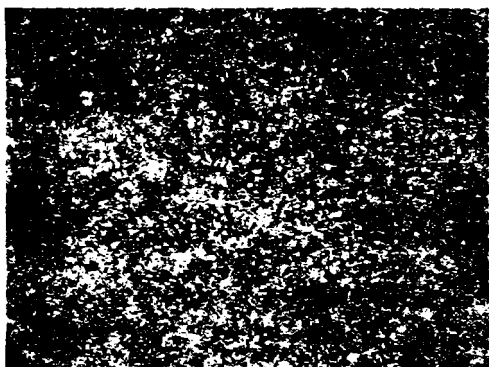


Fig. 4.14 a Structura microscopică a probei 80 V, MO 50x, lumină normală

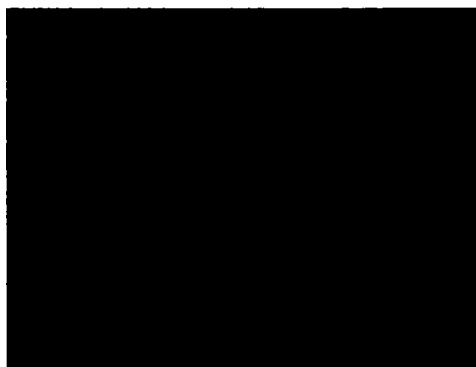


Fig. 4.14 b Structura microscopică a probei 80 V, MO 50x, lumină polarizată

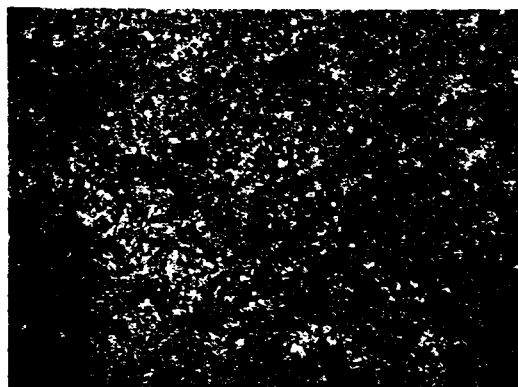


Fig. 4.14 c Structura microscopică a probei 80 V, MO 200x, lumină normală

Anodizarea la 80 V produce o intensificare a culorii, care începe să capete o tentă albastruie. Se observă o creștere a diametrului porilor.

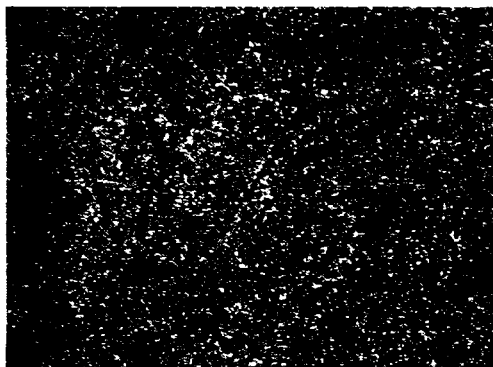


Fig. 4.15a Structura microscopică a probei 100 V, MO 50x, lumină normală

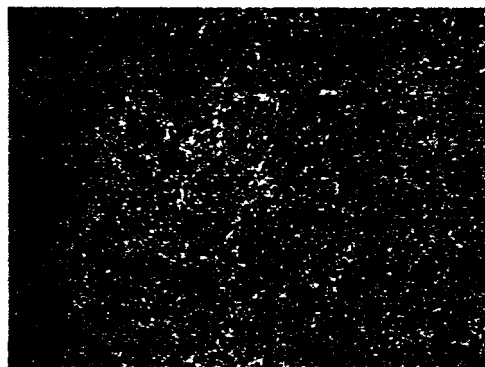


Fig. 4.15 b Structura microscopică a probei 100 V, MO 50x, lumină polarizată

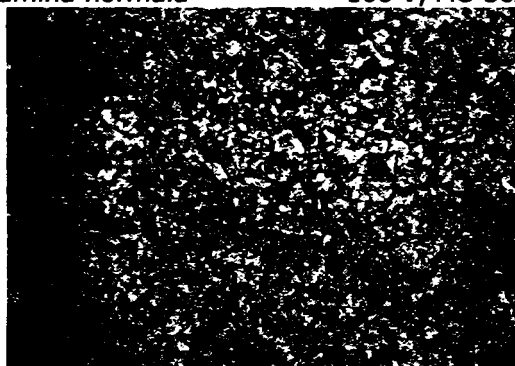


Fig. 4.15 c Structura microscopică a probei 100 V, MO 200x, lumină normală

Porii formați în urma anodizării la 100 V au dimensiuni mai mari decât în situațiile anterioare, afectând aspectul suprafeței. Începe să se observe o colorație gri, care se va accentua odată cu creșterea tensiunii aplicate.

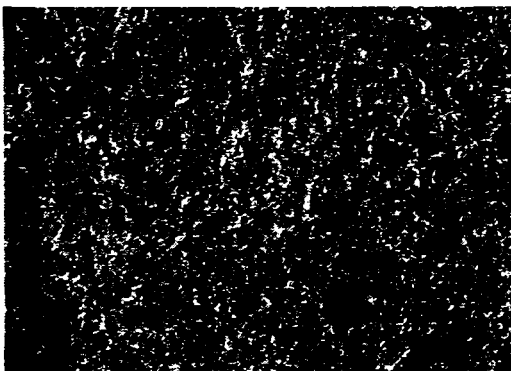


Fig. 4.16 a Structura microscopică a probei 120 V, MO 50x, lumină normală

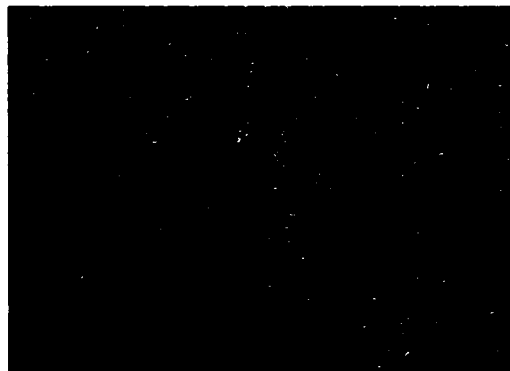


Fig. 4.16 b Structura microscopică a probei 120 V, MO 50x, lumină polarizată

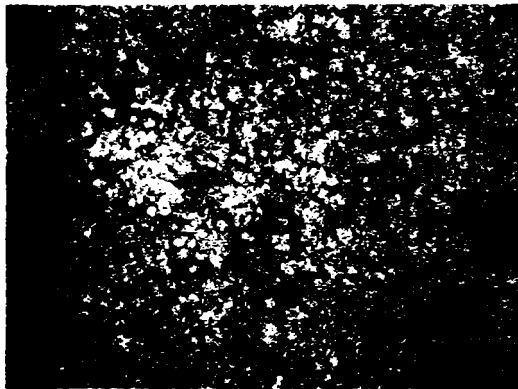


Fig. 4.16 c Structura microscopică a probei 120 V, MO 200x, lumină normală

Creșterea tensiunii aplicate la valoarea de 120V este însoțită de o creștere a diametrului porilor apăruiți pe suprafața probei și de accentuarea tonului de gri.

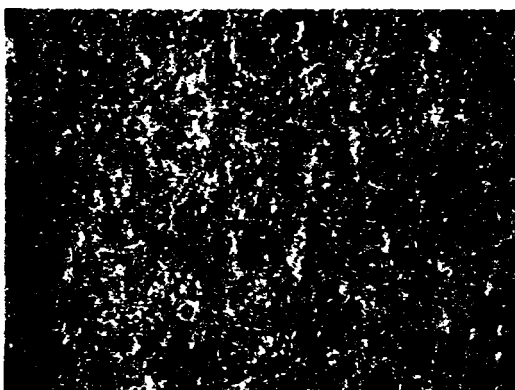


Fig. 4.17 a Structura microscopică a probei 140 V, MO 50x, lumină normală



Fig. 4.17 b Structura microscopică a probei 140 V, MO 50x, lumină polarizată

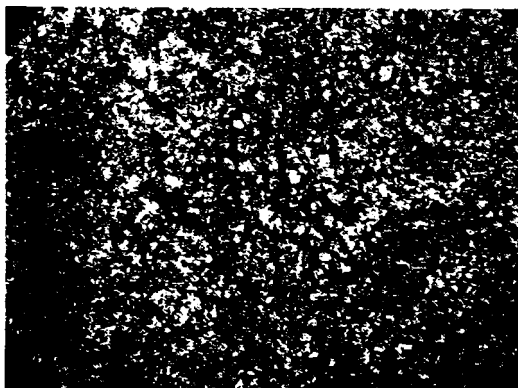


Fig. 4.17 c Structura microscopică a probei 140 V, MO 200x, lumină normală

În cazul probelor anodizate la 140 V, diametrul porilor crește și tonul de gri devine dominant.



Fig. 4.18 a Structura microscopică a probei 160 V, MO 50x, lumină normală



Fig. 4.18 b Structura microscopică a probei 160 V, MO 50x, lumină polarizată



Fig. 4.18 c Structura microscopică a probei 160 V, MO 200x, lumină normală

Pentru valoarea tensiunii aplicate de 160 V, suprafața capătă o culoare gri mată, uniform distribuită. Diametrul porilor este tot mai mare și încep să apară primele urme produse de descărcările electrice pe suprafața probei.



Fig. 4.19 a Structura microscopică a probei 200 V, MO 50x, lumină normală

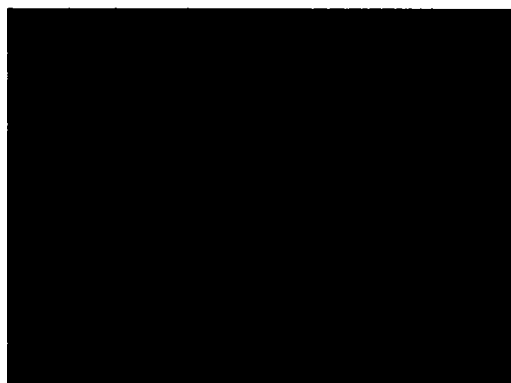


Fig. 4.19 b Structura microscopică a probei 200 V, MO 50x, lumină polarizată

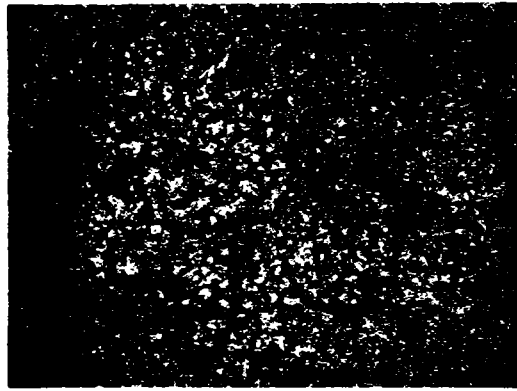


Fig. 4.19 c Structura microscopică a probei 200 V, MO 200x, lumină normală

Începând cu această valoare a tensiunii, se trece în alt regim de lucru. Anodizarea simplă a suprafeței este înlocuită de MAO (Micro Arc Oxidation). Pe suprafața probei încep să se producă descărcări electrice sub forma unor microarcuri care lasă urme sub formă de cratere.

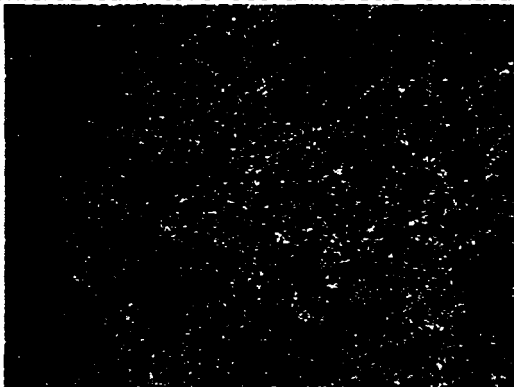


Fig. 4.20 a Structura microscopică a probei 250 V, MO 50x, lumină normală

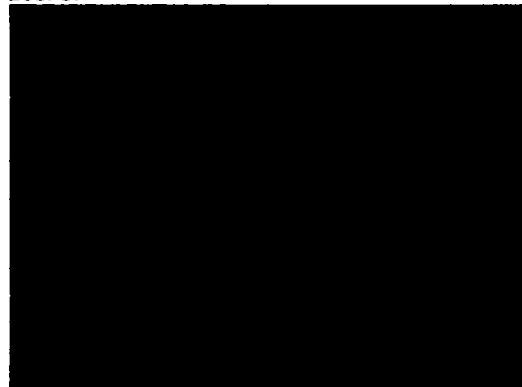


Fig. 4.20 b Structura microscopică a probei 250 V, MO 50x, lumină polarizată

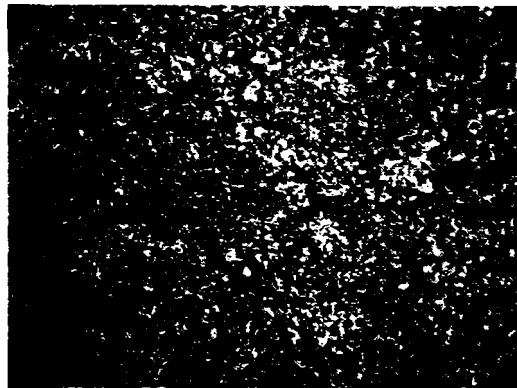


Fig. 4.20 c Structura microscopică a probei 250 V, MO 200x, lumină normală

La 250 V densitatea și frecvența descărcărilor electrice de suprafață cresc mult. Numărul și adâncimea craterelor de pe suprafața probei cresc în mod corespunzător. Apar și fenomenele de topire punctuală, la nivelul cărora se poate produce și o înglobare a ionilor electrolitului.

Pentru evidențierea unor detalii privind starea suprafeței, proba anodizată la 350 V, a fost analizată prin microscopie electronică cu baleiaj, folosind microscopul TESLA BS 300 din dotarea catedrei SMTT – UPT (figura 4.21 a și b).



Fig. 4.21 a SEM pe suprafața probei
350 V 1800x

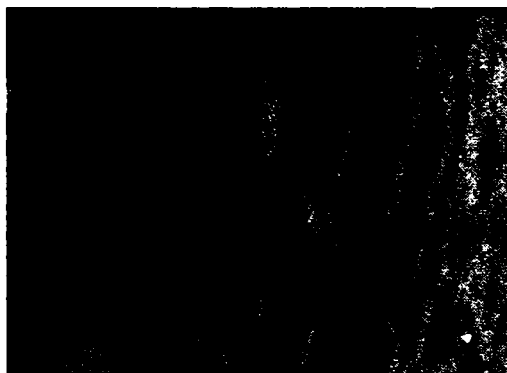


Fig. 4.21 b SEM pe suprafața probei
350V 3000x

Imaginile pun în evidență o suprafață neregulată, cu asperități și depuneri amorfe, provocate probabil de precipitarea sărurilor prezente în electrolit.

Microstructura stratului anodizat a fost analizată metalografic în secțiune transversală. În figurile 4.22 – 4.30 se prezintă aspectul suprafeței probelor, precum și structura stratului anodizat corespunzător.



Fig. 4.22 a Proba 40V lumină normală,
MO 100x

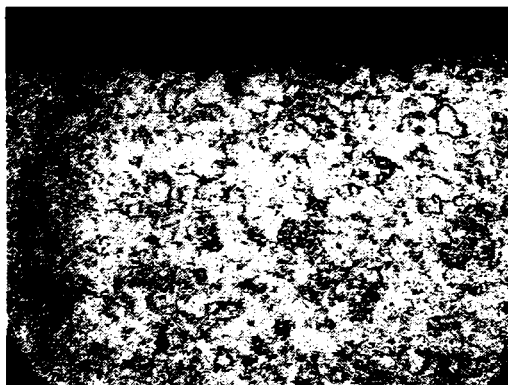


Fig. 4.22 b Proba 40V lumină normală,
MO 500x

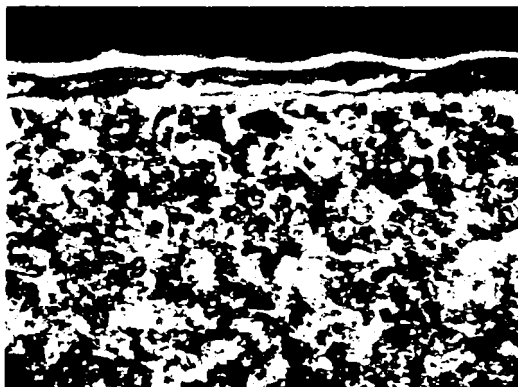


Fig. 4.22 c Proba 40V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x



Fig. 4.22 d Proba 40V 200 x lumină polarizată



Fig. 4.22 e Grosimea stratului la proba 40V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

În imaginile din figura 4.22 a-e încep să se observe primele semne ale anodizării. Deoarece valoarea tensiunii aplicate este doar cu puțin peste 37 V, tensiunea limită necesară străpungerii stratului dielectric de TiO_2 ce se formează în mod spontan, modificările sunt minime, stratul de oxid nou format având o grosime relativ variabilă, cu o valoare medie de numai 3,11 μ . De menționat faptul că această grosime, chiar minimă, este mai mare decât grosimea stratului format în mod spontan, care are valori cuprinse în mod normal între 20-40 nm. Modificările au avut loc doar pe suprafața probei și nu au afectat structura substratului.



Fig. 4.23 a Proba 60V lumină normală,
MO 100x

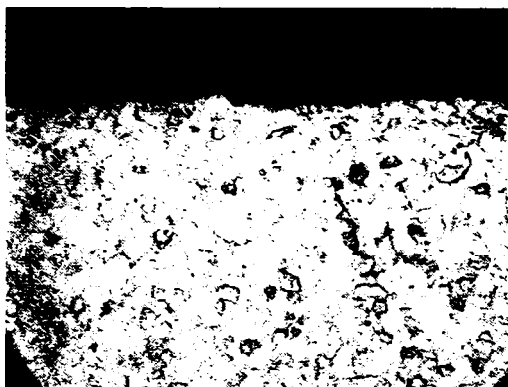


Fig. 4.2b Proba 60V lumină normală,
MO 500x

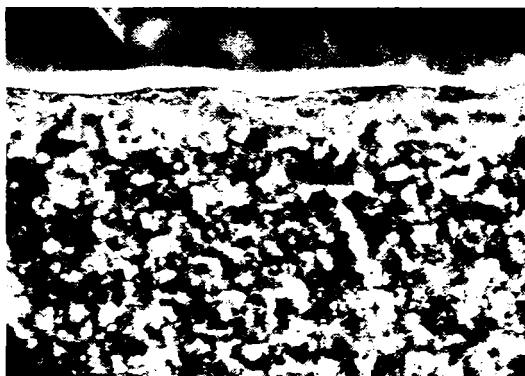


Fig. 4.23 c Proba 60V lumină polarizată
și câmp întunecat MO 500x

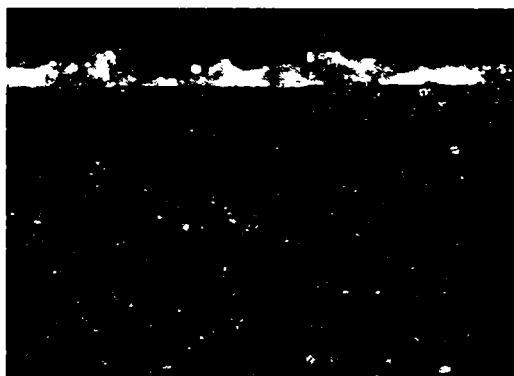


Fig. 4.23 d. Proba 60V 200 x lumină
polarizată

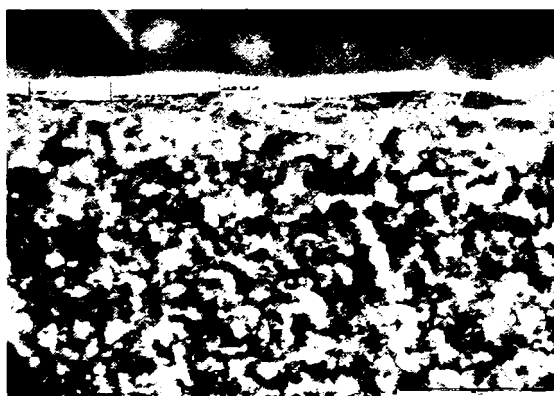


Fig. 4.23 e Grosimea stratului la proba 60V (lumină polarizată
și câmp întunecat MO 500x)

În figura 4.23 a-e se observă că grosimea medie a stratului anodizat este de 6 μm , dar stratul este mai uniform distribuit pe suprafața probei și are un aspect mai compact. Începe să devină vizibilă structura trilamelară a stratului anodizat. Acesta apare deoarece anodizarea este un proces cu transport de masă. Ionii de Ti^{4+} migrează spre suprafața probei iar cei ai electrolitului migrează în profunzime. În

stratul profund, situat chiar pe suprafața probei, predomină metalul, în stratul următor este prezent oxidul metalic cu o cantitate de electrolit înglobată în el iar stratul superficial are un conținut mai mare de electrolit raportat la ionii de oxid de Titan. Structura granulară a Titanului nu este afectată nici în acest caz [153].



Fig. 4.24 a Proba 80V lumină normală, MO 100x



Fig. 4.24 b Proba 80V lumină normală, MO 500x

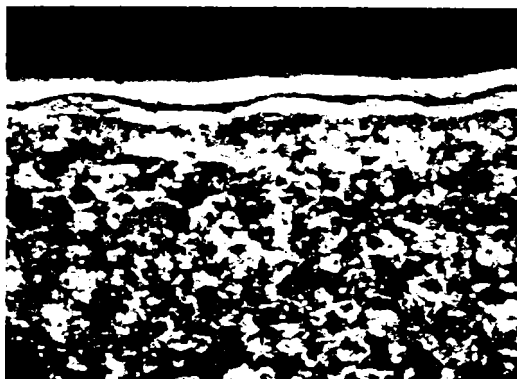


Fig. 4.24 c Proba 80V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x



Fig. 4.24 d Proba 80V 200 x lumină polarizată

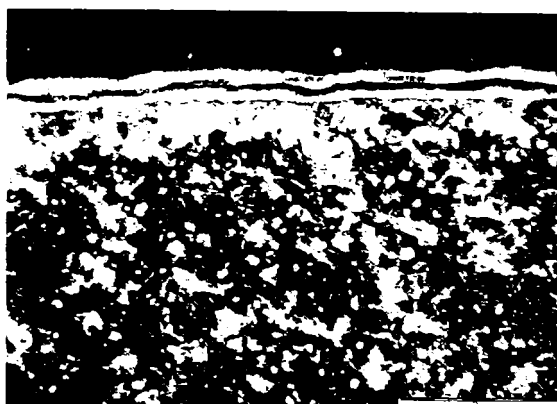


Fig. 4.24 e Grosimea stratului la proba 80V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

În figura 4.24 a-e se observă că stratul de oxid de Titan are o grosime medie de 6,1 μm , o valoare bună comparativ cu celelalte măsurători. El are o aderență bună pe suprafață și o grosime uniformă. Stratul cu conținut preponderent în oxizi metalici are o grosime mai mare. Structura metalografică a Titanului a rămas nemodificată în rest.

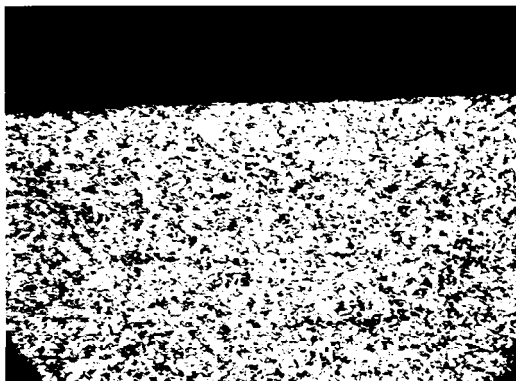


Fig. 4.25 a Proba 100V lumină normală, MO 100x

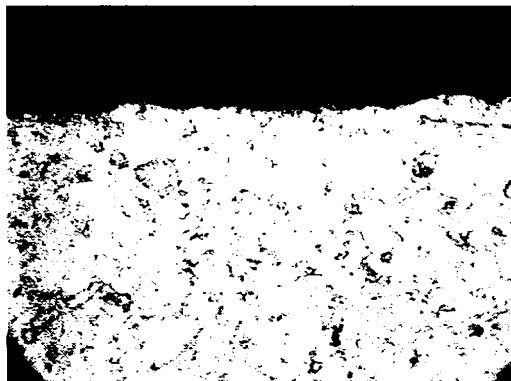


Fig. 4.25 b Proba 100V lumină normală, MO 500x



Fig. 4.25 c Proba 100V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x

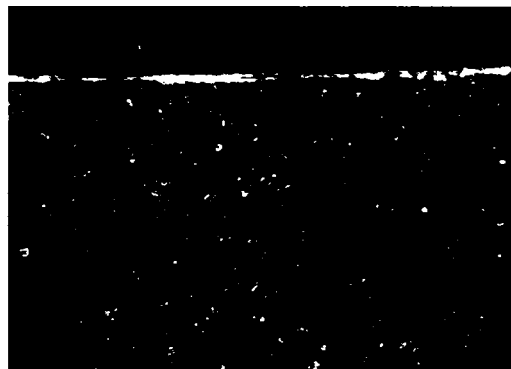


Fig. 4.25 d Proba 100V 200 x lumină polarizată

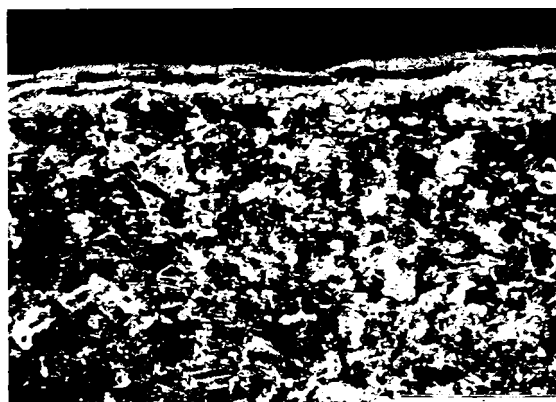


Fig. 4.25 e Grosimea stratului la proba 100V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

În cazul probei anodizate la 100 V, grosimea medie a stratului este de 5 μ . Aspectul este uniform și aderent la suprafața probei. Structura metalografică probei nu a fost afectată de anodizare.



Fig. 4.26 a Proba 120V lumină normală, MO 100x



Fig. 4.26 b Proba 120V lumină normală, MO 500x



Fig. 4.26 c Proba 120V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x



Fig. 4.26 d Proba 120V 200 x lumină polarizată



Fig. 4.26 e Grosimea stratului la proba 120V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

În cazul probei anodizate la 120 V (figura 4.26 a-e) grosimea medie a stratului este de 6 μ , comparabilă cu cele obținute anterior. Stratul superficial de oxid este însă mai aderent și mai uniform. Metalul nu a fost afectat în profunzime.



Fig. 4.27 a Proba 140V lumină normală, MO 100x

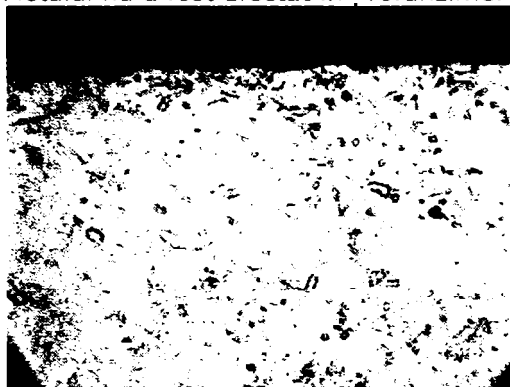


Fig. 4.27 b Proba 140V lumină normală, MO 500x

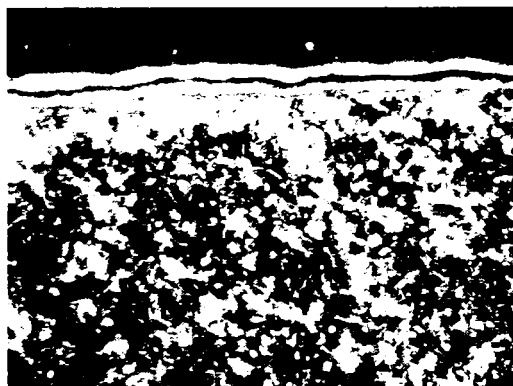


Fig. 4.27 c Proba 140V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x

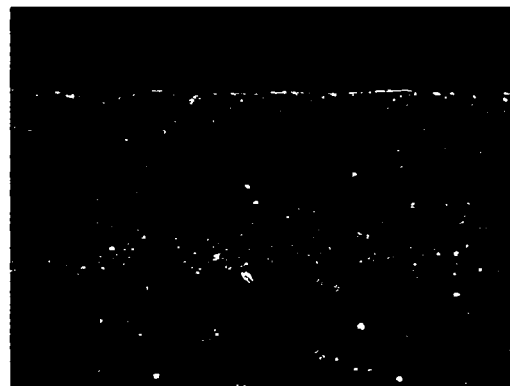


Fig. 4.27 d Proba 140 V 200 x lumină polarizată



Fig. 4.27 e Grosimea stratului la proba 140V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

În cazul probei anodizate la 140 V, grosimea medie a stratului de oxid înregistrează o creștere, ajungând la valoarea de 8,5 μm . Raportul dintre stratul intern, care conține preponderent oxizi de Titan, responsabil de buna aderență și stratul extern, cu conținut crescut de electrolit, responsabil de integrarea tisulară, are valori optime în acest caz.

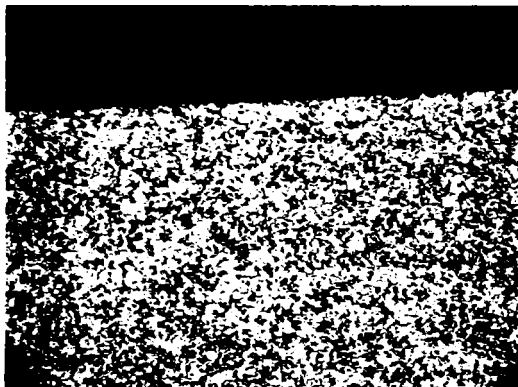


Fig. 4.28 a Proba 160V lumină normală, MO 100x



Fig. 4.28 b Proba 160V lumină normală, MO 500x



Fig. 4.28 c Proba 160V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x



Fig. 4.28 d Proba 160V 200 x lumină polarizată



Fig. 4.28 e Grosimea stratului la proba 160V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

Pentru proba anodizată la 160 V, grosimea medie a stratului este de 7 μm , înregistrând o ușoară scădere. Predomină stratul intermediar. Structura profundă a probei nu a fost afectată nici în acest caz.

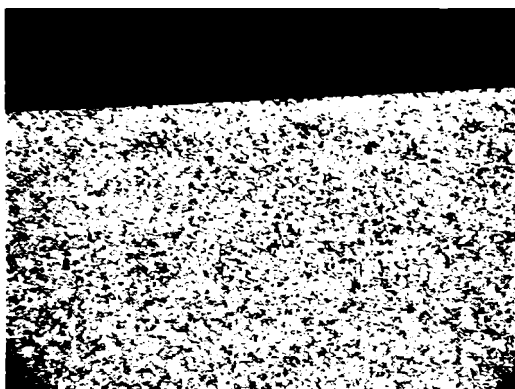


Fig. 4.29 a Proba 200V lumină normală, MO 100x

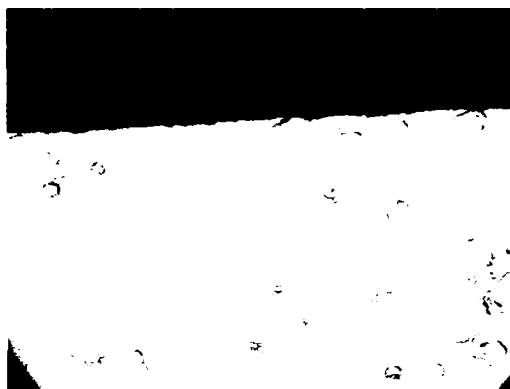


Fig. 4.29 b Proba 200V lumină normală, MO 500x

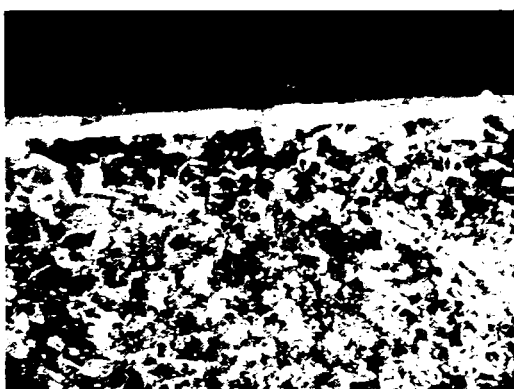


Fig. 4.29 c Proba 200V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x

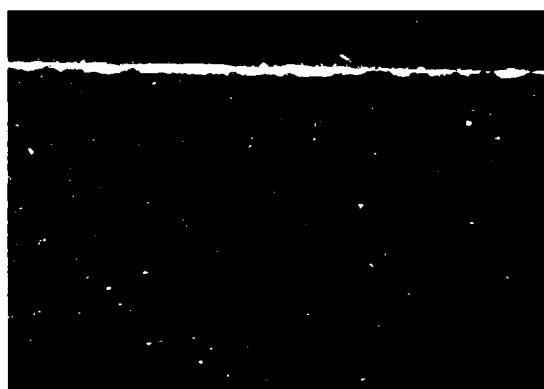


Fig. 4.29 d Proba 200V 200 x lumină polarizată

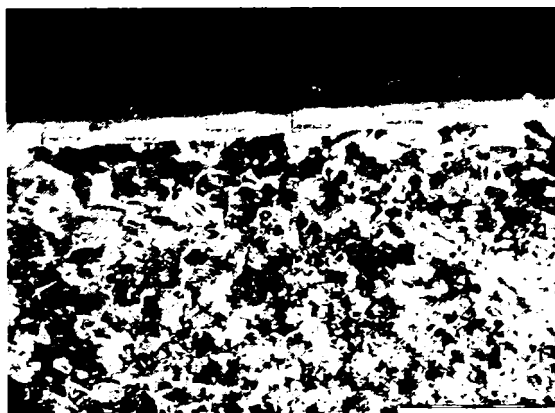


Fig. 4.29 e Grosimea stratului la proba 200V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

Pentru proba anodizată la 200V (fig. 4.29 a-e) grosimea medie a stratului de oxid este de 6,3 μm . Contribuția majoră în formarea acestuia o are porțiunea interioară. Metalul nu a fost afectat în profunzime.

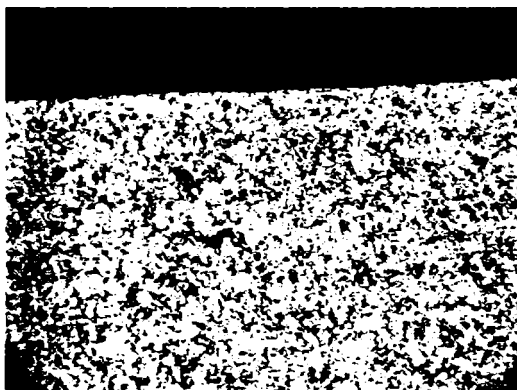


Fig. 4.30 a Proba 250V lumină normală, MO 100x

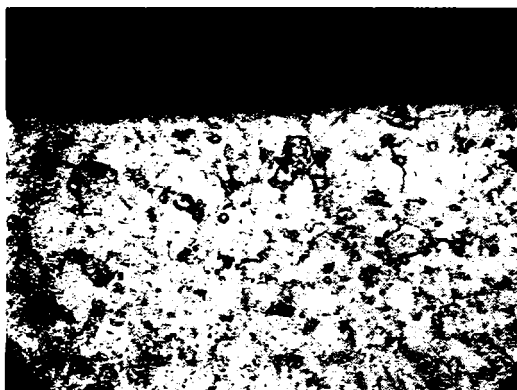


Fig. 4.30 b Proba 250V lumină normală, MO 500x

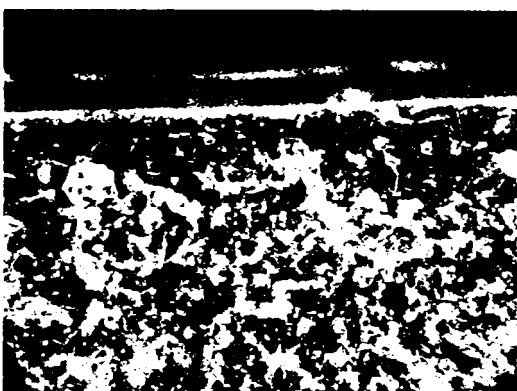


Fig. 4.30 c Proba 250V lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x

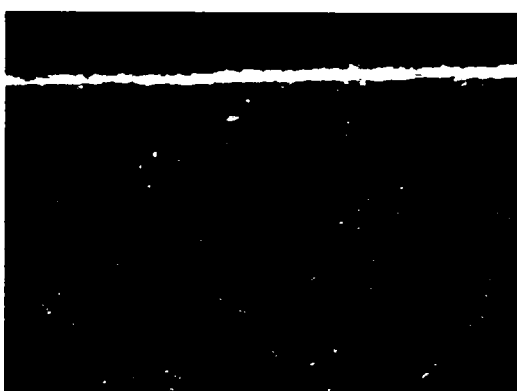


Fig. 4.30 d Proba 250V 200 x lumină polarizată

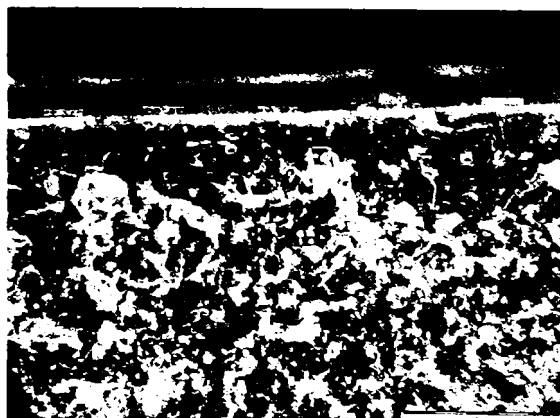


Fig. 4.30 e Grosimea stratului la proba 250 V (lumină polarizată și câmp întunecat MO 500x)

În cazul probei anodizate la 250 V (figura 4.30 a-e), grosimea medie a stratului înregistrează valoarea maximă, de 12,6 μm . Contribuția majoră în formarea acestuia o are stratul extern, care conține preponderent electrolit înglobat în oxid de Titan. Datorită faptului că stratul intern are o grosime mică, este posibil ca aderența acestui strat oxidic să lase de dorit. Chiar dacă teoretic în aceste condiții de anodizare s-ar putea realiza o integrare tisulară bună, soluția nu este recomandată în cazul implantelor supuse la solicitări mecanice mari. Structura metalului nu este afectată în profunzime.

Ca o concluzie generală, se poate spune că pentru toate probele analizate se constată faptul că procesul de anodizare nu afectează materialul în profunzime. Stratul superficial este continuu și aderent, iar forma suprafeței sale confirmă aspectele evidențiate anterior la analiza suprafeței probei.

Grosimile medii ale straturilor anodizate determinate cu ajutorul softului de achiziție și prelucrare de imagini digitale microscopice Analysis FiveDocu, sunt prezentate în tabelul 4.7.

Tabelul 4.7. Grosimi medii ale stratului anodizat

Nr. proba	Grosimea stratului anodizat, μm
1 (40 V)	3,1
2 (60 V)	6,0
3 (80 V)	6,1
4 (100 V)	5,0
5 (120 V)	6,0
6 (140 V)	8,5
7 (160 V)	7,0
8 (200 V)	6,3
9 (250 V)	12,6

Studiul comportamentului la coroziune al probelor anodizate a fost efectuat în soluție Hartman, la 37°C, cu termostatare. Toate probele au fost obținute și lustruite în condiții identice.

Pentru proba anodizată la 40V, au fost obținute următoarele rezultate experimentale:

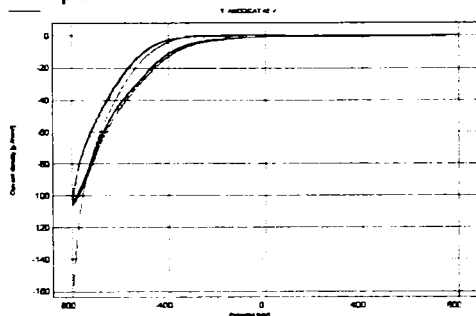


Fig. 4.31 a Titan anodizat 40 V, voltamogramă

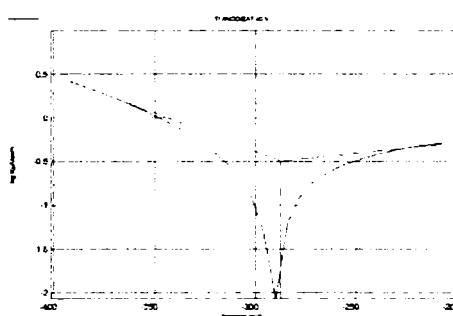


Fig. 4.31 b Titan anodizat 40 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 2,781 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0) = -287,4 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,3193 \mu\text{A}/\text{cm}^2$

$R_p = 116,64 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Pentru proba analizată la 60V au fost obținute următoarele date experimentale.

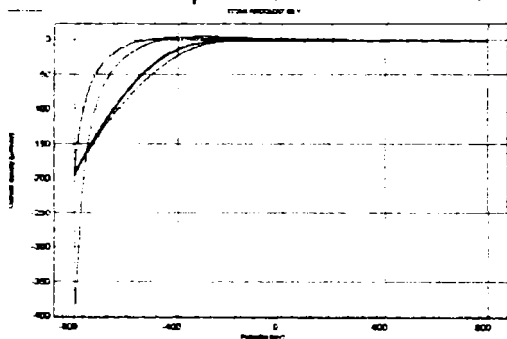


Fig. 4.32 a Titan anodizat 60 V, voltamogramă

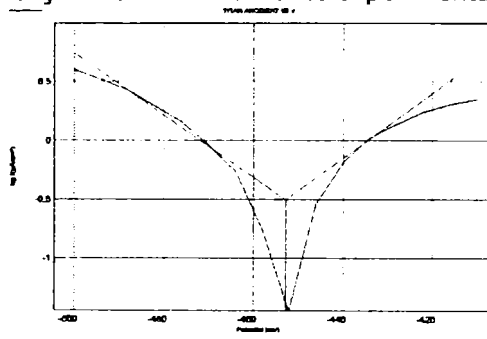


Fig. 4.32 b. Titan anodizat 60 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 2,715 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0)$ -452,8 mV

i corrosion = 0,3117 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$

R_p = 17,53 $\text{k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Pentru proba analizată la 80 V au fost obținute următoarele date experimentale:

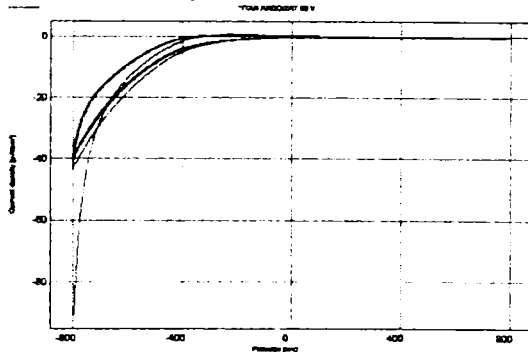


Fig. 4.33 a Titan anodizat 80 V, voltamogramă

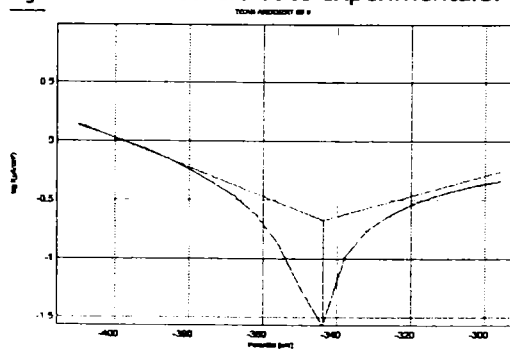


Fig. 4.33 b. Titan anodizat 80 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 1,852 $\mu\text{m}/\text{an}$

$E(i=0)$ = -344,0 mV

i corrosion = 0,2126 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$

R_p = 102,58 $\text{k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Pentru prima analizată la 100 V au fost obținute următoarele date experimentale:

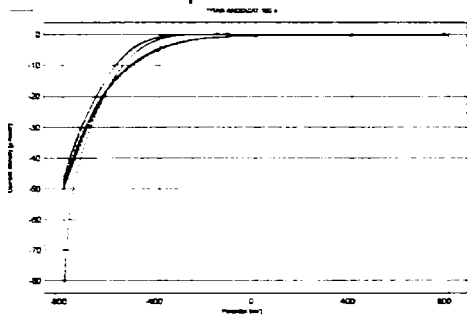


Fig. 4.34 a Titan anodizat 100 V, voltamogramă

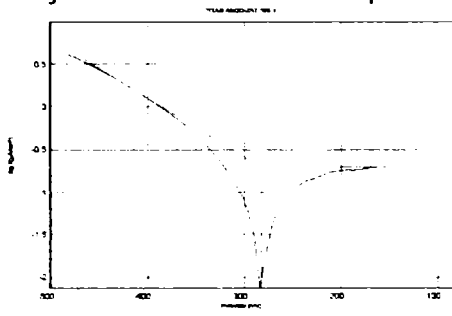


Fig. 4.34 b. Titan anodizat 100 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 1,683 μm/an

$E(i=0) = -282,1 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,1932 \text{ μA/cm}^2$

$R_p = 348,87 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$

Pentru proba analizată la 120 V au fost obținute următoarele date experimentale:

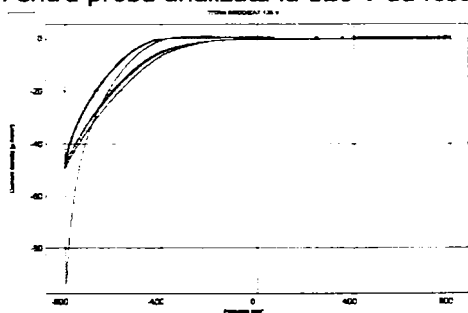


Fig. 4.35 a Titan anodizat 120 V, voltamogramă

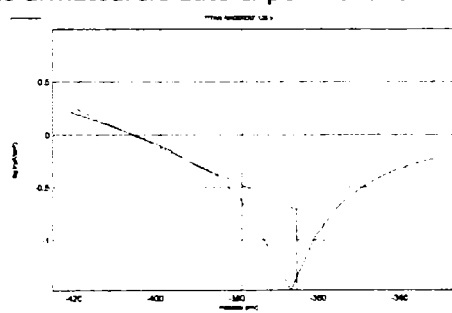


Fig. 4.35 b. Titan anodizat 120 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 1,674 μm/an

$E(i=0) = -366,7 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,1922 \text{ μA/cm}^2$

$R_p = 63,84 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$

Pentru proba analizată la 140 V au fost obținute următoarele date experimentale:

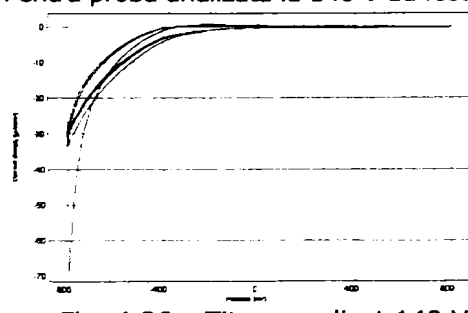


Fig. 4.36 a Titan anodizat 140 V, voltamogramă

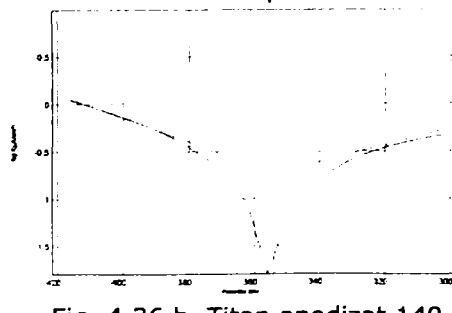


Fig. 4.36 b. Titan anodizat 140 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 1,612 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$E(i=0) = -353,9 \text{ mV}$** **$i_{\text{corrosion}} = 0,1850 \mu\text{A}/\text{cm}^2$** **$R_p = 99,93 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$**

Pentru proba analizată la 160 V au fost obținute următoarele date experimentale:

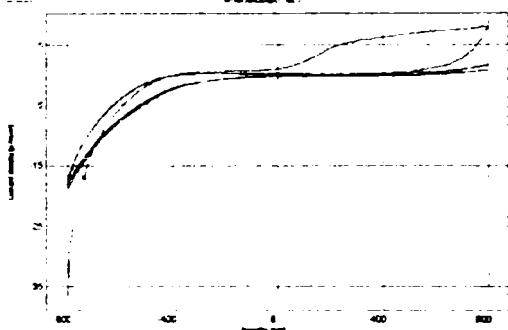


Fig. 4.37 a Titan anodizat 160 V, voltamogramă

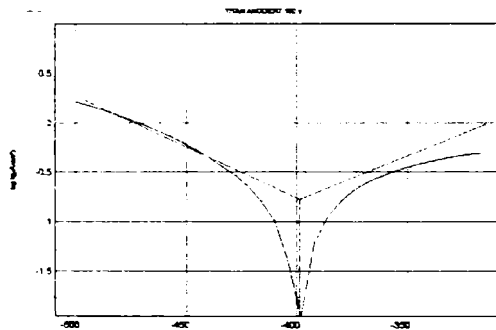


Fig. 4.37 b Titan anodizat 160 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 1,464 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$E(i=0) = -398,7 \text{ mV}$** **$i_{\text{corrosion}} = 0,1681 \mu\text{A}/\text{cm}^2$** **$R_p = 125,52 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$**

Pentru proba analizată la 200 V au fost obținute următoarele date experimentale:

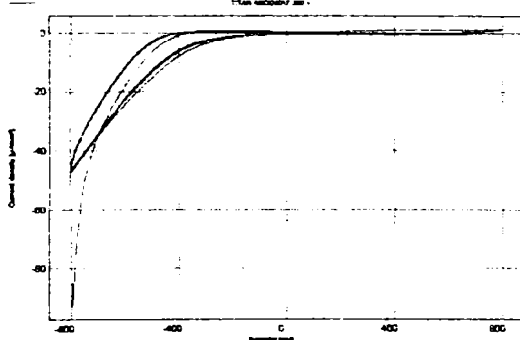


Fig. 4.38 a Titan anodizat 200 V, voltamogramă

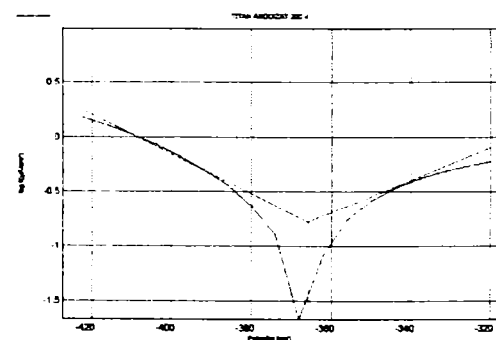


Fig. 4.38 b Titan anodizat 200 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:**Viteza de coroziune = 1,456 $\mu\text{m}/\text{an}$** **$E(i=0) = -365,8 \text{ mV}$** **$i_{\text{corrosion}} = 0,1671 \mu\text{A}/\text{cm}^2$** **$R_p = 75,71 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$**

Pentru proba analizată la 250 V au fost obținute următoarele date experimentale:

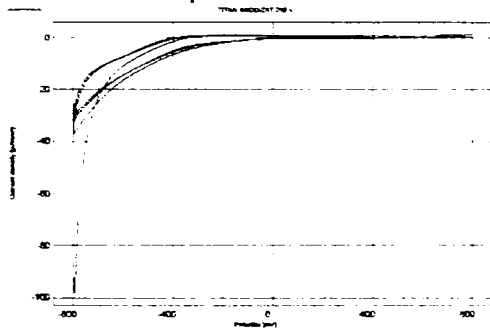


Fig. 4.39 a Titan anodizat 250 V, voltamogramă

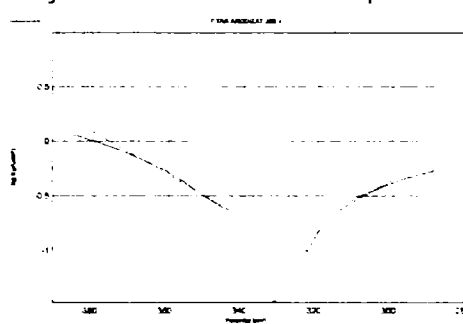


Fig. 4.39 b Titan anodizat 250 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 1,165 μm/an

$E(i=0) = -331,4 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 0,1338 \text{ μA/cm}^2$

$R_p = 78,68 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$

Pentru proba analizată la 300 V au fost obținute următoarele date experimentale:

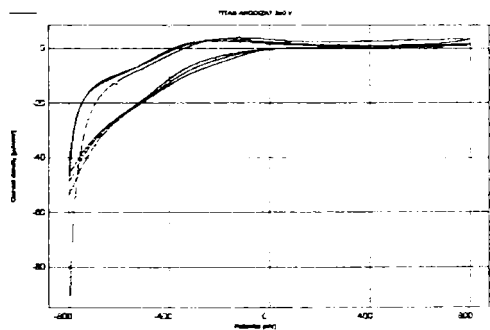


Fig. 4.40 a Titan anodizat 350 V, voltamogramă

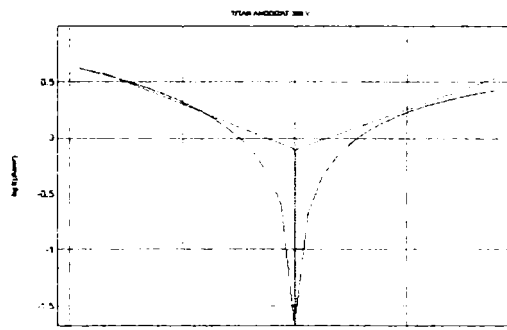


Fig. 4.40 b Titan anodizat 350 V, transformarea Tafel

Rezultate experimentale:

Viteza de coroziune = 10,34 μm/an

$E(i=0) = -356,0 \text{ mV}$

$i_{\text{corrosion}} = 1,1872 \text{ μA/cm}^2$

$R_p = 29,32 \text{ k } \Omega \cdot \text{cm}^2$

Rezultatele obținute în urma determinării comportamentului la coroziune au fost sistematizate la finalul capitolului și corelate cu celelalte măsurători experimentale.

4.6.4 Rugozitatea suprafeței

Rugozitatea reprezintă o măsură a neregularităților fine de pe textura suprafețelor, rezultate în urma proceselor de prelucrare utilizate pentru obținerea acestora (figura 4.41).

Rugozitatea R_a reprezintă media valorilor denivelărilor existente pe suprafața respectivă, exprimată în μm .

În cazul implantelor chirurgicale, ea joacă un rol deosebit de important, favorizând adsorbția fibrinogenului în prima etapă și ulterior aderența celulară.

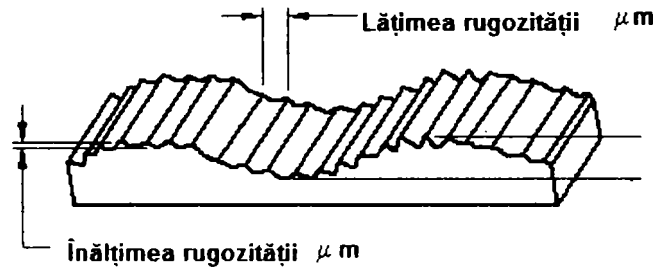


Fig. 4.41 Rugozitatea suprafeței

Starea reală a suprafețelor tehnice reprezintă un factor de influență direct asupra comportării elementelor constructive din toate punctele de vedere. Deși este greu de cuantificat prin relații explicite analitice, influența stării suprafeței se manifestă asupra capacității portante, coeficientului de frecare, rezistenței la uzare prin abraziune, adeziune sau coroziune, fiabilității straturilor depuse superficial și chiar asupra aspectului [5], [30], [112].

Indiferent de material și de procedeul tehnologic de obținere, piesele mecanice sunt afectate de erori de formă și de prezența rugozităților. Caracterul discret al materiei și imperfecțiunile generate de orice procedeu tehnic în condiții reale, conduc la imposibilitatea obținerii unor suprafețe ideale, perfect plane, cilindrice, sferice etc.

În raport cu profilul ideal (nominal) al unei suprafețe, profilul real va prezenta (conform clasificării din STAS 5730/1-89) următoarele tipuri de abateri (figura 4.42):

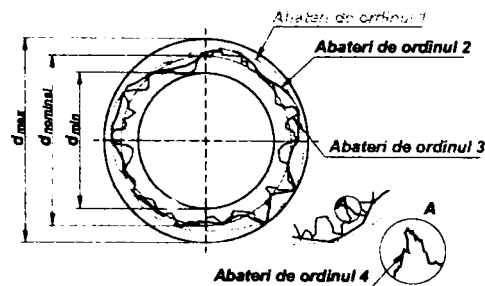


Fig. 4.42 Abateri de la forma nominală a unei suprafețe tehnice

□ *abateri de ordinul 1* (de formă), care reprezintă abateri de la forma nominală prescrisă a profilului piesei. Acest tip de erori de formă sunt generate de imprecizia prelucrării mecanice prin factori care depind de condițiile de lucru (deformații elastice ale sistemului tehnologic mașină - sculă - piesă, deformații termice ale componentelor mașinii sau piesei, deformații cauzate de tensiuni interne din substratul piesei, deformații datorate uzării sculei) și factori care nu depind de condițiile de lucru (imprecizia geometrică și cinematică a mașinii, imprecizia de reglare și măsurare a dispozitivelor de control dimensional).

□ *abateri geometrice de ordinul 2* (ondulații), care reprezintă neregularități a căror lungime de undă este de câteva ori mai mare decât amplitudinea lor. Ondulațiile pot fi generate paralel sau perpendicular pe direcția de prelucrare și se datorează vibrațiilor din procesul de prelucrare. Ondulațiile longitudinale au amplitudinea și

frecvența acestor vibrații, cu caracter, în general sinusoidal. Ondulațiile perpendiculare pe direcția de deplasare a sculei sunt mai puțin importante, fiind mai mici decât cele longitudinale.

□ *abateri geometrice de ordinul 3* (rugozități), care reprezintă caracteristica principală în topografia unei suprafețe și se materializează printr-o succesiune de proeminențe și goluri.

Se mai pot defini abateri de ordinul patru sau mai mare ca fiind smulgeri, urme de sculă, goluri aperiodice etc.

La proiectarea unei piese se prescriu direct indicații referitoare la abaterile de formă și la rugozitate. Aceasta este evaluată printr-un set de parametri, care, generic descriu "starea suprafeței".

Evaluarea rugozității se poate aborda clasic, bidimensional (prin înregistrarea profilului într-o direcție dată și perpendicular pe suprafața de interes și prelucrarea elementelor de geometrie a profilului în scopul obținerii unor parametri standardizați) sau tridimensional (prin maparea suprafeței prin diverse metode – baleierea suprafeței pe principiul abordării clasice, planimetrarea simultană a întregii arii cu mijloace optice – și convertirea informației primare într-un model matematic, care permite extragerea unui set mai extins de parametri).

La scară industrială și pentru tehnologii de execuție tradiționale se utilizează, în marea majoritate a cazurilor, evaluarea bidimensională.

Măsurarea rugozității reprezintă o operație delicată și scumpă, datorită echipamentelor care reclamă o precizie suficient de ridicată pentru a furniza rezultate de încredere la scara micrometrică a profilului.

Principial, măsurarea rugozității se poate realiza prin palpate mecanică sau optică. O comparare a metodelor mecanice și optice, având drept criteriu precizia de redare a profilului, indică performanțe mai bune ale palpării mecanice.

Determinarea parametrilor de rugozitate presupune prelucrarea statistică a datelor furnizate de o profilogramă. Aceasta se prezintă ca o curbă $y(x)$, direcția axei x fiind paralelă cu profilul nominal, iar direcția axei y fiind perpendiculară pe aceasta.

Conform standardului citat, care în mare măsură coincide cu normativele europene, britanice și americane, cei mai importanți parametri de rugozitate sunt:

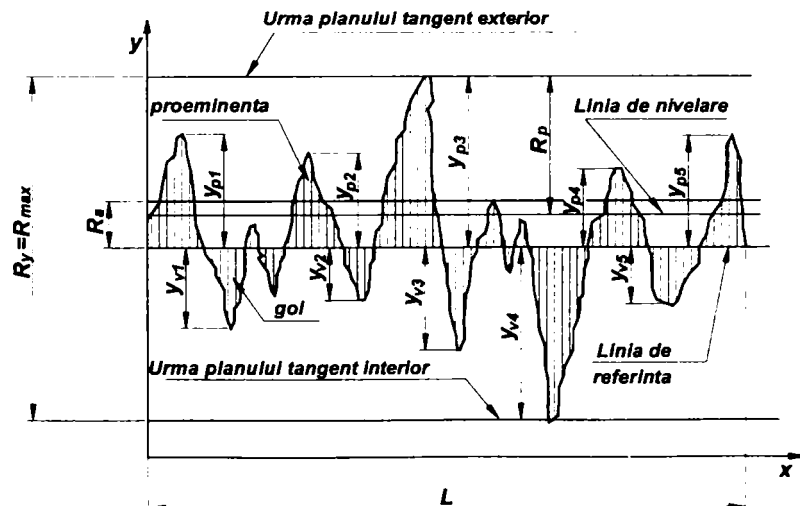


Fig. 4.43 Profilogramă cu figurarea principalilor parametri de rugozitate

Abaterea medie a profilului față de linia medie (figura 4.43):

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |y(x)| dx \cong \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i|, \quad [4.1]$$

unde $y(x)$ este înălțimea profilului în raport cu o orizontală oarecare, paralelă cu direcția de deplasare a sculei (în figura 2 se poate alege ca referință urma planului tangent interior, axa x sau orice altă orizontală situată sub nivelul celui mai adânc gol)

L – lungimea de referință (mărime indicată în standard funcție de valoarea estimată a parametrului R_a . Există, de asemenea, recomandarea trasării profilului pe cel puțin cinci lungimi de referință. Valorile standardizate ale lungimii de referință sunt 0,08; 0,25; 0,8; 2,5; 25 mm)

n – număr de măsurări ale înălțimilor y ale profilului (practic, lungimea profilului se împarte în $n-1$ intervale echidistante și se fac măsurări în n puncte discrete)

i – numărul curent al punctului în care se măsoară înălțimea y .

Parametrul R_a se măsoară de la linia medie sau de referință a profilului (determinată ca acea linie pentru care abaterea medie pătratică a profilului este minimă).

Abaterea medie pătratică a profilului:

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{L} \int_0^L y^2(x) dx}, \quad [4.2]$$

Abaterea medie pătratică a profilului este o mărime de calcul care nu are corespondent fizic.

Înălțimea maximă a rugozităților:

$$R_{\max} = |y_{p\max}| + |y_{v\max}| \quad [4.3]$$

unde $y_{p\max}$ este cota celei mai înalte proeminențe care apare pe intervalul de măsurare,

$y_{v\min}$ – cota celui adânc gol care apare pe intervalul de măsurare.

În alte standarde R_{\max} este echivalent cu R_y .

R_{\max} determină poziția planelor tangente exterior și interior la profil.

Înălțimea rugozităților în zece puncte:

$$R_z = \frac{1}{5}(y_{p1} + y_{p2} + y_{p3} + y_{p4} + y_{p5}) - \frac{1}{5}(y_{v1} + y_{v2} + y_{v3} + y_{v4} + y_{v5}), \quad [4.4]$$

unde $y_{p1...5}$ reprezintă cotele celor mai înalte cinci proeminențe care apar pe lungimea profilului

- $Y_{v1...5}$ – cotele celor mai adânci cinci goluri care apar pe lungimea profilului.

Normativul german DIN definește în mod diferit parametrul R_z :

$$R_{z\text{ DIN}} = \frac{1}{5} \left(\sum_{i=1}^5 R_{ri} \right) = \frac{1}{5} (R_{r1} + R_{r2} + R_{r3} + R_{r4} + R_{r5}), \quad [4.5]$$

unde R_{ri} reprezintă înălțimea maximă a profilului pe cinci segmente în care este împărțită lungimea de referință.

Adâncimea de nivelare:

$$R_p = \frac{1}{L} \int_0^L y(x) dx, \quad [4.6]$$

Parametrul R_p reprezintă cota la care s-ar genera o suprafață perfect netedă prin redistribuirea proeminențelor în goluri și se măsoară de la planul tangent exterior.

Lungimea de undă a undulațiilor profilului: W.

Pentru o caracterizare mai detaliată, profilogramele mai pot fi prelucrate pentru a furniza și alți parametri mai sofisticăți, cum ar fi: înălțimea medie a proeminențelor și a golurilor, cea mai mare cotă a proeminențelor și golurilor (raportate la linia medie), panta proeminențelor, densitatea vârfurilor suprafeței, coeficientul de asimetrie al profilului etc.

Literatura de specialitate indică relații aproximative între principalii parametri de rugozitate:

$$R_z \cong 4.5 R_a^{0.97}, \quad [4.7]$$

$$R_{\max} \cong 93.325 R_a^{0.98} \cong 20.41 R_z^{1.01}, \quad [4.8]$$

$$R_q \cong (1.25 \dots 1.3) R_a. \quad [4.9]$$

În toată lumea cel mai utilizat parametru de rugozitate este R_a , a cărei valoare este înscrisă pe desenele de execuție ca indicație pentru starea suprafeței.

Pentru a caracteriza contactul a două suprafețe este necesară cunoașterea abaterilor de ordinul 1, 2 și 3 pentru ambele suprafețe. Abaterile de ordinul 1 și 2 sunt mai ușor de măsurat, dar influența lor asupra comportării suprafețelor în contact este mai greu de cuantificat. Se introduc noțiunile de apropiere absolută și relativă a suprafețelor.

Abaterile de la forma ideală a suprafețelor sugerează faptul că, la o apropiere relativă oricât de ridicată, practic, contactul nu va avea loc pe aria nominală (determinată de dimensiunile geometrice nominale, macroscopice ale acestora). Aria reală de contact va fi doar o anumită parte din aria nominală,

mărimea ariei reale fiind determinată de suma microariilor rugozităților care vin în contact direct. Se definesc noțiunile de arie nominală, aparentă și reală de contact. (figura 4.44).

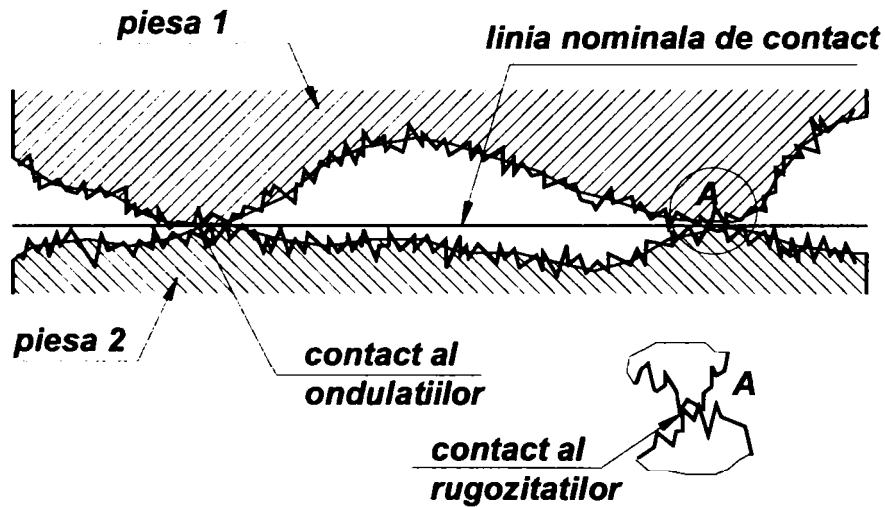


Fig. 4.44 Linia teoretică de contact, contactul undulațiilor și al rugozităților

Aria aparentă reprezintă suma ariilor de contact ale undulațiilor suprafețelor în contact.

Între cele trei tipuri de arii există relația generală:

$$A_n \geq A_a \geq A_r, \quad [4.10]$$

unde A_n este aria reală de contact

- A_a - aria aparentă de contact
- A_r - aria reală de contact.

Pentru cuplele tribologice de clasă I (contact punctiform) se admite egalitatea acestor arii. Pentru cuplele de clasă II (contact liniar) se admite egalitatea ariei reale cu cea aparentă. Pentru cuplele tribologice de clasă III (contact pe suprafață), însă, aria reală este cu două, trei sau mai multe ordine de mărime mai mică decât aria nominală, fapt care are implicații directe asupra presiunii reale de contact și asupra portanței cuplei.

Apropierea absolută a două suprafețe are o valoare care se află într-un interval mărginit teoretic de R_{\max} și 0.

Se definește apropierea relativă ca raport al apropierii absolute și înălțimea maximă a rugozităților:

$$\varepsilon = \frac{a}{R_{\max}}, \quad [4.11]$$

unde ε este apropierea relativă,

- a - apropierea absolută.

Apropierea absolută este dificil de măsurat experimental. Pentru apropierea relativă, în aplicațiile curente, sunt valabile valori de aproximativ 0.4.

În figurile 4.45 a, b – 4.54 a,b, sunt prezentate profilele D și P obținute pentru probele anodizate.

Măsurările experimentale s-au făcut pe 7 lungimi de referință standard ($7 \times 0.8 = 5.6$ mm), iar parametrii de rugozitate sunt determinați după normativele DIN.

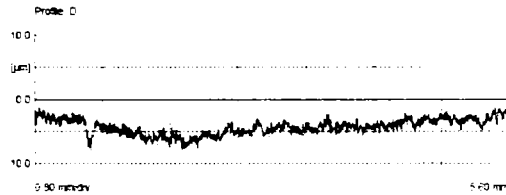


Fig. 4.45 a Martor Profil D

Ra	0.489 µm
Rz	3.435 µm
Rq	0.611 µm
Rp	1.789 µm
Rt	3.760 µm

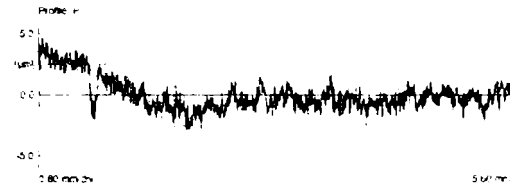


Fig. 4.45 b Martor Profil P

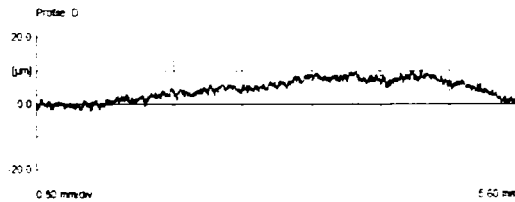


Fig 4.46 a Ti anodizat 40 V profil D

Ra	0.575 µm
Rz	4.087 µm
Rq	0.723 µm
Rp	1.891 µm
Rt	5.189 µm

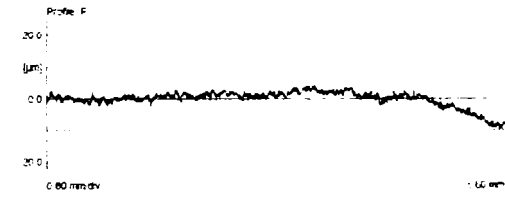


Fig 4.46 b Ti anodizat 40 V profil P



Fig 4.47 a Ti anodizat 60 V profil D

Ra	0.609 µm
Rz	4.080 µm
Rq	0.764 µm
Rp	2.002 µm
Rt	4.707 µm

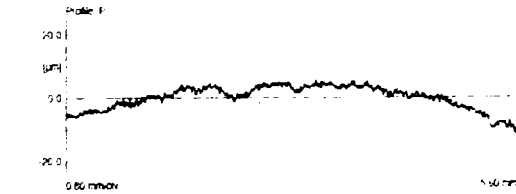


Fig 4.47 b Ti anodizat 60 V profil P



Fig 4.48 a Ti anodizat 80 V profil D

Ra	0,539	µm
Rz	3,784	µm
Rq	0,679	µm
Rp	1,832	µm
Rt	5,427	µm

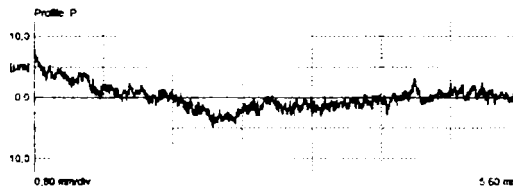


Fig 4.48 b Ti anodizat 80 V profil P

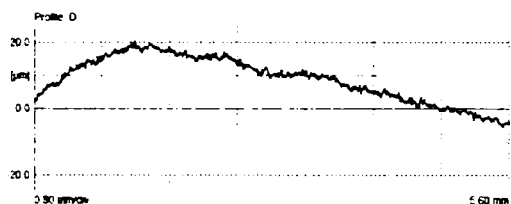


Fig 4.49 a Ti anodizat 100 V profil D

Ra	0,532	µm
Rz	3,731	µm
Rq	0,672	µm
Rp	2,003	µm
Rt	4,322	µm

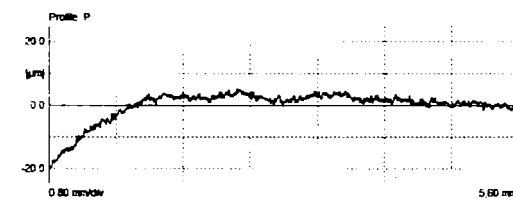


Fig 4.49 b Ti anodizat 100 V profil P

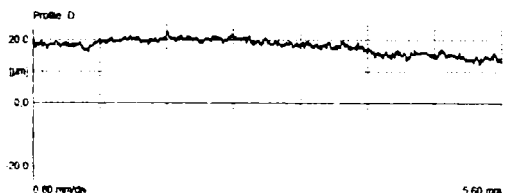


Fig 4.50 a Ti anodizat 120 V profil D

Ra	0,459	µm
Rz	3,304	µm
Rq	0,582	µm
Rp	1,781	µm
Rt	4,141	µm

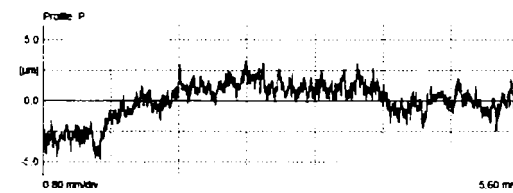


Fig 4.50 b Ti anodizat 120 V profil P

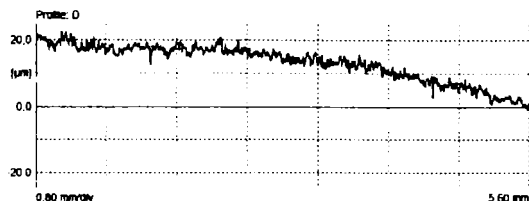


Fig 4.51 a Ti anodizat 140 V profil D

Ra	0,849	µm
Rz	6,134	µm
Rq	1,081	µm
Rp	2,752	µm
Rt	8,421	µm

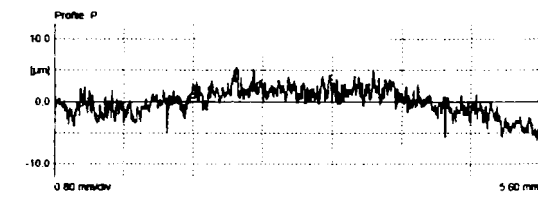


Fig 4.51 b Ti anodizat 140 V profil P

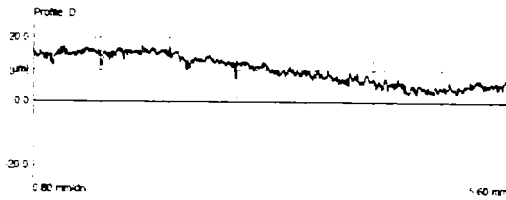


Fig 4.52 a Ti anodizat 200 V profil D

Ra	0.664 μm
Rz	5.060 μm
Rq	0.888 μm
Rp	2.208 μm
Rt	6.730 μm

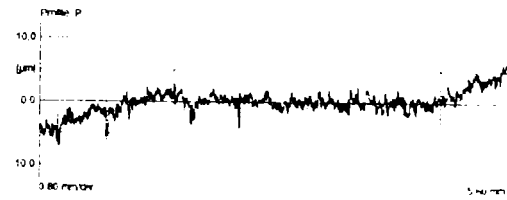


Fig 4.52 b Ti anodizat 200 V profil P

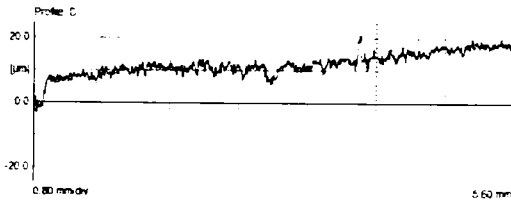


Fig 4.53 a Ti anodizat 250 V profil D

Ra	0.998 μm
Rz	6.819 μm
Rq	1.320 μm
Rp	3.587 μm
Rt	11.195 μm

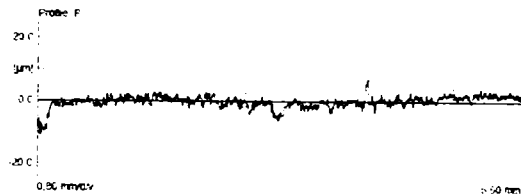


Fig 4.53 b Ti anodizat 250 V profil P

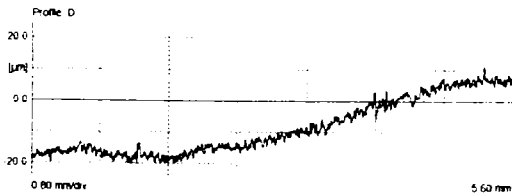


Fig 4.54 a Ti anodizat 300 V profil D

Ra	0.870 μm
Rz	6.288 μm
Rq	1.097 μm
Rp	3.379 μm
Rt	8.538 μm

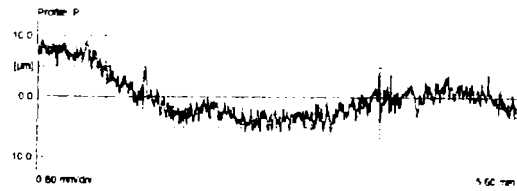


Fig 4.54 b Ti anodizat 300 V profil P

În tabelul 4.8 sunt sistematizate valorile rugozității medii Ra în funcție de tensiunea aplicată.

Tabelul 4.8 Dependența Ra în funcție de potențialul aplicat

Tensiune V	Ra μm
Martor	0,489
40	0,575
60	0,609
80	0,539

100	0,532
120	0,459
140	0,849
200	0,664
250	0,998
300	0,870

4.6.5. Prelucrarea datelor experimentale

Următoarea etapă a constat în sistematizarea datelor obținute în urma anodizării, cu scopul de a evidenția modul în care aceasta influențează trei aspecte deosebit de importante referitoare la comportarea implantelor: grosimea stratului de oxid, viteza de coroziune și rugozitatea suprafeței. După cum se observă în tabelul 4.9, creșterea potențialului aplicat duce la creșterea grosimii stratului de oxid de pe suprafața implantelor, însoțită de o scădere corespunzătoare a vitezei de coroziune. Reprezentând grafic variația simultană a parametrilor luați în calcul se poate concluziona că intervalul tensiunilor pentru care anodizarea dă rezultate optime este cuprins între 100V – 150V. Această observație este confirmată și de studiile privind aderența celulară, care înregistrează un optim pentru același interval.

Tabel 4.9 Prelucrarea datelor experimentale

Potențial [V]	Viteza coroziune [$\mu\text{m}/\text{an}$]	Grosimea stratului [μm]	Ra [μm]
40	2,781	3,11	0,575
60	2,715	6,0	0,609
80	1,852	6,1	0,539
100	1,683	5,0	0,532
120	1,674	6,0	0,459
140	1,612	8,5	0,869
160	1,464	7,0	-
200	1,456	6,3	0,664
250	1,165	12,6	0,998
300			0,870

În figura 4.55 este reprezentat modul în care variază viteza de coroziune și grosimea stratului de oxid în funcție de tensiunea aplicată. Deoarece viteza de coroziune este parametrul cel mai important, raportarea se face în funcție de acesta. Analizând graficul, se poate trage concluzia că intervalul optim de anodizare este cel cuprins între 100 V – 150 V. Acest rezultat este confirmat și de probele de aderență celulară, care prezintă un optim pentru același interval.

Chiar dacă rugozitatea nu variază proporțional cu tensiunea, valorile Ra pentru probele anodizate sunt mai mari decât acelea obținute pentru proba mător (placută din Titan, lustruită doar chimic, în același regim cu restul probelor).

Ra înregistrează o valoare destul de mare pentru proba anodizată la 140 V (Ra = 0,849 μm), ceea ce confirmă observația de mai sus, conform căreia rezultatele anodizării ar fi optime în jurul acestei valori.

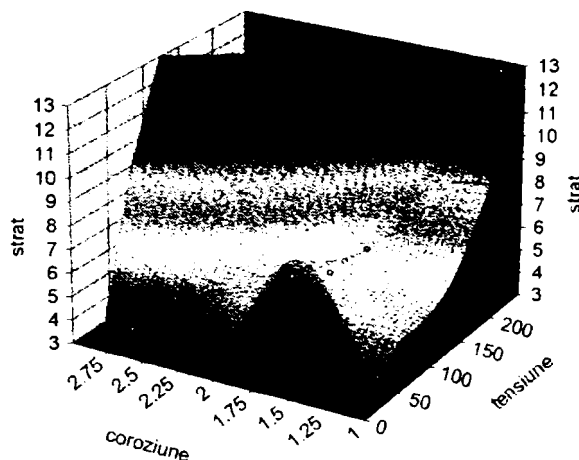


Fig. 4.55 Interdependența parametrilor studiați

4.7. Depunerea de hidroxiapatită prin metode electrochimice

Chiar dacă titanul și aliajele lui sunt recunoscute pentru biocompatibilitatea lor, în unele situații procesele de vindecare sunt mai lente în comparație cu alte materiale cu proprietăți bioactive, cum ar fi hidroxiapatita și Bioglass-ul. Prin urmare au fost elaborate mai multe strategii de acoperire a Ti cu materiale bioactive bazate pe CaP (Calciu - Fosfor), cu scopul de a combina proprietățile mecanice favorabile ale Ti cu cele biologice ale materialelor bazate pe CaP [21], [33], [94].

Hidroxiapatita (HA) și alte acoperiri pe bază de CaP sunt recunoscute pentru capacitatea de a favoriza osteointegrarea în jurul implantelor din Titan, deoarece au o structură chimică similară cu cea a osului mineralizat.

Obținerea acestui strat de HA poate fi realizată și electrochimic, prin anodizare în soluții apoase de electroliți. Această metodă permite încorporarea fosfatului de calciu într-o matrice de oxid de titan, într-o singură etapă de anodizare. Stratul superficial conține atât elemente ale anodului metalic (de ex. Ti) cât și ale electrolitului (calciu și fosfat). Opțional, se poate aplica și un tratament hidrotermal, cu scopul de a cristaliza hidroxiapatită sub forma unui strat de suprafață.

Scopul principal al acestui tratament este acela de a obține un raport Ca/P cât mai apropiat cu puțință de cel existent în structura minerală osoasă, dar fără a afecta integritatea stratului de TiO_2 . Asigurarea unei astfel de interfețe os-implant stimulează neformarea de țesut osos și acceptarea implantului.

O soluție simplă și economică ar consta în utilizarea unei soluții care să conțină atât ionii de fosfat, cât și pe cei de calciu, într-un raport stoechiometric cât mai apropiat de cel din hidroxiapatită. În urma reacției electrochimice aceștia ar reacționa direct pe suprafața anodului confecționat din titan [63].

Compoziția electrolitului utilizat în acest scop are o importanță foarte mare, acesta trebuind să conțină o cantitate cât mai mare de Ca și P. Metoda este limitată în general de solubilitatea redusă a sărurilor de calciu, de stabilitatea lor la potențiale mari și de faptul că ionii de Ca^{2+} sunt respinși de suprafața pozitivată în urma anodizării Ti, în timp ce ionii fosfat, cu sarcină negativă, sunt atrași, fiind astfel încorporați într-o cantitate mai mare. Prin urmare există tendința ca ionii de fosfat să fie adsorbiți mai ușor decât cei de calciu, afectând astfel în mod nedorit raportul lor.

O soluție ar consta în pregătirea suprafeței. În acest scop se poate efectua o anodizare prealabilă a suprafeței la 150 V (valoare optimă determinată mai sus). Aceasta are ca rezultat o creștere a grosimii stratului de oxid și a rugozității suprafeței.

În etapa următoare proba se introduce într-o soluție de NaOH 10 M, în care este lăsată 24 ore. Oxidul de Titan de pe suprafață reacționează cu NaOH, rezultând un gel de titanat de sodiu.

După această etapă, proba se introduce într-o soluție saturată de acetat de calciu monohidrat, timp de 24 ore. Are loc o reacție de substituție a ionilor de Na^+ cu cei de Ca^{2+} , ducând la creșterea concentrației acestora pe suprafața probei.

Următoarea etapă constă în APC (Anodic Plasma Chemical treatment).

Practic, s-au folosit 3 plăcuțe de Ti CP grad 2 cu dimensiunile de 20x30x1 mm. În prealabil ele au fost prelucrate metalografic, prin lustruire mecanică și chimică, urmata de pasivare conform ASTM F86-04 [144].

Prima proba a fost utilizată ca martor, cea de a doua a fost supusă direct unui proces de anodizare într-o soluție de $\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (acetat de calciu monohidrat) la 150 V. Cea de a treia proba a suferit prelucrările enumerate mai sus: anodizare prealabilă, într-o soluție de H_3PO_4 1 M, la 150 V, cu scopul de a crește porozitatea, respectiv capacitatea de adsorbție a suprafeței, formarea stratului de titanat de sodiu și substituția sodiului cu calciul, în acetat de calciu. Ultima etapă a constat tot în anodizarea la 150 V, într-o soluție de acetat de calciu monohidrat, dar în care a fost introdus și EDTA disodic, în raport de 1/1, cu scopul de a chela ionii de Ca^{2+} , permițând astfel creșterea concentrației acestora.

Instalația constă dintr-o sursă de curent continuu ce poate genera tensiuni cuprinse între 0-400 V CC pentru valori maxime ale curentului de 5A, instrumente de măsură (voltmetru, ampermetru), agitator magnetic cu stativ cu clemă și sistemul de electrozi: un catod circular confecționat din oțel inoxidabil și anodul, reprezentat de implantul supus procesului de anodizare. Catodul are formă circulară cu scopul de a asigura o distribuție uniformă a câmpului electric, de dorit în cazul pieselor cu o geometrie complexă. Distribuția uniformă a câmpului asigură uniformitatea stratului oxidic rezultat.

Echipamentul este identic cu cel folosit în anodizarea convențională, singura diferență constând în faptul că tensiunile aplicate sunt mai mari, ajungând sau chiar depășind valoarea de 300 V. Instalația utilizată în acest scop, realizată prin mijloace proprii de către autorul tezei, este prezentată în figurile 4.56 și 4.57.



Fig. 4.56 Instalația de anodizare

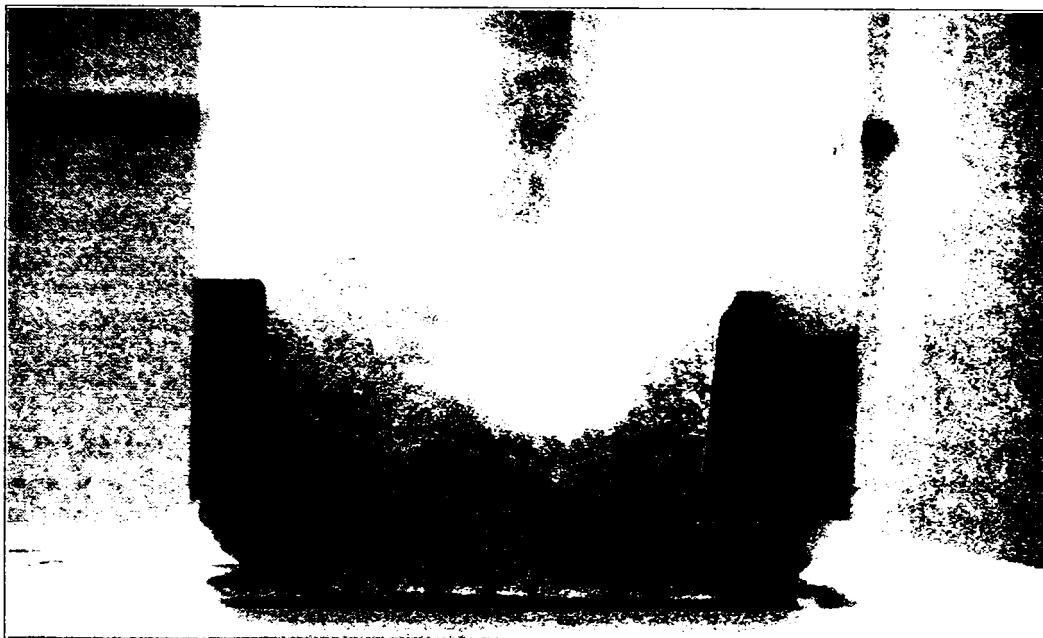


Fig. 4.57 Descărcări electrice pe suprafața probei anodizate

În urma procesului de anodizare, iau naștere straturi superficiale cu conținut de CaP total sau parțial solubil, înglobat într-o matrice de oxid de Ti.

Metoda permite producerea unor straturi superficiale cu grosimi de câțiva micrometri. Prin eliberarea ionilor de Ca și P într-un raport similar cu cel al țesutului osos, acest strat devine bioactiv. Datorită faptului că acest strat ia naștere prin înglobarea atât a substratului cât și a electrolitului, aderența lui este foarte bună.

Tehnica pare a fi o alternativă promițătoare la celelalte metode de acoperire cu hidroxiapatită. Ea ar putea avea o aplicativitate foarte mare în special în cazul structurilor tridimensionale, cum ar fi șuruburile.

În figura 4.58 a, b sunt prezentate imagini ale stratului de hidroxiapatită de pe suprafața probelor.

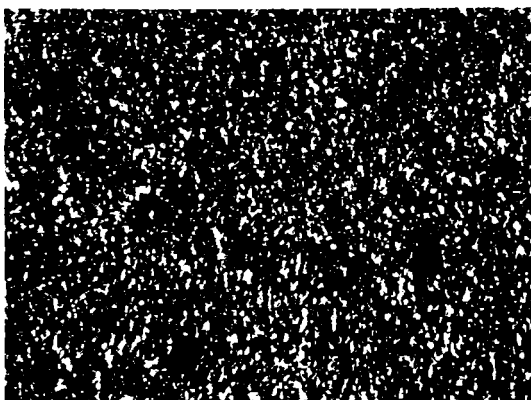


Fig. 4.58 a Proba hidroxiapatită,
MO stereo 50 x

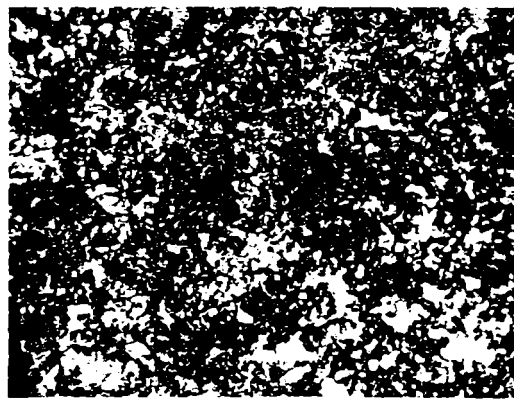


Fig. 4.58 b Proba hidroxiapatită,
MO 100 x

În figurile 4.59 și 4.60 este reprezentată grosimea stratului de hidroxiapatită pentru proba anodizată în mod convențional și pentru cea care a fost pregătită în prealabil.

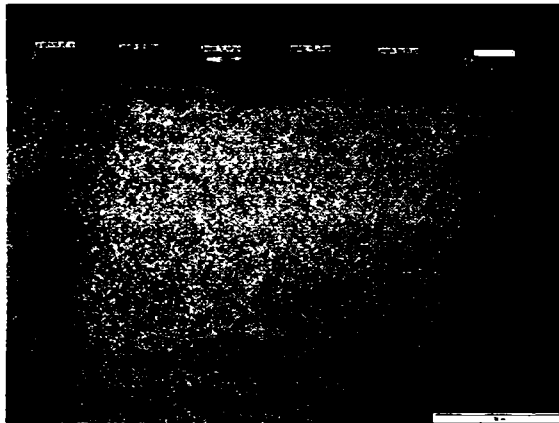


Fig. 4.59 Măsurarea grosimii stratului de hidroxiapatită pentru depunerea convențională

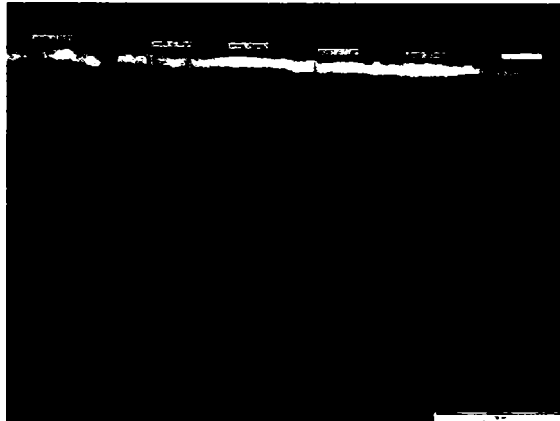


Fig. 4.60 Măsurarea grosimii stratului de hidroxiapatită pentru proba pregătită prealabil

Analiza metalografică a pus în evidență o grosime a stratului de hidroxiapatită de 17,97 μm pentru depunerea de hidroxiapatită prin metoda clasică și de 24,49 μm pentru proba tratată prin metoda optimizată.

Hidroxiapatita depusă astfel este inițial amorfă, prin urmare necesită o etapă de cristalizare, realizată prin tratament hidrotermal. În acest scop a fost utilizat cuptorul electric SR 730. Cu ajutorul lui prima probă a fost încălzită la 300 C, timp de 10 minute, după care a fost răcită în apă. Cea de a doua probă a fost încălzită la 600 C, timp de 10 minute, după care a fost răcită tot în apă.

Analiza metalografică și XRD (figura 4.61) demonstrează prezența unui strat uniform și aderent pe suprafața probelor din Ti, preponderent amorf în prima etapă, dar cristalizabil prin tratament hidrotermal.

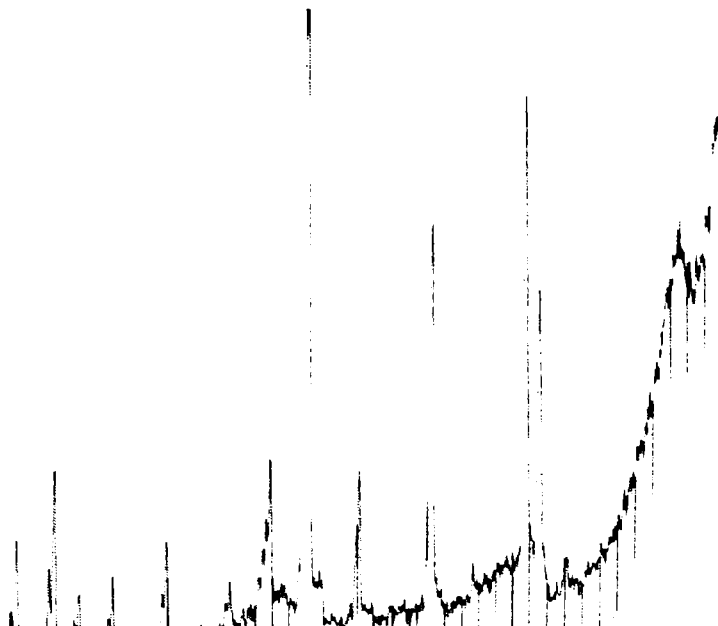


Fig. 4.64 Spectrul de difracție în raze X

4.8. Concluzii

Chiar dacă la ora actuală au fost elaborate mai multe metode de modificare a suprafețelor implantelor chirurgicale, funcționalizarea suprafețelor de Titan prin metode electrochimice rămâne în actualitate datorită faptului că este ușor de aplicat, nu necesită condiții speciale de lucru și se pretează la aplicații pe scară semiindustrială. Efectele acestei funcționalizări sunt din multe puncte de vedere comparabile cu ale altor aplicații, dar cu costuri mult mai mici. Suprafețele rezultate sunt stabile din punct de vedere chimic și implantele astfel modificate nu necesită condiții speciale de manipulare, sterilizare și depozitare.

Dintre efectele benefice ale anodizării, se pot menționa:

- creșterea grosimii stratului protector de oxid de Titan, evidențiată în cadrul acestui capitol prin metode metalografice;
- nu afectează structura metalului, modificările limitându-se doar la suprafață;
- viteza de coroziune devine mai mică, prin urmare se reduce și cantitatea de ioni metalici eliberați la nivel tisular sau sistemic;
- rugozitatea suprafeței crește, element favorabil aderenței proteinelor plasmatiche în prima fază și aderenței celulare în etapele următoare;
- depunerea de hidroxiapatită prin metode electrochimice este superioară altor metode, deoarece stratul de hidroxiapatită se formează *in situ*, prin înglobarea electrolitului în structura metalică, având o aderență mult mai bună;
- gradul de cristalinitate al hidroxiapatitei obținută prin această metodă este foarte apropiat de acela al hidroxiapatitei din structurile osoase.

În concluzie, metodele electrochimice de funcționalizare a suprafeței Titanului pot fi utilizate pentru multe aplicații medicale, extinderea aplicării acestor tehnici găsindu-și pe deplin justificarea.

CAPITOLUL V

UTILIZAREA CELULELOR STEM PENTRU CREȘTEREA GRADULUI DE BIOCOMPATIBILITATE

5.1. Celulele stem și aplicațiile lor medicale

Cunoștințele despre celulele stem și aplicațiile lor potențiale au fost acumulate pe parcursul a peste 30 de ani. În anii 1960, se știa că anumite celule provenite de la șoareci prezintă capacitatea de a forma multiple tipuri de țesuturi. Celulele stem au fost menționate ca atare pentru prima oară în anul 1971 [48].

La ora actuală sunt deja în uz câteva terapii care se bazează pe utilizarea celulelor stem, cea mai cunoscută fiind transplantul medular utilizat pentru tratarea leucemiilor. Prin acest tratament celule stem care pot da naștere elementelor figurate (eritrocite, leucocite, trombocite) sunt implantate pacienților, cu scopul de a reface țesutul medular distrus în urma chimio și radioterapiei [17].

Numai în ultima vreme cercetătorii au descoperit faptul că celulele stem pot fi cultivate și multiplicare și in vitro, putându-se multiplica pentru mult timp și în afara organismului. Acest avantaj deschide noi căi în ceea ce privește manipularea acestor celule.

“Stem cells” este un termen utilizat pentru a descrie celulele precursor ce pot da naștere mai multor tipuri de țesuturi. Există câteva diferențe foarte importante în ceea ce privește plasticitatea acestor celule, respectiv capacitatea lor de a se multiplica și diferenția în alte linii celulare (figura 5.1).

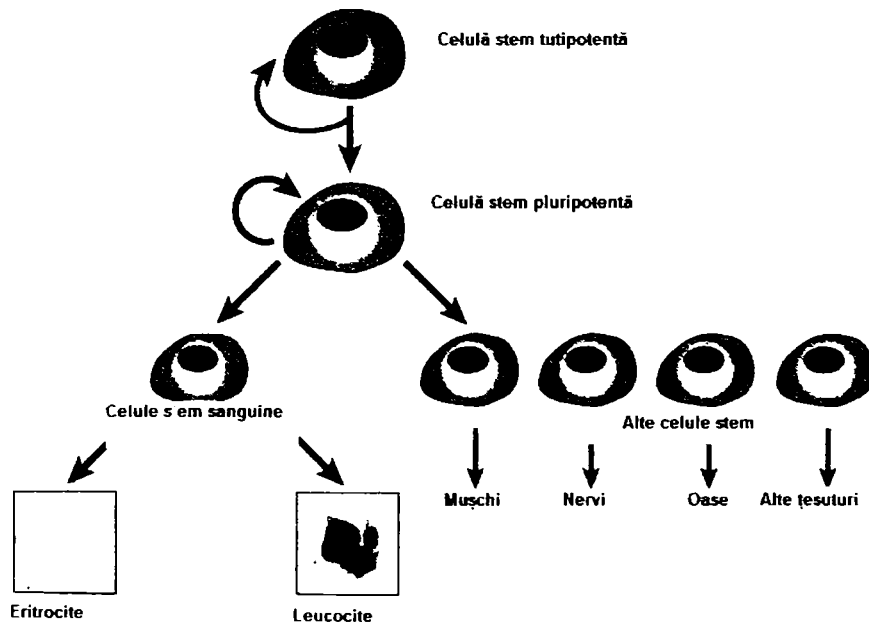


Fig. 5.1 Ierarhia celulelor stem

În funcție de capacitatea lor de diferențiere, celulele stem se pot clasifica în:

Celule stem totipotente pot da naștere unui întreg organism, funcțional din toate punctele de vedere, acoperind atât liniile celulare existente în organismul uman, cât și cele care aparțin țesuturilor de suport, cum ar fi placenta. Aceste celule există doar câteva zile, în primele stadii după fertilizare [4], [49], [127].

Celulele stem pluripotente sunt capabile să dea naștere în mod virtual oricărui tip de țesut, dar nu și unui organism funcțional în ansamblu. Ele nu pot forma țesut extraembrionar, prin urmare nu pot da naștere unui făt, dar au capacitatea de a se diferenția în cele peste 200 de tipuri de celule care intră în alcătuirea unui organism adult [53].

După aproximativ șapte zile de la concepție, un zigot se va divide în aproximativ 100 – 150 celule. Acestea vor lua forma unei mingi, numite blastocist, cu o masă de celule nediferențiate în interiorul ei. Aceste celule nediferențiate sunt utilizate pentru a genera *linii de celule stem embrionare*. Ele nu mai sunt *totipotente*, ci doar *pluripotente*.

După ce celulele embrionare s-au diferențiat în multitudinea de linii celulare care alcătuiesc un făt, un copil sau un adult, cele mai multe dintre ele își pierd capacitatea de diferențiere ulterioară. Cu toate acestea, un număr mic de celule, numite *celule stem adulte*, își păstrează o anumită capacitate, limitată, de diferențiere. Aceste *celule stem multipotente* îndeplinesc funcțiile de reparare și înlocuire a celulelor corpului

Celulele stem multipotente sunt celule mai diferențiate, motiv pentru care pot da naștere doar unui număr limitat de țesuturi. De exemplu linia de celule stem mezenchimale poate da naștere doar țesuturilor muscular, osos, cartilajinos, adipos și altor tipuri de țesuturi conjunctive [20], [65].

5.2. Surse posibile și caracteristici ale celulelor stem

Cele mai importante surse posibile de celule stem sunt:

- embrioni creați prin fertilizare *in vitro*;
- embrioni sau feteși obținuți prin avort selectiv;
- embrioni creați prin transfer nuclear de celule somatice (SCNT, clonare);
- țesuturi adulte (măduva osoasă, sânge provenit din cordonul ombilical).

În funcție de proveniența lor, celulele stem se pot clasifica în:

Celule stem provenite din embrioni sau țesut fetal – au fost izolate pentru prima oară din embrioni murini, în anul 1891.

Embrionii de origine animală au fost singura sursă pentru cercetarea celulelor stem până în anul 1988, când un grup de cercetători aparținând Universității din Wisconsin, au anunțat izolarea cu succes a celulelor stem embrionare, provenite de la un embrion în vârstă de o săptămână, obținut prin fertilizare *in vitro* (figurile 5.2 și 5.3). Metoda este controversată, deoarece celulele stem sunt localizate în embrion și procesul îndepărtării lor duce la distrugerea acestuia [48], [127].

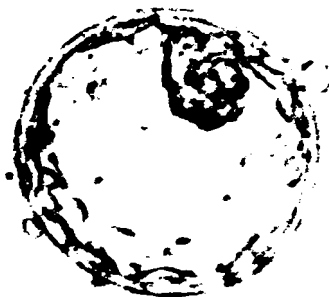


Fig. 5.2. Blastocist.

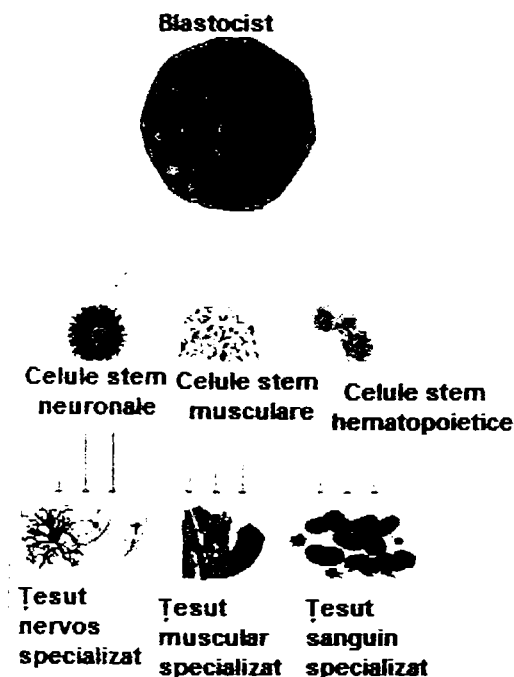


Fig. 5.3. Etapele de diferențiere ale celulelor stem embrionare

Un alt grup, aparținând Universității Johns Hopkins, au obținut celule stem cu proprietăți similare din embrioni sau fetoși cu vârste cuprinse între 5 și 9 săptămâni, obținuți prin avort selectiv.

Celulele astfel obținute, indiferent de metodă, au fost manipulate în laborator cu scopul de a se obține linii de celule stem embrionare ce pot continua să se dividă sub această formă timp de luni sau chiar ani.

O altă sursă de celule stem este clonarea. Celulele create prin clonare i se permite să se dividă timp de o săptămână, după care celulele stem obținute astfel sunt separate și extrase.

Studiul celulelor stem embrionare umane a început cu relativ puțin timp în urmă. Cea mai mare parte a datelor existente provin de la celulele stem murine, care au fost investigate intens în ultimii 18 ani. Și cunoștințele despre celulele stem umane își au originea tot din aceste studii.

Există un număr foarte mare de linii de celule stem, inclusiv unele provenind de la ființe umane [140].

ESC (celulele stem embrionare) au o importanță științifică deosebit de mare deoarece reunesc trei caracteristici care nu se mai regăsesc împreună la alte tipuri de celule.

Prima este aceea că ele par a se replica la infinit, fără să suporte fenomenul de senescență (îmbătrânire sau moarte) sau mutații ale materialului genetic.

A doua este aceea că ESC par normale din punct de vedere genetic, ele fiind capabile să dea naștere unui șoarece cu genomul derivat complet din celule stem embrionare. La șoarece, aceste celule au un comportament totipotent, iar atunci când sunt introduse într-un embrion tânăr, se alătură celulelor gazdei și dau naștere unui șoarece normal, diferențiindu-se în fiecare tip de celulă din organismul animalului. ESC se mai pot diferenția în multe tipuri de celule în culturi tisulare, dând naștere țesuturilor de tip osos, muscular și chiar nervos. Embrionul normal are aproximativ 100 de tipuri de celule care prezintă proprietăți de ESC și care există doar pentru o zi, după care se diferențiază în diverse tipuri celulare mai specializate.

Izolarea și cultivarea ulterioară a acestor celule stem permite obținerea a milioane de celule stem într-un singur mediu de cultură.

Caracterizarea parțială a acestor ESC a fost făcută pentru prima oară în anul 1998. Aceste celule au capacitatea de a-și menține caracterul pluripotent chiar și după cultivarea timp de 4-5 luni. Există o temere că aceste celule ar putea evolua spre forme canceroase. Chiar dacă până la această oră nu există date temeinice care să vină în sprijinul acestei ipoteze, au fost semnalate cazuri de hiperproliferație benignă.

Celulele stem adulte au capacitatea de a se diferenția în mai multe tipuri de linii celulare, în funcție de tipul țesutului în care au fost plasate. De exemplu, celulele stem din măduva osoasă pot da naștere la eritrocite, leucocite și trombocite. Termenul de *adult* este folosit pentru a indica faptul că aceste celule stem sunt situate într-o etapă mai avansată a diferențierii celulare față de celulele stem embrionice. Celulele stem adulte derivă din țesuturi mature, provenite de la embrion, făt sau chiar adult. Chiar după maturarea completă a unui organism, celulele trebuie înlocuite. Un exemplu bun este sângele, dar este valabil și pentru mușchi și alte țesuturi conjunctive, în unele cazuri chiar și pentru anumite tipuri de celule nervoase.

Deoarece ele pot da naștere doar unui număr redus de celule, ele mai sunt numite celule stem multipotente.

Oamenii de știință au izolat celule stem adulte din mușchii scheletali, ficat, piele, pulpă dentară, pancreas, cordonul ombilical și tractul gastro-intestinal.

Pe parcursul dezvoltării post embrionare și chiar în forma adultă, anumite țesuturi ale corpului necesită celule stem pentru o înlocuire și reparare în condiții normale. Celulele stem care se găsesc în țesuturi evoluat și diferențiate, indiferent de vârsta organismului la acel moment, sunt numite *celule stem adulte*. Cel mai cunoscut exemplu în acest sens este acela al celulelor stem hematopoietice. Mai recent aceeași proprietate a fost descoperită și la celulele stem mezenchimale (MSC).

Celulele stem adulte sunt multipotente, iar numărul de țesuturi pe care acestea le poate genera este mic în comparație cu celulele stem embrionare. Cu toate acestea, MSC au un potențial terapeutic foarte mare. La ora actuală ele sunt folosite pe scară destul de largă pentru plastia țesutului osos sau cartilajinos.

Terapia cu celule stem adulte poate să completeze, nu și să înlocuiască ESC. Cu toate acestea ele au unele avantaje. De exemplu, celule stem adulte oferă posibilitatea de a utiliza mici fragmente de țesut pentru a obține o cultură inițială din celule proprii. Acestea pot fi multiplicare pentru o implantare ulterioară (metodă numită transplant autolog). Această metodă evită problemele de ordin etic sau moral legate de transplant și elimină posibila contaminare virală sau bacteriană.

În practica clinică se folosește deja în mod curent transplantul de celule stem hematopoietice autologe sau alogene izolate din sângele periferic sau măduva osoasă hematogenă.

Din păcate multe celule de interes medical nu pot fi, cel puțin la ora actuală, obținute din celule stem adulte. Producerea unui număr mare de astfel de celule este mai dificilă decât în cazul ESC.

5.3. Aplicații medicale ale celulelor stem

Transplantul: Celulele stem pluripotente pot fi utilizate pentru a crea un număr nelimitat de celule, țesuturi sau chiar organe, care pot fi utilizate pentru a restaura organe sau funcții, fără a mai fi nevoie de o medicație imunosupresoare și fără a se mai ridica problema compatibilității.

Astfel de celule, utilizate în terapia transplantățională, ar putea fi disponibile ca donatori "universali". Transplantul medular, o tehnică dificilă, costisitoare și riscantă, poate deveni mult mai ieftină și mai sigură în tratamentul multor afecțiuni, cum ar fi anemia aplastică și alte afecțiuni hematologice dobândite. Metoda ar putea fi deosebit de utilă în special în cazul persoanelor care și-au pierdut funcțiile medulare în urma unei expuneri la radiații sau produși toxici [34].

De asemenea ar putea deveni fezabilă creșterea și transplantarea altor țesuturi pierdute în boli sau accidente, cum ar fi țesutul cutanat, inima, componente ale sistemului nervos, etc.

Regenerarea osoasă: Defectele osoase masive reprezintă o importantă problemă pentru chirurgia ortopedică, soluția cea mai bună fiind autogrefa osoasă însă sursele utilizabile sunt limitate iar recoltarea implică multiple riscuri cum ar fi, infecția, afectarea nervilor periferici și pierderea funcționalității [20], [80].

Studiile de regenerare osoasă utilizând CSM implică cultivarea sau încărcarea celulelor pe scaffolduri structurale asemănătoare segmentului osos. Scaffoldurile sunt în general structuri dure, poroase care permit aderarea CSM oferind-le suport mecanic, având la bază materiale sintetice sau naturale.

Rezultatele obținute până în prezent indică eficiența scaffoldurilor încărcate cu CSM în reconstrucția osoasă cu redarea intergității osoase.

Astfel de scaffolduri pot substitui defecte osoase de până la 25mm lungime. Radiografiile efectuate la 4 și 16 săptămâni atestă procesele de osteogeneză. Microradiografiile efectuate la 16 săptămâni decelează formarea de corticală osoasă și realizarea continuității osoase. Aceste rezultate sunt raportate la loturi control la care s-au utilizat doar scaffolduri neîncărcate sau încărcate cu măduvă osoasă integrală proaspătă.

Regenerarea osoasă cu scaffolduri încărcate cu CSM a fost lansată clinic de concernul Osiris. După o primă fază pilot, a început să fie utilizată clinic la începutul anului 2002. Transplantul allogen de CSM este utilizat ca alternativă terapeutică la copii cu Osteogenesis Imperfecta. Rezultatele raportate până în prezent indică o considerabilă eficiență terapeutică, grevată însă de complicațiile transplantului allogen.

Autotransplantul de CSM manipulate genetic în sensul rectificării mutațiilor genetice poate constitui o alternativă terapeutică viabilă pentru maladiile congenitale ale țesutului conjunctiv al căror substrat genetic este exact cunoscut. Rezultate promițătoare documentate la nivel molecular s-au realizat în Osteogenesis Imperfecta. CSM manipulate au fost purificate și cultivate cu scopul diferențierii lor în osteoblaste pentru a observa efectul asupra structurii colagenului sintetizat, rezultatele demonstrând o stabilitate foarte apropiată de cea a colagenului normal.

Regenerarea articulară: Diversitatea afecțiunilor care conduc la deteriorarea articulară cu afectarea consecutivă a funcționalității a constituit o motivație pentru găsirea unei alternative terapeutice viabile [106].

Din perspectiva terapiei celulare celulele ideale pentru producerea unor structuri similare celor articulare ar fi condrocitele articulare și osteoblastele. Problema majoră o reprezintă faptul că aceste celule nu se înmulțesc *in vitro*, iar pentru obținerea unei cantități suficiente ar trebui recoltate mari cantități de cartilaj. CSM în schimb pot fi izolate în cantități mici și înmulțite *in vitro* iar ulterior diferențiate în tipurile celulare dorite, CSM putând fi diferențiate atât în condrocite cât și în osteoblaste.

În prezent, pentru reconstrucția articulară, sunt utilizate numeroase tipuri de scaffolduri naturale și sintetice însă cu toate acestea nu există un consens asupra unui tip ideal de scaffold. Ca proprietate de bază, acesta trebuie să simuleze matrixul extracelular natural format din colagen tip II și proteoglicani. Acestui criteriu corespund o serie de structuri cum ar fi alginatul, hyaluronatul, chitosanul și polimerii pe bază de polietilen glicol.

Utilizarea suprafețelor metalice ale implantelor chirurgicale pentru cultivarea, multiplicarea și diferențierea CSM ar putea fi o soluție pentru integrarea lor tisulară. Din păcate metoda este limitată de gradul redus de aderență a CSM pe suprafețele metalice. O soluție ar putea consta în funcționalizarea prealabilă a suprafețelor. Metodele electrochimice propuse în cadrul acestei teze ar putea fi o soluție a acestei probleme.

5.4. Determinarea gradului de aderență celulară

Aderența celulară face referire atât la numărul, cât și la tipul de celule care aderă pe suprafața implantului. Ea are o importanță deosebită în ceea ce privește evoluția ulterioară a implantului. Calitatea suprafeței, în cazul de față funcționalizarea ei, poate facilita aderența unui număr cât mai mare de celule stem.

Protocol de lucru pentru testarea materialelor pe bază de titan utilizate ca suport pentru celulele stem mezenchimale

Pentru testarea gradului de aderență pe suprafețe din Titan funcționalizate în prealabil prin anodizare au fost folosite celule mezenchimale. Acestea au fost tripsinizate (izolate din țesut cu ajutorul tripsinei), numărate, dozate și incubate în medii de cultură în care au fost introduse și plăcuțele din Titan.

În paralel a fost studiat și efectul sterilizării asupra suprafeței, pentru două metode: sterilizarea în autoclavă și cea cu Etilen oxid. Practic, s-au folosit două loturi de plăcuțe din Titan pregătite identic, dar sterilizate prin cele două metode.

Protocolul de lucru conține următoarele etape:

1. Sterilizare materiale
2. Plasare materiale în plăci:
 - a. placa A – sterilizare la autoclavă;
 - b. placa B – sterilizare cu etilenoxid.

3. Plasarea materialelor în godeuri, conform schemei de mai jos;
4. Primele două rânduri ale fiecărei plăci (vezi schema) se incubează cu mediu 1 ml/godeu pentru 24 ore;
5. După 24 ore se aruncă mediul;
6. În toate godeurile se adaugă celulele: câte 100 000 celule /30 μ l/godeu pentru 24 ore;
7. Incubare timp de 1 oră;
8. În fiecare godeu se completează cu mediul, câte 1,5 ml;
9. Incubare 2 h;
10. După 2 ore (3 ore de la însămânțarea cu celule) se citesc, pentru ambele plăci, rândurile de pe margine (figura 5.4):
 - a. - se aspiră supernatantul;
 - b. - se numără celulele.
11. După 24 ore (25 ore de la însămânțarea cu celule) se citesc, pentru ambele plăci, rândurile din mijloc:
 - a. - se aspiră supernatantul;
 - b. - se numără celulele.

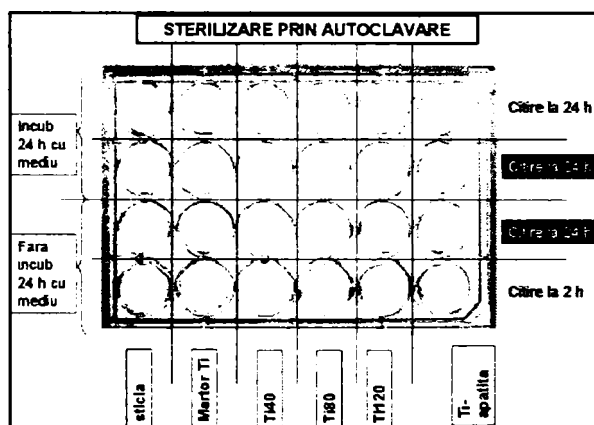


Fig. 5.4. Schema godeurilor pentru sterilizare în autoclavă

Practic celule utilizate pentru testarea gradului de aderență sunt recoltate, numărate, aduse la o concentrație de 100.000 celule/30 μ l/godeu și incubate. La sfârșitul perioadei de incubare se numără celule prezente în supernatant, numărul celulelor aderate rezultând prin diferență (tabelul 5.1).

Tabel 5.1. Tripsinizare plăcuțe Ti

Sticlă	Autoclav	Maror	Autoclav	40	Autoclav	10 0/ 80	Autoclav	150 / 120	autoclav
	Etilen oxid		Etilen oxid		Etilen oxid		Etilen oxid		etilenoxid
110000-120000 90000			110000 90000		100000 80000		100000 80000-90000		90000 100000
45000 60000			0 60000		- 45000		30000 15000		60000 75000
60000 60000			60000 30000		40000 30000		60000 0		45000 10000
120000 100000			110000 80000		100000 85000		110000 90000		115000 90000

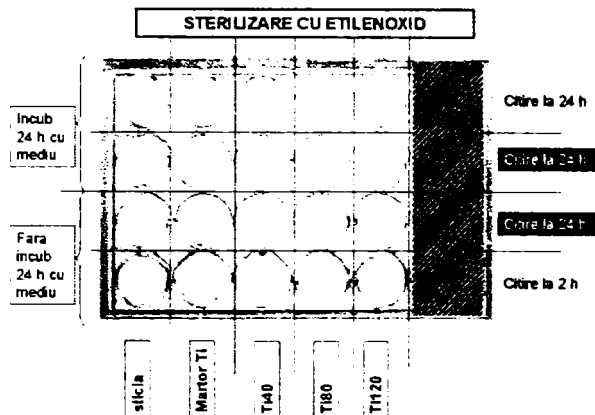


Fig. 5.5. Schema godeurilor pentru sterilizare în etilenoxid

Tabelul 5.2. Supernatant autoclav

Sticlă	Martor	40 etilenoxid	80	120
- pe sticlă multe celule aderate și întinse - în jur foarte multe cristale - puține celule	- multe grupuri de celule - multe celule izolate	- celule izolate	- grupuri mici și celule izolate	- câteva bucăți negre (nu sunt celule) - puține grupulețe de celule - câteva celule izolate întinse
- pe sticlă multe celule aderate și întinse - în jur foarte multe cristale - puține celule	- multe grupuri de celule - multe celule izolate	- multe grupuri și celule izolate	- câteva grupuri și celule izolate	- 2 grupuri de celule - 1 bucățică neagră
- pe sticlă foarte multe celule aderate - foarte multe grupuri, dar și celule izolate, întinse în jur	- câteva grupuri și celule izolate întinse	- 2 grupuri de celule	- rare celule izolate	- rare celule izolate
- pe sticlă foarte multe celule aderate - multe cristale în jur - deloc celule în jur	- câteva grupuri și celule izolate întinse	- 1 grup	- puține grupulețe de celule întinse	- multe grupulețe și celule izolate întinse

5.5. Cultivarea celulelor stem pe suprafața implantelor din titan funcționalizat Protocol de lucru

Recoltarea de material biologic

A fost utilizată măduva osoasă hematogenă, recoltată prin manevre medico-chirurgicale specifice (puncție sternală sau din creasta iliacă), desfășurate în condiții de perfectă siguranță și sterilitate, având acordul prealabil al subiecților, cărora li s-a explicat scopul în care vor fi utilizate respectivele materiale biologice, și având avizul comisiei de etică a UMF Timișoara.

Măduva hematogenă se recoltează prin aspirație de la nivelul crestei iliace postero-superioare sau de la nivelul feței anterioare a sternului, aproximativ 5-20 ml de măduvă într-o seringă heparinată. Recoltarea se efectuează în camera sterilă chirurgicală, cu pacientul în anestezie locală sau generală în cazul puncției iliace.

Tehnici de izolare a celulelor stem mezenchimale - Izolarea prin aderare la plastic

Metoda se bazează pe proprietatea CSM de a adera la suprafețele de plastic.

Protocol de lucru:

- Se recoltează 10 ml măduvă hematogenă sau sânge periferic;
- Se diluează 1:2 cu IMDM (Iscove Modified Dulbecco Medium);
- Se izolează celulele în gradient de densitate. Celulele aderente sunt localizate în stratul superficial, având densitate joasă. Cantitatea de CSM variază în funcție de vârsta pacientului, și este de 50-500 celule;
- Suspensia celulară obținută se repartizează în plăci Petri, în vederea separării selective prin aderare;
- După 3 zile fracția celulară care nu a aderat se îndepărtează, și se schimbă mediul de cultură;
- Ulterior, mediul se schimbă la fiecare 4 zile până în momentul obținerii confluenței totale, care în mod normal se realizează după 14-21 zile.

Această metodă este cel mai des utilizată, datorită prețului de cost redus și cantităților mari de CSM obținute, în comparație cu celelalte metode.

Cultivarea in vitro a celulelor stem mezenchimale

Cultivarea CSM în faza inițială se poate realiza pe 3 medii diferite:

- Mesencult – ce conține un amestec de citokine necesare proliferării CSM;
- IMDM + 20% ser fetal bovin (FBS);
- IMDM + 20% ser fetal bovin (FBS) + Fibroblast Growth Factor (FGF), 2 ng/ml.

CSM se cultivă în plăci de plastic de 25 mm² pe aceste medii până la confluență, ceea ce se observă după aproximativ 3 săptămâni.

Ulterior celulele sunt tripsinizate cu Trypsin-EDTA, spălate prin centrifugare și repartizate pe plăci, în concentrație de 1×10^5 cel/ml, în vederea diferențierii ulterioare.

Celulele astfel obținute se analizează atât în momentul izolării și plasării lor pe mediile de cultură (ziua 0), cât și la diferite intervale, în evoluție: ziua 7,14,21 (primul pasaj), ziua 42 (al doilea pasaj).

La atingerea confluenței și trecerea la pasajele ulterioare, o anumită cantitate se recoltează în vederea caracterizării acestor celule (viabilitate, morfologie, markeri).

Caracterizarea celulelor stem mezenchimale in vitro

1. Determinarea concentrației celulare

S-a utilizat metoda standard de numărare a celulelor în camera Neubauer (hemocitometru).

$Nr\text{ celule/ml} = nr\text{ celule din pătratul mare} \times \text{factorul de diluție} \times 10^4$

2. Determinarea viabilității celulare

S-a utilizat metoda microscopică cu Trypan Blue: celulele moarte, cu membrana celulară lizată, se colorează albastru, iar celulele vii, cu membrana intactă, rămân necolorate.

3. Imunofenotiparea CSM

S-a utilizat tehnica de flowcitometrie și combinații de anticorpi monoclonali care să permită identificarea și cuantificarea CSM.

Această metodă de analiză se aplică pentru determinarea mai multor parametri ai unei particule aflată în mișcare într-un curent de lichid. Determinările se fac separat pentru fiecare particulă aflată în suspensie și nu doar ca o valoare medie a populației de particule.

Determinările se fac pe suspensii de celule sau nucleii celulari sau organite celulare, care sunt propulsate printr-un ac de injecție într-un curent unicelular care se va intersecta cu un fascicul de lumină. Are loc cuplarea unor epitopi (prezenți pe suprafața sau în interiorul particulei) cu anticorpi monoclonali.

Anticorpii monoclonali utilizați în flowcitometrie sunt frecvent cuplați cu coloranți specifici (fluorocromi). Fluorocromii cei mai utilizați sunt izotiocianatul de fluoresceină (FITC) și phycoeritina (PE). FITC emite în spectrul verde, PE în spectrul roșu.

- **Componentele flowcitometrului :**

- sistemul fluidic – cu rol de a „livra” celulele aflate în suspensie, una câte una, într-un anumit punct, unde acestea se vor intersecta cu un fascicul de lumină,
- sistemul optic – (lămpi voltaice, lasere); în urma intersecției particulei cu fasciculul luminos se produc 2 fenomene: dispersia luminii și emisia de lumină fluorescentă,
- sistemul electronic – afișează rezultatele ca histograme și grafice dot-plot.

- **Analiza probelor:**

- marcarea celulelor din probă: proba se pune în contact cu 1 - 4 anticorpi monoclonali, cea mai frecvent utilizată este marcarea cu 2 anticorpi monoclonali, care au fost în prealabil cuplați cu fluorocromi: FITC și PE;
- analiza instrumentală (achiziția) – cu flowcitometrul;
- stocarea și analiza datelor achiziționate – cu ajutorul calculatorului, prezentarea se face sub forma de histograme sau grafice dot-plot. Graficele dot-plot au reprezentat pe axa Ox emisia de fluorescență verde (marcare cu FITC), iar pe axa Oy emisia de fluorescență roșie (marcare cu PE). Se obțin 4 cadrane care delimitează, pe baza prezenței sau absenței markerilor fluorescenți (deci a unor antigene de suprafață), 4 populații celulare distincte.

- *Sortarea celulelor*: constă în colectarea separată, prin deflecție electrostatică, a unei populații sau subpopulații celulare, astfel încât celulele nu suferă modificări și rămân viabile. Populațiile celulare sortate au puritate înaltă (99%) și pot fi utilizate pentru culturi celulare.
- Pentru achiziția probelor se utilizează flowcitometrul FACS Calibur Immunocytometry Systems, produs de Becton Dickinson, dotat cu două fascicule laser și posibilitatea de marcare în 4 culori a celulelor. Pentru imunofenotiparea celulelor stem adulte se folosește tehnica de flowcitometrie, utilizând dubla marcare cu anticorpi monoclonali marcați cu FITC și PE.
- *Softul utilizat*: pentru achiziție, CellQuest software, iar pentru analiza datelor, softul Paint-A-Gate.

După evidențierea microscopică a confluenței celulelor (aprox. 21 zile de cultură), înainte de efectuarea unui pasaj, se efectuează stainingul celulelor după tripsinizare de pe placa de cultură.

CSM se detașează de pe placă prin tripsinizare cu o soluție de EDTA/trypsină, se spală prin centrifugare cu PBS și se resuspendă în PBS la o concentrație de 1×10^5 /ml.

Protocol staining:

- celulele se fixează în 1% metanol, la 4⁰C, pentru 10 minute;
- se spală cu PBS și se resuspendă la o concentrație de 1×10^5 celule/ml;
- se incubează celulele cu o soluție de blocare a legărilor nespecifice: 1%BSA + 0.1%FCS timp de 1h la temperatura camerei;
- se spală prin centrifugare în PBS și se resuspendă (1×10^5 celule/ml);
- se pipetează anticorpii monoclonali în eprubete numerotate (10 μl);
- se pipetează 50 μl suspensie celulară;
- se incubează 40 minute/4⁰C/ întuneric;
- se adaugă PBS 2ml/tub și se centrifughează 10minute/300g/4⁰C;
- se decantează supernatantul și se resuspendă în 250 μl pentru achiziția pe flowcitometru.

4. Microscopie optică

Probele obținute se analizează de două ori pe săptămână la un microscop cu lumină inversată, în contrast de fază (Nikon Elipse E600).

Protocolul de lucru pentru testarea aderenței celulare conține următoarele etape:

1. sterilizare materiale – AUTOCLAVĂ;
câte 8 bucăți din fiecare tip de material ; plasare materiale în plăci (la fel în ambele plăci);
2. plasare materiale în godeuri, conform schemei;
3. primele 2 rânduri ale fiecărei plăci (vezi schema) se incubează cu mediu 1ml/godeu pentru 24 h;
4. după 24 h se aruncă mediul;
5. în toate godeurile se adaugă celule : câte 100.000 celule/30 microlitri/godeu
=> aprox. 4 milioane celule/ 1,2 ml mediu;
6. incubare timp de 1h;
7. în fiecare godeu se completează cu mediu, câte 1,5 ml;
8. incubare 2h;
9. după 2h (3h de la însămânțarea cu celule) se citește placa A (figura 5.6):
 - a. se aspira supernatantul;
 - b. se numără celulele.
10. după 24 h (25h de la însămânțare celule) se citește placa B (figura 5.7):
 - a. se aspiră supernatantul;
 - b. se numără celulele.

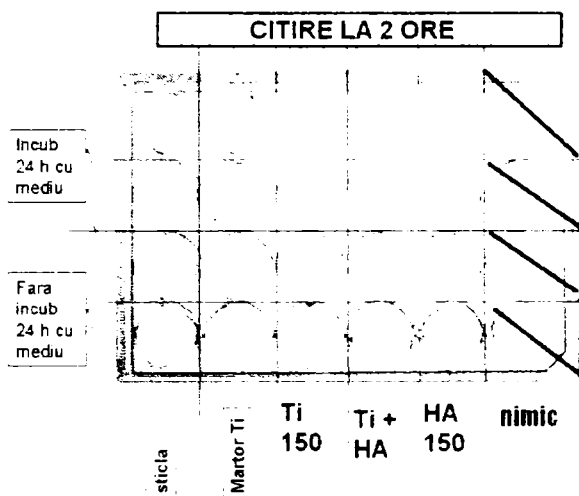


Fig. 5.6. Plasarea plăcuțelor în godeuri. Citire la 2 ore

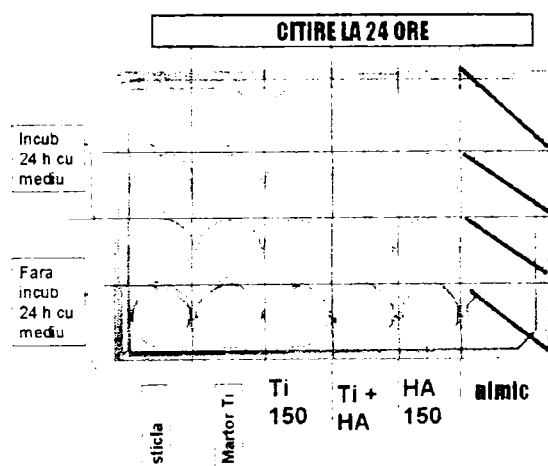


Fig. 5.7. Plasarea plăcuțelor în godeuri. Citire la 24 ore

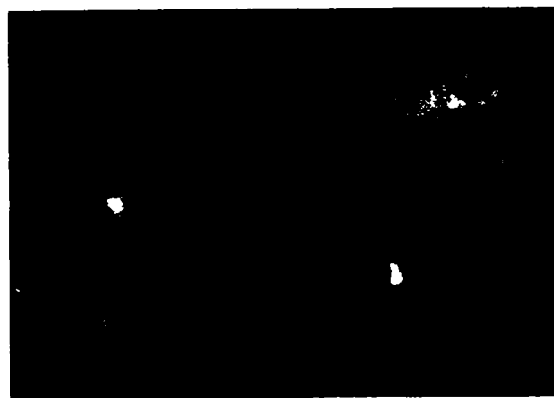


Fig. 5.8. Aderența celulelor pe suprafața implantului anodizat la 150 V. MO cu fluorescență.

Studiile de aderență celulară pe plăcuțe din Ti anodizate la diverse tensiuni au demonstrat că aderența, cel puțin pentru tratamentele de modificare și pasivare a suprafețelor aplicate în cazul de față, este maximă pentru anodizarea la valori medii ale tensiunii cuprinse între 100-150 V.

Cercetarea s-a efectuat în cadrul laboratorului de Imunologie al UMF Victor Babeș din Timișoara, autorul tezei participând la activități specifice conținutului tezei alături de specialiștii laboratorului, autorizați să manipuleze echipamentele.

Acest studiu deschide perspectiva realizării unor suprafețe funcționalizate pentru implantele din Titan, care să permită integrarea lor mai bună atât la nivel sistemic, prin reducerea cantității de ioni metalici eliberați ca urmare a coroziunii, cât și la nivel celular. La acest nivel, funcționalizarea suprafeței implantelor și obținerea unui grad de aderență cât mai mare, în special pentru celulele stem embrionare, deschide calea populării suprafeței implantului cu celule capabile să se diferențieze și să se specializeze, asigurând o integrare totală la nivel de organ și implicit o recuperare funcțională cât mai bună.

5.6. Concluzii

Chiar dacă utilizarea celulelor stem a fost și încă mai rămâne o problemă controversată, utilizarea acestora capătă o răspândire tot mai largă.

Utilizarea CSM în locul celulelor stem embrionare înlătură oarecum problemele de ordin etic, dar reduce sfera aplicațiilor medicale. Celulele stem mesenchimale sunt multipotente, dar numărul de țesuturi pe care acestea le pot genera este relativ mic. La ora actuală ele sunt folosite pentru plastia țesutului osos sau cartilagos. Ele oferă posibilitatea de a se utiliza mici fragmente de țesut pentru a se putea obține o cultură inițială din celule proprii (transplant autolog). Astfel sunt evitate problemele de ordin etic și moral.

Dintre aplicațiile CSM, o importanță deosebită pentru această teză o are regenerarea articulară și osoasă. Pentru acest scop se pot utiliza scaffolduri diverse, în funcție de natura defectului osos sau cartilagos ce se repară. Utilizarea unor structuri de susținere de tip hidroxiapatită, chitosan, acid polilactic, acid poliglicolic, sau amestecuri ale acestora, nu ridică probleme deosebite în ceea ce privește aderența celulară. Din păcate, rezistența lor mecanică este destul de redusă, ceea ce limitează oarecum numărul de aplicații pentru care aceste materiale se pretează.

Cultivarea, multiplicarea și diferențierea CSM pe suprafață implantelor chirurgicale ar putea fi o soluție pentru integrarea lor tisulară. Din păcate metoda este limitată de gradul redus de aderență a CSM pe suprafețele metalice. O soluție ar putea consta în funcționalizarea prealabilă a suprafețelor.

Metodele electrochimice propuse în cadrul acestei teze ar putea fi o rezolvare a acestei probleme. Rezultatele experimentale obținute confirmă faptul că o suprafață metalică funcționalizată prin metode electrochimice prezintă o aderență celulară mai bună comparativ cu probele martor utilizate. Aderența celulară este optimă pentru o anodizare la o valoare a tensiunii de 150 V. Combinarea anodizării cu alte metode chimice sau/și electrochimice ar putea genera suprafețe metalice cu o funcționalitate crescută.

CAPITOLUL VI

ASPECTE CLINICE ȘI PARACLINICE

6.1. Aspecte generale privind biocompatibilitatea implantelor metalice

Biocompatibilitatea implantului este corelată cu o multitudine de reacții complexe, ce depind atât de pacient (răspunsul inflamator al gazdei), cât și de calitatea implantului (compoziția chimică, suprafața materialului).

Printre factorii care depind de pacient, se pot enumera: starea generală de sănătate, vârsta, gradul de perfuzie tisulară, factorii imunologici, etc [7].

Reacția gazdei la acțiunea implantului nu este un proces normal de vindecare. Ea are anumite caracteristici ce depind de proprietățile generale ale materialului, de toxicitatea individuală a fiecărui metal prezent în aliaj, de starea suprafeței acestuia (rugozitatea și porozitatea suprafeței, reacțiile chimice de suprafață, comportarea materialului la coroziune) și de considerente biomecanice [2].

Răspunsul inflamator mai poate fi influențat de abilitatea chirurgului, tehnica folosită și de elementele biomecanice (stabilitatea mecanică a implantelor).

Din punct de vedere al biocompatibilității, cele mai importante reacții tisulare țin de răspunsul inflamator [7], [41], [51].

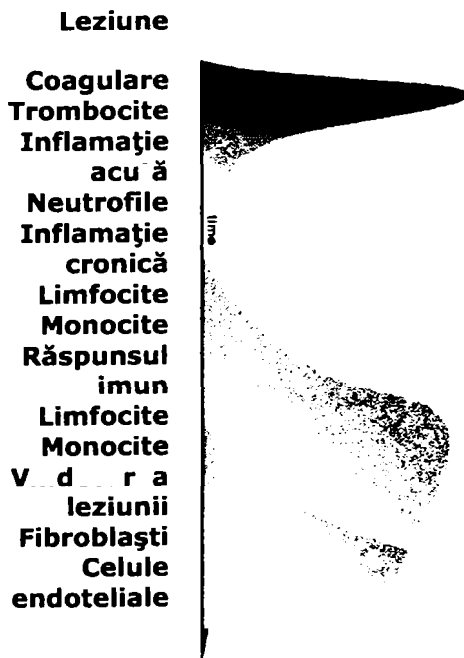


Fig. 6.1. Reacția gazdei la corpul străin

Trauma chirurgicală reprezintă o reacție inflamatorie acută nespecifică, ce se caracterizează prin modificări vasculare, incluzând dilatarea capilarelor, creșterea permeabilității acestora și a fluxului sanguin local. Pe suprafața implantului se formează un cheag care conține leucocite, eritrocite, trombocite și fibrină. Mediatorii celulari și proteinele conținute în cheag au o importanță mare, deoarece pot influența proprietățile de suprafață ale materialului (figura 6.1).

6.2. Toxicitatea comparativă a metalelor din aliajele folosite pentru implantate

Scopul acestei analize este acela de a furniza o idee generală referitoare la potențialul patogen al acestor metale, care sunt constituenți majori ai celor mai frecvent utilizate aliaje metalice.

Cei mai importanți constituenți ai oțelului inoxidabil 316 L, utilizat în practica medicală sunt: Fe, Co, Cr și Ni (12-14 %). Aliajele bazate pe CoCr conțin de asemenea Ni, între 1%-35% [165].

Aliajele pe bază de Ni folosite mai frecvent în stomatologie conțin între 62% și 72% Ni (Rex, respectiv Rexillium). Alte materiale utilizate pentru implantate, și care prezintă interes, sunt Ti pur și aliajele de Ti6V4Al, frecvent folosite în stomatologie și ortopedie.

Implantele metalice reprezintă un rezervor de microelemente care în urma corozionii sunt puse în circulație, putând perturba echilibrul delicat al oligoelementelor din țesuturile înconjurătoare sau chiar din întregul organism. În acest caz, se produce o reacție sistemică, cu repercusiuni asupra întregului organism [162], [163].

Elemente ca Si, V, Cr, Fe, Co, Ni, Zn și Mo sunt cele mai frecvente în materia primă folosită la fabricarea implantelor, dar și cele mai importante microelemente prezente în organismul uman.

Pentru Ti, Al și Yr prezente în organism nu a fost descoperită nici o funcție fiziologică. Apariția acestora este considerată accidentală, cu toate că nu este exclusă nici lipsa unor cunoștințe suficiente referitoare la rolul lor.

Dintr-un total de 18 elemente chimice care prezintă acțiune biologică și un potențial patogen, necesitând investigații suplimentare, Titanul a fost considerat "Nr. 1".

Efectele alergice, toxice și carcinogenice ale acestor elemente asupra organismului depind de forma chimică a speciilor metalice.

Exemplele clasice în acest sens sunt: Fe II are acțiune metabolică, în timp ce Fe III nu. Cr este carcinogen doar sub forma Cr VI (hexavalent), în timp ce Cr III nu.

În cazul Ni, este clară dependența carcinogenității de forma chimică a acestuia. Atât Ni pur, cât și aliajele acestuia au efect carcinogenic prin eliberarea ionilor de Ni, care au atât efecte carcinogene cât și genotoxice [139], [143].

Datele experimentale referitoare la om demonstrează că după implantarea unor dispozitive medicale confecționate din metale ce conțin Ni, se pot observa atât nivele sanguine ridicate ale acestuia, cât și aberații cromozomiale [167].

Atât compușii solubili ai Ni, cât și cei insolubili, sunt considerați carcinogeni.

Structura, cristalină sau amorfă, reprezintă un alt factor ce trebuie luat în considerare. Astfel, NiS este carcinogen 100% doar în formă cristalină, nu și în formă amorfă.

Co, Cr, Fe, Ni, și Ti sunt primele 5 dintre cele 10 elemente de pe lista celor considerate carcinogene. NiO este 100% carcinogen, pe când NiTiO₃ nu are această proprietate [167], [168].

Chiar dacă sunt multe cazuri de cancer ce pot fi asociate cu o implantare de lungă durată (30 ani sau mai mult), capacitatea implantelor metalice de a induce cancerul este încă discutabilă.

O altă acțiune patologică a Ni, Co și Cr în organism este legată de capacitatea lor de a produce alergii de contact. Ni pare a fi cel mai important dintre acești alergeni. Co prezintă o capacitate similară Ni de a cauza dermatite de contact [171], [172].

Cele mai multe date provin din studiile referitoare la expunerea profesională sau la contactul cutanat cu unele bijuterii, unde sunt implicate în special celulele pielii. Există totuși și un număr mai redus de studii ce se referă la alergiile rezultate în urma unei expunerii medicale: expunerea orală sau chiar mai profundă la Ni conținut în implantate. Unii pacienți alergici la Ni pot prezenta reacții severe la sârmele de Nitinol ortodontic [142], [159].

Aceste observații indică faptul că funcționalitatea unui implant în organism depinde într-o mare măsură de capacitatea aliajului folosit de a induce alergii. Iată de ce este important să se determine în prealabil sensibilitatea pacienților față de Ni. În acest scop, se pare că testul de stimulare limfocitară este mai sensibil decât cel al sensibilității cutanate/orale.

Fierul, care constituie aproximativ 50% din compoziția oțelului inoxidabil, poate fi și el un subiect de discuție în ceea ce privește acțiunea patologică indusă de metalele eliberate în corp.

Cel mai important aspect care se cunoaște referitor la Fe este acela că intră în compoziția hemoglobinei. În plus, Fe este un catalizator foarte important pentru multe reacții de sinteză ce țin de homeostazia organismului.

Această capacitate catalitică a Fe se leagă din păcate și de aceea de a produce molecule de tip peroxidic și specii de oxigen reactiv (ROS). Supraîncărcarea cu Fe, sau prezența extracelulară a ionilor de Fe este asociată, în prezent, cu multe boli, cum ar fi: biomineralizarea (calcifierea distrofică), ateroscleroza, afecțiuni cardiace și cancer.

De asemenea, Fe mai hrănește și bacteriile patogene, cauzând efecte adverse asupra sistemului de apărare al organismului. Din aceste motive, eliberarea de Fe din implantate este la fel de indzirabilă ca și eliberarea altor produși de coroziune.

O altă trăsătură importantă a Fe este legată de capacitatea acestuia de a stimula flora patogenă, ceea ce poate avea efecte nocive asupra organismului.

Nivelul toxicității Co este același sau mai mare decât cel al Ni. Toxicitatea Cr VI, este mult mai mare decât cea a Ni. Un studiu al lui Okazaky demonstrează că efectele Co, Ni și Fe asupra proliferării osteobalștilor și fibroblaștilor sunt aproape identice.

Nici unul dintre acești ioni nu afectează proliferarea celulară atunci când concentrația lor este mai mică de 2 ppm și toți suprimă complet proliferarea celulară atunci când concentrația ionilor depășește pragul de 20 ppm [164].

O problemă legată de Ti derivă din faptul că despre acesta nu se cunosc multe date referitoare la distribuția și comportamentul normal în țesuturi. Tradițional, Ti a fost considerat un material perfect biocompatibil, datorită filmului de oxid bioinert ce se formează în mod spontan pe suprafața sa.

Cu toate acestea, atitudinea față de Ti și compușii săi a devenit puțin mai rezervată în ultimii ani. Mai multe studii avertizează asupra faptului că Ti dizolvat în organismul uman poate induce eliberarea unor citokine potențial osteolitice, implicate în slăbirea implantului, suprimă în mod semnificativ proliferarea limfocitelor și stimulează proliferarea fibroblaștilor.

Un alt aspect important este legat de soarta produșilor de coroziune în organism. Eficiența mecanismului prin care aceștia sunt eliminați reprezintă un factor ce nu poate fi subestimat.

Studiile *in vivo* ale distribuirii metalelor administrate transdermic sau sistemic (prin injecție) au demonstrat că Ni și Co sunt eliminate în mod eficient din organism, prin urină și fecale.

Fe, Co și Cr prezintă tendința de a se acumula în corp, datorită tendinței lor de a se lega de celule, prin urmare și de țesuturi.

Ni se leagă mai puțin de celule, deoarece are o afinitate crescută față de proteinele plasmatiche. Prin intermediul acestora este realizată distribuția lui sistemică, pe cale hematogenă, putând fi cauza rashurilor cutanate diseminate. Cu toate acestea, există și avantajul că distribuția sistemică a Ni face parte dintr-un mecanism eficient de îndepărtare a acestuia din organism.

O foarte scurtă analiză a potențialelor patologice ale metalelor ce intră în mod tradițional în compoziția implantelor demonstrează că toate metalele enumerate pot avea un efect advers atunci când ating anumite concentrații, că cele mai multe sunt potențial carcinogene și unele, alergene [167].

Prin urmare, nici unul dintre aliajele folosite pentru confecționarea implantelor nu este perfect și este puțin probabil că un astfel de aliaj poate fi obținut. Din acest motiv selectarea unui material dintre cele existente necesită de fiecare dată o evaluare atentă a avantajelor și dezavantajelor pe care acesta le prezintă.

Cercetările vizând realizarea unor materiale mai sigure ar trebui să fie însoțite și de studii referitoare la stimularea capacității normale de detoxifiere a organismului, folosind antioxidanți și plante. Efectele toxice ale Ni asupra osteoblastelor sunt mult diminuate (cel puțin pentru concentrații sub 20 $\mu\text{M/l}$) prin administrarea de α -tocopherol (vit E) [15].

6.3. Reacții locale

În primele ore/zile după aplicarea implantului are loc un proces de coagulare și vascularizare. Implantul este acoperit cu un cheag care conține leucocite, eritrocite, trombocite și proteine de coagulare.

Efectele cumulate ale implantului și ale traumatismului chirurgical declanșează o reacție inflamatorie care elimină țesutul lezat, cheagul și bacteriile.

Celulele inflamatorii, inițial granulocitele și ulterior monocitele, sunt atrase la locul implantului cu scopul de a îndepărta deșeurile și materialele străine. Dacă acestea sunt într-o cantitate prea mare, are loc activarea enzimatică a fibroblaștilor, stimulându-i să producă o capsulă fibroasă în jurul implantului. Atât timp cât activarea fagocitelor este menținută, capsula ce se formează devine tot mai groasă. În țesuturile moi, în jurul materialului de implant se formează o capsulă subțire, fibroasă [2], [25].

6.3.1 Răspunsului celular și al țesuturilor moi

Calitățile materialului, în special modul în care acesta reușește să mimeze mediul natural (extracelular), pot influența în mod decisiv răspunsul unor celule individuale.

Reacția tisulară locală reprezintă cel mai important semn al biocompatibilității.

Biocompatibilitatea unui metal *in vivo* poate fi evaluată prin analizarea populațiilor celulare prezente, prin determinarea mediatorilor sau a metaboliților celulari, sau analizând caracteristicile morfologice ale țesutului din regiunea periimplant.

Particulele metalice de uzură au o importanță deosebită. Creșterea numărului acestora produce și creșterea suprafeței totale a materialului metalic, prin urmare și a cantității de ioni metalici eliberați.

Formarea unor microparticule de materiale care în mod normal nu sunt toxice poate declanșa un răspuns inflamator. Ele pot activa fagocitele, inducând eliberarea de citokine, proteinaze, factori de creștere, și alți factori proinflamatori, ceea ce duce în final la instalarea inflamației cronice, fibrozei, osteolizei și osteoporozei. Aceste particule de uzură duc la formarea unei interfețe de tip sinovial, slab vascularizată, între implant și os. Formarea ulterioară a focarelor de necroză, a granuloamelor și osteoliza pot avea ca rezultat final pierderea aseptică a protezei.

Osteoliza, resorbția osoasă și formarea unui strat fibros între implant și os reflectă o biocompatibilitate scăzută. Unele materiale pot prezenta chiar o anumită toxicitate, subacută sau clară [24].

Toxicitatea subacută se poate manifesta în mai multe feluri.

- În cazul unui stimul prelungit se observă apariția unui număr mare de celule gigant de corp străin;
- Prezența fagocitelor la o etapă ulterioară poate reprezenta un semn de respingere a implantului;
- Propagarea limfocitelor sau a plasmocitelor poate indica activarea sistemului imun împotriva implantului;
- Acumularea profuză de neutrofile este un semn al infecției;
- Vascularizarea și resorbția mușchiului sunt semne ale reacției tisulare.

Dacă materialul este clar toxic, el induce o reacție locală intensă, care poate să meargă până la necroza tisulară.

Elementele toxice cu solubilitate redusă, ce pot intra în compoziția materialului, prezintă de asemenea o importanță destul de mare. Datorită faptului că se dizolvă lent, ele pot genera simptome timp de mulți ani după aplicarea implantului. Din acest motiv, biocompatibilitatea materialelor trebuie să fie bine verificată în timp.

Examinarea histologică sau morfologică normală a unor probe recoltate de la animale, ne furnizează informații rezonabile și face parte din metodele de bază folosite pentru evaluarea biocompatibilității unui material.

La acest nivel, pot fi evidențiate următoarele aspecte:

Granulocitele polimorfonucleare, și mai târziu *monocitele/macrofagele*, migrează în țesutul lezat, unde își încep activitatea fagocitară, îndepărtând resturile tisulare, corpurile străine și agenții patogeni. Întârzierea apariției fagocitelor poate sugera probleme legate de material, în timp ce un număr mare de neutrofile indică de obicei infecția. De exemplu, în capsula de pe suprafața unui implant de NiTi au fost evidențiate și *PMN*, (polimorfonuclearele) în cea de a 2-a săptămâna și cu totul ocazional în cea de a 26-a săptămână.

Limfocitele se fac prezente în cazul unui răspuns imun sau al unei reacții de hipersensibilitate de gradul IV. Ele pot fi recunoscute ca morfologie, dar identificarea diferitelor tipuri de limfocite nu este posibilă prin mijloace convenționale. Prin urmare, nu există nici prea multe detalii referitoare la funcționalitatea lor. Numărul acestora este similar pentru toate materialele metalice implantate.

Monocitele migrează spre țesuturile periferice, unde își asumă rolul de macrofage. Macrofagele joacă un rol foarte important în reacția inflamatoare acută și probabil și în biocompatibilitatea finală. Ele pot pune în libertate mediatori chimici care, la rândul lor, pot influența activitatea limfocitelor și a fibroblaștilor, sistemul complement și angiogeneza.

Numărul macrofagelor, la un moment dat, nu prezintă variații semnificative induse de materialul testat. Macrofagele formează *celule gigante multinucleate de corp străin*. Prezența acestora este relevantă, deoarece reprezintă un răspuns inflamator specific evocat de o substanță străină. De obicei numărul lor este redus și se asociază cu prezența unor particule de debris de formă inelară. Apreciind după numărul acestora, NiTi este bine tolerat [79].

Fibroblaștii migrează la locul leziunii în primele faze ale procesului de vindecare, și se grupează în jurul implantului. Țesutul de granulație este înlocuit treptat de proliferarea fibroblaștilor și de depunerea de collagen. În situații optime, materialul bioinert formează o capsulă cicatriceală subțire, fibroasă, relativ avasculară și acelulară, la nivel de interfață. Astfel de capsule se pot observa și în cazul implanturilor de NiTi, demonstrând o acceptanță bună.

După realizarea implantului, un număr mare de factori celulari și umorali, cum ar fi: factorii chemotactici și de creștere, complementul, cytokynele, hormoni, enzime, molecule de adeziune, etc. pot fi implicați în reacții de agresiune asupra țesutului moale.

Efectele pe termen lung ale acceptanței implantului sunt rezultatul tuturor acestor variabile.

6.3.2. Reacția țesutului muscular

Implanturile musculare din Ni pur cauzează local o iritație tisulară severă și necroza. Pe altă parte, aliajele cu conținut de Ni sunt bine tolerate. Din acest motiv sunt necesare studii suplimentare pentru a clarifica aspectele referitoare la biocompatibilitatea NiTi și a rolului jucat de Ni în acest aliaj [29].

Biocompatibilitatea NiTi în mușchi este cel puțin echivalentă cu cea a aliajelor de Co-Cr și oțel inoxidabil și comparabilă cu cea a Ti [39], [82].

Primul studiu referitor la reacția tisulară față de 55-NiTi a fost publicat în 1973 [32]. Suturi confecționate din sârmă de NiTi au fost plasate subcutanat, unui lot de 45 șobolani, care au fost urmăriți timp de 9 săptămâni. Modificările tisulare au fost minime în toate punctele de control.

După 1-2 săptămâni se observă declanșarea procesului reparator.

După 5-6 săptămâni se formează un țesut fibros conjunctiv dens, relativ avascular, care a mai suferit doar mici modificări ulterioare.

Aliajul NiTi se comportă mult mai bine decât oțelul inoxidabil și nu are efecte toxice majore *in vivo*. El poate fi implantat în țesuturile profunde, fiind suficient de compatibil cu acestea .

6.3.3. Răspunsul țesuturilor moi la acțiunea NiTi

Reacția tisulară la acțiunea NiTi a fost clar non-toxică, indiferent de momentul la care a fost făcută determinarea. La nivelul microscopiei optice, nu se observă diferențe histologice cantitative între NiTi, Ti6Al4V și oțelul inoxidabil, folosit ca material de control [60], [110], [120].

În spațiul extracelular și în interiorul unor celule au putut fi observate, cel mai frecvent în porțiunile terminale ale implantelor, incluziuni de culoare neagră-albăstruie, în special în cazul implantelor de Ti6Al4V.

Indiferent de materialul testat, nu se evidențiază semne de necroză, țesut de granulație sau semne de calcifiere distrofică a țesuturilor noi.

Reacția tisulară la acțiunea implantului poate fi stadializată în câteva etape distincte: (figura 6.2) [149].

Săptămânile 2-4:

Cea mai notabilă reacție tisulară s-a observat la probele din săptămânile 2-4. În general, reacția inflamatorie a fost de intensitate medie și localizată strict în vecinătatea implantului, indiferent de tipul de material.

Celulele inflamatorii cel mai frecvent observate au fost monocitele și macrofagele. Ele au fost evidențiate foarte aproape de interfața țesut –implant. Începând din săptămâna a 4-a, macrofagele încep să dispară, după care numărul lor se menține foarte scăzut. Nu au fost sesizate diferențe notabile în funcție de tipul materialului.

În probele prelevate după 2 săptămâni au putut fi observați fibroblaști activi. Aceștia formează o capsulă distinctă între țesutul moale și materialul testat. Numărul lor crește cu timpul.

După cea de a 26-a săptămână capsula fibroasă este subțire, densă, bine definită, la limita dintre țesut și implant. Fibroblaștii au aspect plat, alungit și sunt înconjurați de fibre sinuoase de colagen. Practic, nu se observă și prezența macrofagelor sau a altor celule inflamatorii. Materialul testat nu induce diferențe semnificative.

Săptămânile 4-12:

După 4-12 săptămâni, membrana de încapsulare începe să prezinte 2 zone distincte: un strat de celule inflamatorii, format ca rezultat al unui răspuns inflamator de intensitate medie și o zonă distinctă formată din fibroblaști și fibre de colagen, ce alcătuiește o capsulă fibroasă.

Săptămâna 26

În cea de a 26-a săptămână se poate observa doar un strat fibros, fără macrofage sau alte celule inflamatorii.

Între stratul capsular și țesutul muscular au fost evidențiate capilare de neoformație. Ele au fost mai proeminente în cazul implantării priosteale decât în cea intramusculară, fapt care se poate datora și procedeele chirurgicale diferite. Numărul acestor capilare scade în timp. În cea de a 26-a săptămână, capsula este avasculară, indiferent de materialul folosit.

Celule gigante de corp străin au fost observate indiferent de moment. Lângă interfața țesut-metal pot fi observate, indiferent de moment și de material, particule nemetalice mici ($< 50 \mu\text{m}$), de formă inelară, ușor polarizată.

În probele recoltate în săptămâna 26 au fost observate câteva mastocite și eozinofile izolate.

Pentru nici unul dintre materiale nu s-au putut evidenția acumulări limfocitare, care ar fi putut constitui un semn al activării sistemului imun sub influența materialului.

Intervalele la care a fost efectuată microscopia optică au fost alese în funcție de stadializarea și etapizarea răspunsului gazdei la acțiunea implantului, reprezentată schematic în figura 6.1 [18].

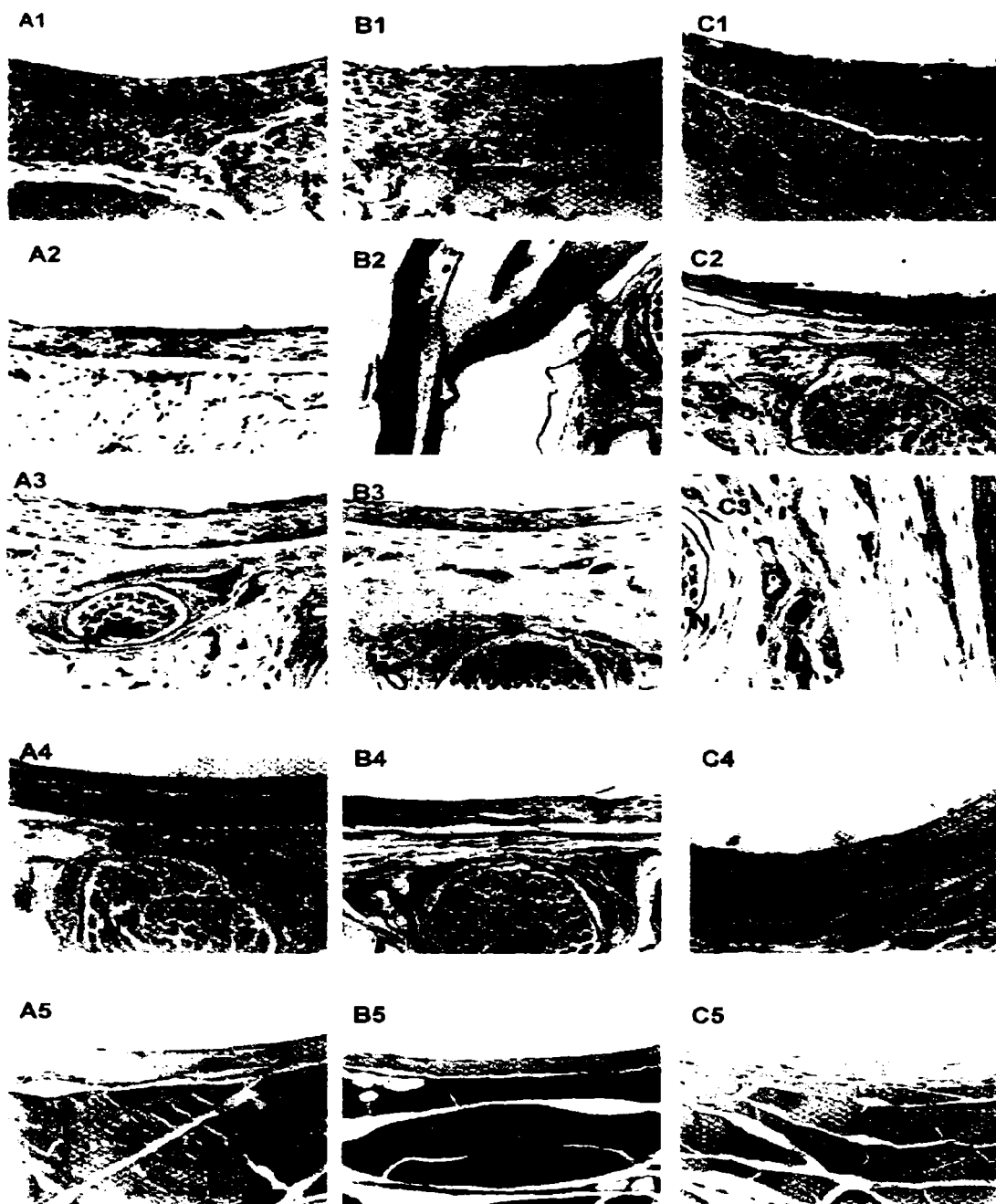


Fig.6.2. Evoluția răspunsului tisular din jurul materialelor implantate. A = Nitinol, B = oțel inoxidabil C = Ti6Al4V. 1 = 2 săptămâni, 2 = 4 săptămâni, 3 = 8 săptămâni, 4 = 12 săptămâni 5 = 26 săptămâni. N = nerv.

6.3.4 Răspunsul perineural la acțiunea NiTi

Inervația senzitivă a osului

Între os și sistemul nervos există relații importante. Bazele anatomice ale osteopercepției reprezintă o zonă de interes relativ nouă. Fibrele senzitive au un rol regulator în angiogeneză și/sau remodelarea osoasă [108].

Se știe că denervarea experimentală anterioară fracturării influențează turnoverul osos și că neuropeptidul CGRP influențează resorbția osoasă osteoclastică. În acest context se poate confirma faptul că concentrația celulară a GCRP crește în asocieri cu osteointegrarea. Celulele măduvei osoase care din punct de vedere morfologic semănau cu osteoclastele sau macrofagele au fost GCRP pozitive într-o densitate mai mare în cazul specimenelor osteointegrate. Având în vedere originea lor comună, e rezonabil să se presupună că atât osteoclastele cât și mononuclearele să producă GCRP. Din moment ce relația funcțională dintre neuropeptide și remodelarea osoasă nu este complet clarificată, pare a fi justificată elaborarea unui model experimental care să stabilească relația dintre leziunea osoasă, neuropeptide, durere și remodelarea osoasă.

Inervația osului a fost raportată încă din 1945, dar a fost studiată în detaliu doar începând din 1980, atunci când au devenit disponibile tehnicile histochemice.

Prin intermediul lor a fost evidențiată existența unor fibre nervoase scheletale, imunopozitive pentru substanța P, CGRP, neuropeptidul Y, proteina intestinală vasoactivă (Vasoactive Intestinal Protein VIP), tyrosine hydroxylaza și met-enkefalina.

Aceste fibre își au originea atât în ganglionii rădăcinilor dorsale ale sistemului nervos senzitiv, cât și în ganglionii simpatici ai sistemului nervos autonom, prin urmare și funcțiile pe care le îndeplinesc sunt multiple.

Pornind de la relațiile structurale și biochimice dintre fibre și țesutul adiacent, s-a ajuns la concluzia că durerea și propriocepția sunt mediate de un subgrup al acestor fibre, în timp ce altele sunt probabil implicate în reglarea eferentă a circulației și/sau a funcției osteoclastelor.

Rezultatele experimentale sprijină aceste ipoteze, demonstrând o creștere activă a unor fibre nervoase mici, PGP pozitive în osul remodelat adiacent dispozitivelor de fixare.

Inervația intramedulară a femurului de șobolan este realizată de fibrele senzitive cu origine în ganglionii dorsali situați la nivelul L2 – L5.

Osteopercepția este un fenomen senzitiv mediat în parte prin dezvoltarea unui număr crescut de fibre nervoase GCRP/PGP pozitive adiacente zonei de osteointegrare.

Unele aplicații ale NiTi sunt concepute cu scopul de fi folosite în contact direct cu sistemul nervos central sau periferic. Materialele de osteosinteză folosite în chirurgia craniană nu trebuie să producă efecte nocive asupra țesuturilor cerebrale.

Pentru a studia efectele implantelor, plasarea acestora se face foarte aproape de țesutul nervos central sau periferic luat în studiu.

În cazul NiTi nu au fost observate semne de necroză, inflamație prelungită sau iritație. Nu au fost observate nici semne ale acumulării de celule specifice, celule cu incluziuni fagocitate, particule străine sau răspuns tisular anormal, indiferent de materialele testate.

De asemenea nu s-a observat nici edemul, hiperplazia sau reacția inflamatorie glială sau neuronală.

Au putut fi observate doar câteva celule gigante, PMN, plasmocite și mastocite, în porțiunea cuprinsă între nerv și membrana de încapsulare [131], [138].

În etapa finală a studiului, răspunsul neural și perineural a fost aproape absent atât în cazul NiTi cât și al celorlalte materiale folosite în test.

În concluzie, răspunsul neural și perineural a fost clar non-toxic și non-iritativ în cazul NiTi, după cea de a 26-a săptămână.

6.3.5 Răspunsul osului la acțiunea implantului

Răspunsul osului la acțiunea implantului diferă față de cel al țesuturilor moi. În primul caz are loc o reacție inflamatorie, iar în cel de al doilea, un răspuns reparatoriu, care debutează după 3-4 zile de la data realizării implantului [70].

Celulele stem din oase se transformă în osteoblaști și împreună cu fibroblaștii formează un strat subțire în jurul implantului. Diferențierea lor este influențată de modificări ale mediului local, cum ar fi aciditatea, conținutul de oxigen, sarcina electrică, concentrația ionică, enzimele, factorii de creștere, etc.

Fibroblaștii, osteoblaștii și capilarele penetrează cheagul sanguin, înlocuindu-l și umplând spațiul dintre implant și os.

După formarea unei matrice extracelulare (ECM), bogate în colagen, urmează mineralizarea. În mod normal în ECM există vezicule și unele dintre ele includ focare de calcifiere.

Dacă materialul este biocompatibil, se observă chiar din primele etape prezența din abundență a veziculelor cu biomaterial, ECM, a osteoblastelor, precum și aderența și proliferarea acestor celule. Aderența celulelor stem osteogenice de substrat și formarea ECM mineralizate sunt esențiale pentru diferențierea osteoblastelor.

Atunci când membrana veziculelor se sparge, cristalele de hidroxiapatită eliberate se unesc și formează structuri de calcifiere. Primele trabecule cresc, continuă să se mineralizeze și unele dintre ele ating suprafața implantului, formând os de contact. În situația optimă, materialul se acoperă de țesut osos, nu de o capsulă fibroasă. Vindecarea decurge similar cu cea a unei fracturi obișnuite. Remodelarea țesutului osos începe după 2 săptămâni și continuă pe tot parcursul vieții. Osul reticulat este înlocuit de os lamelar orientat funcțional.

Reacția osului la acțiunea Ti

Osteointegrarea a fost definită pentru prima oară ca un contact direct os-metal, la nivelul microscopiei optice (0,5 μm) [1].

Această definiție a osteointegrării s-a bazat pe observația că Titanul poate forma direct os de contact.

În situația optimă, osul acceptă implantul ca fiind o parte din ECM proprie, realizându-se astfel o fixare rigidă, asimptomatică din punct de vedere clinic, pe parcursul încărcării funcționale. Acest tip de fixare este posibilă în cazul implantelor de titan.

Alte metale formează de obicei un țesut fibros între os și implant, motiv pentru care sunt numite „aproape inerte”.

Datorită biocompatibilității și rezistenței lor mecanice, metalele sunt preferate în cazul implantelor supuse la sarcini mari. Cu toate că în cazul sticlelor bioactive se observă chiar și legături chimice, (stabilirea prin procese fizico-chimice a unei continuități între implant și os), proprietățile lor mecanice sunt inferioare biomaterialelor metalice.

Reacția osului la acțiunea NiTi

Studii histologice și de microadeziune

Primele studii efectuate asupra acestui aliaj au fost efectuate în 1976 [19]. Au fost folosite plăci de NiTi implantate în femurul a 12 câini, iar ca material de control a fost folosit aliajul comercial de Co-Cr [166].

După o expunere de 3, 6, 12, respectiv 17 luni, plăcuțele au fost îndepărtate și examinate. Pe suprafețele lor nu au fost evidențiate semne vizibile de coroziune localizată sau generalizată. Nu au fost observate nici semne de reacții tisulare adverse. Probele histologice decalcificate nu au prezentat semne de resorbție osoasă. Nu au fost identificate nici semne ale contaminării osoase cu Ni. Urmele de Ni și Cr observate au fost atribuite contaminării cu instrumentarul chirurgical.

Utilizarea NiTi poros dă posibilitatea creșterii osului în porii implantului, ceea ce duce la o mai bună fixare a acestuia [136].

Implantele poroase de NiTi demonstrează o tendință de încadrare mai bună decât HA, observabilă chiar după 6-12 săptămâni.

Studiile comparative între implantate de NiTi (cu o dimensiune medie a porilor de 300μm; 50% volum mediu al golurilor) și hidroxiapatită, ca material de control, au demonstrat că, din punct de vedere histologic și al microadeziunii, osul care a intrat în contact cu implantul prezintă aceleași proprietăți ca osul înconjurător.

În concluzie, NiTi poros este un aliaj recomandabil în implantologie, deoarece osul are un răspuns bun la acțiunea sa.

Metode imunohistochimice

Biocompatibilitatea NiTi poate fi evaluată folosind metode imunohistochimice, urmărind distribuția proteinelor osoase în jurul unui implant din NiTi, pe parcursul procesului de remodelare. Ca materiale de control se pot folosi șuruburi confecționate din Vitallium, Titan, oțel inoxidabil duplex austenitic (SAF) și oțel inoxidabil 316L. Acestea au fost implantate în tibii de iepuri, timp de 3 (n=2), 6 (n=2) și 12 (n=2) săptămâni. Prepararea probelor se face în rășină dură și pentru procedeele histochimice sunt folosite secțiuni de os nedecalcificat cu implant ancorat.

Procesul de osteogeneză se caracterizează prin lipsa unui contact strâns între implant și os, o migrație dezorganizată a osteoblaștilor în jurul implantului și o activitate mai scăzută a sintezei de osteonectină. După 2 săptămâni, pe suprafața implantului se formează o capsulă de țesut conjunctiv moale. Macrofagele nu aderă pe nici unul dintre materialele implantate. Ambele materiale prezintă un contact bun cu țesutul dur înconjurător și procentajul de înglobare crește cu timpul.

S-au folosit anticorpi anti-osteonectină și anti-colagen tip III. Determinarea osteonectinei a fost necesară, deoarece ea joacă un rol important în remodelarea osoasă.

Reacția osului la implantate transcorticale de NiTi se poate determina cantitativ folosind un sistem de prelucrare a imaginii. Ca materiale de control s-au folosit Ti pur, Ti oxidat anodic, (AO-Ti), Ti6Al4V și Ni pur. Animalele (șobolanii) au fost sacrificate la 7, 14, 28, 84 și 168 zile după intervenție. În principiu, reacția tisulară a fost aceeași pentru implantate de NiTi, Ti, Ti6Al4V și AO-Ti.

În timp ce NiTi și celelalte materiale au fost încapsulate progresiv în țesutul osos, Ni a fost încapsulat în țesut conjunctiv și nu a prezentat contact cu osul după cea de a 168 zi de experiment.

Implantele de NiTi au prezentat o arie de contact mai redusă decât orice alt implant din Ti sau aliaje ale acestuia. În ceea ce privește grosimea osului de contact, nu au existat diferențe semnificative între NiTi și celelalte materiale incluse în studiu. (Ti, AO-Ti și Ti6Al4V).

Se poate trage concluzia că NiTi nu are multe efecte adverse în cazul uzului uman, datele existente pledând în favoarea utilizării lui pentru o arie tot mai largă de aplicații medicale.

6.4. Integrarea tisulară a titanului și Nitinolului

Biomaterialele metalice din Ti sunt considerate aproape inerte. Ele sunt superioare altor materiale datorită biocompatibilității și rezistenței mecanice mai bune.

O trăsătură caracteristică a Ti este capacitatea de osteointegrare. Calitatea contactului cu osul se datorează capacității titanului de a forma un strat bogat în Ca-P pe suprafața lui. După o perioadă de aproximativ 3-4 ani, plăcile de osteosinteză confecționate din titan sunt înglobate de țesutul osos nou format, extragerea acestora fiind deosebit de dificilă.

În general este acceptat faptul că Ti pur nu induce reacții toxice sau inflamatorii locale, fiind foarte bine tolerat de către țesuturi.

Titanul este bacteriostatic, împiedicând colonizarea suprafeței lui cu floră bacteriană. Spre deosebire de alte metale folosite la realizarea implantelor, sau care apar în aliaje sub formă de urme, Ti nu intră în compoziția enzimelor umane. Prin urmare, el nu are o acțiune semnificativă asupra diferitelor sisteme enzimatice specifice, de exemplu β -glucuronidaza, lactat dehidrogenaza, glucozo-6-fosfat dehidrogenaza și fosfataza acidă.

Biocompatibilitatea bună și rezistența la coroziune se datorează capacității Ti de a forma în mod natural un film subțire, dar stabil de oxid de Ti (TiO_2), rezultat în mod spontan după expunere la oxigenul atmosferic. Particulele de titan provenite din acest strat stabil nu sunt ioni de Ti, ci de cele mai multe ori oxizi sau suboxizi bioinerti ai acestuia.

Datorită oxidabilității ridicate a titanului, stratul de pasivare se formează imediat după abraziune. Acest comportament protejează aliajul și previne formarea altor compuși chimici.

O creștere mai intensă a grosimii acestui strat se produce la implantele introduse în mediul biologic. Celulele inflamatorii, în special macrofagele, contribuie la dezvoltarea stratului de oxid prin intermediul enzimelor proteolitice, citokinelor, peroxizilor și superoxizilor de hidrogen.

Un material implantat este considerat de macrofagele care aderă la suprafața lui drept corp străin. Prin urmare, ele generează specii active de oxigen. Dintre acestea, cea mai activă este O_2^- , ce inițiază și propagă reacții în lanț, cu mecanism radicalic. Sub acțiunea catalitică a superoxid dismutazei, O_2^- este transformat în H_2O_2 , care are o durată de viață mult mai mare și este mai activ atât asupra membranei celulare, cât și asupra implantului, accelerând coroziunea metalului.

Se presupune că interfața dintre implantul de Ti și țesutul viu constă dintr-o matrice de peroxid de Ti hidratat. Formarea unei astfel de matrice este unică pentru Ti, datorită faptului că celelalte metale tranziționale fie au o solubilitate prea scăzută, fie formează complexe peroxidice cu o stabilitate redusă.

Particulele de titan pur au demonstrat că pot avea unele efecte asupra celulelor. În concentrații mici, ele stimulează formarea fibroblaștilor. În concentrații mari au efect citotoxic, producând o scădere a activității proteolitice și colagenolitice.

Chiar dacă în jurul implanturilor de titan se poate observa uneori decolorarea țesutului, se pare ca aceasta nu are nici o importanță clinică. Experiențele pe animale de laborator și unele analize limitate efectuate pe țesut uman au evidențiat prezența titanului și în țesuturile situate la distanță.

6.5 Răspunsul sistemic

Citotoxicitatea Ni și a Ti

În cazul reacțiilor sistemice la acțiunea implantelor din NiTi, cel mai important aspect constă în urmărirea concentrației Ni și variația acesteia în timp, în sânge, urină, și la nivelul unor organe care ar putea prezenta o eventuală sensibilitate la acțiunea metalelor grele. [157]

La om, concentrația tisulară normală a Ti este de 0,2 ppm. În jurul implantului, concentrația locală a acestuia poate să depășească 2000 ppm. Cu toate acestea, nu s-au observat semne de toxicitate clinică [162], [164].

Majoritatea aliajelor eliberează compuși metalici în cantitate mică (particule de uzură). Particulele provenite din implanturile de Ti constau în cea mai mare parte din oxizi sau suboxizi insolubili, proveniți din stratul de pasivare al implantului.

Efectele elementelor metalice nu depind în mod semnificativ de tipul de celulă, ceea ce indică un mecanism comun de afectare celulară [128].

In vitro, ionii de Ti⁴⁺ inhibă activitatea osteoclastelor și reduce sinteza proteinelor.

La om, titanul induce sinteza de IL-6, prin urmare activează osteoclastogeneza. În plus, au fost raportate și unele cazuri izolate de dermatite de contact.

Concentrația sanguină a Ni conținut în aliaj se dublează la 6-9 ore după introducerea implantului (28 ± 11 vs. 13 ± 5 ppm). După alte patru săptămâni, concentrația Ni a crescut de 4 ori la nivel renal (140 ± 43 ppm), de 2 ori la nivel hepatic (40 ± 18 ppm), și de 10 ori în urină. Eluția Ni din aliajul de NiTi ar trebui limitată prin utilizarea unor metode de acoperire [164].

Compatibilitatea sanguină

Principalele proteine ce se găsesc în plasma sanguină sunt albuminele, globulinele și fibrinogenul [168].

Tipul de proteine care intră în compoziția primului strat absorbit pe suprafața implantului, sau raportul proteinelor absorbite (fibrinogen/albumină) influențează în mod semnificativ interacțiunea elementelor sangvine cu suprafața implantului și determină tendința spre tromboză.

Astfel, fibrinogenul stimulează agregarea sau activarea trombocitelor, în timp ce albumina o previne. Datorită faptului că fibrinogenul absorbit pe suprafață poate activa trombocitele prin intermediul proteinelor denaturate, structura suprafeței substratului poate juca un rol crucial în integritatea proteinelor.

Stratul amorf de TiO₂ de suprafață poate reduce descompunerea fibrinogenului, datorită structurii diferite de cea a oxizilor cristalini. Prezența unor limite ale granulațiilor în oxidul cristalin are drept rezultat apariția unor modificări ale structurii electronice locale.

Atunci când fibrinogenul este absorbit pe o suprafață de oxid cristalin, electronii săi pot fi transferați structurii cristaline, ceea ce duce la descompunerea fibrinogenului și la activarea trombocitelor. Acest exemplu ilustrează unul dintre avantajele suprafețelor amorfe în ceea ce privește biocompatibilitatea sangvină.

Tromboza trombocitară poate fi un factor decisiv în ceea ce privește succesul sau respingerea implantelor de Nitinol. Suprafețele de NiTi lustruite mecanic și electrochimic activează în mod semnificativ trombocitele, având prin urmare tendința de a induce tromboza. Tratamentul termic în intervalul 400-600°C are un efect contrar. Este important de menționat faptul că același tratament termic care îmbunătățește răspunsul trombocitelor are ca urmare reducerea rezistenței la coroziune a Nitinolului.

Activarea trombocitelor depinde în cea mai mare măsură de starea și de compoziția chimică a suprafeței Nitinolului și este mai puțin influențată de topografia suprafeței.

Depozitul de trombocite și cantitatea de fibrinogen depusă după 15 min de perfuzie au fost semnificativ mai reduse în cazul Nitinolului. Cantitatea de albumine sangvine de la locul implantului scade după 30 min de la implantarea Nitinolului. Spre deosebire de alte aliaje folosite pentru implanturi, chimismul suprafeței Nitinolului modifică modelul absorbției proteinelor.

Albumina este o proteină care leagă puternic Nichelul. Datorită afinității acesteia față de Ni este firesc să se presupună că primul strat proteic care aderă pe suprafața Nitinolului (care conține în cea mai mare parte oxizi de Ti și o mică cantitate de Ni) va conține mai multă albumină decât în cazul suprafețelor care nu conțin deloc Ni.

6.6 Eliberarea Ni și răspunsul celular

Ni este pus în libertate din NiTi, oțel inoxidabil și alte aliaje ce conțin Ni, atât *in vivo* și *in vitro*.

In vitro, pe parcursul primelor zile de imersie cantitatea de Ni eliberată din Nitinol este mai mare decât cea provenită din oțelurile inoxidabile. După câteva zile concentrațiile devin similare pentru ca apoi să scadă până la niveluri nedetectabile.

In vivo, problemele care se ridică se referă la cantitatea de Ni eliberată pe parcursul primelor zile de expunere la acțiunea implantului, cum sunt afectate celulele și cât de diferit este răspunsul la Ni în cazul celulelor umane, în comparație cu cele animale.

Nichelul este cunoscut pentru toxicitatea lui și pentru numărul mare de pacienți alergici la acest metal. Cu toate acestea, el constituie un element esențial pentru organismul uman.

Ni reprezintă unul dintre componentele structurale ale metaloproteinelor. Aportul alimentar zilnic de Ni este de 160-600 mg. Este eliminat în cea mai mare parte prin materiile fecale, urină și transpirație.

El poate să pătrundă în celule prin două căi:

- *Ionii de Ni²⁺* pătrund în celulă utilizând receptorii pentru cationii bivalenți sau prin canalele Mg²⁺, situați în membrana celulară;
- *Particulele cristaline conținând Ni* sunt fagocitate de celule;
- Fagocitoza compușilor ce conțin Ni este amplificată de natura lor cristalină, solubilitatea redusă, dimensiunea particulelor (2-4 μm). Ni₃S₂ și NiO, compuși cu o solubilitate redusă, depind în bună măsură de aceste căi.

La nivel intracelular, pentru Ni exista două căi de metabolizare:

- *Ionii solubili*, cum ar fi cei de Ni²⁺ care pătrund în celulă prin intermediul receptorilor sau al canalelor ionice, se leagă de proteinele citoplasmice și nu se acumulează în nucleu într-o concentrație suficient de mare pentru a produce modificări genetice. Ei sunt rapid eliminați din organism.

Particulele insolubile de Ni din veziculele fagocitare fuzionează cu lizozomii. Acest proces este urmat de o scădere a pH intravezicular, ceea ce duce la eliberarea ionilor de Ni²⁺ din complexe formate cu moleculele transportoare. Prin urmare se formează radicali de oxigen liberi, implicați în afectarea ADN și posibilitatea de malignizare.

Nichelul este dăunător în culturile celulare, dar într-o măsură mai mică decât Co sau V [128].

Ionii de Ni²⁺ stimulează proliferarea osteoblastelor de origine medulară (dar inhibă maturarea lor), activitatea FAL (fosfataza alcalină leucocitară) și întârzie mineralizarea.

Clorura de Ni scade atât proliferarea condrocitelor, cât și a fibroblaștilor. În plus, Ni inhibă activitatea unor enzime importante pentru protecția țesuturilor împotriva agenților oxidanți.

6.7. Efectele suprafețelor implantelor asupra proliferații celulare

Efectul suprafeței asupra proliferații celulare poate fi evaluat folosind mai multe tipuri de probe, sub formă de aliaje poroase sau dense.

Rata de proliferare a limfocitelor expuse la Nitinol solid coincide cu rata de proliferare din mediile biologice care conțin extract de Nitinol și este similară statistic cu cea a celulelor expuse la Ti pur. Aceasta înseamnă că suprafața aliajelor dense de Nitinol nu afectează proliferarea limfocitelor din sângele periferic uman.

Probele de Nitinol poros reduc în mod semnificativ rata proliferații celulare (30%) comparativ cu probele dense și proba de control.

Suprafața rugoasă nu inhibă prin ea însăși proliferarea celulară. Din contră, se pare că celulele se dezvoltă puțin mai bine în prezența unor suprafețe poroase decât în cazul mediilor care conțin Nitinol solubilizat. Prin urmare, rugozitatea suprafeței poate facilita fixarea de durată a implantului.

O altă trăsătură importantă este reprezentată de toleranța diferită față de Ni observată în studiile efectuate pe sânge uman provenit de la diverși donori, care nu prezentau sensibilitate față de Ni.

Faptul că Ni nu are același efect devastator asupra limfocitelor umane în comparație cu cele de șobolani poate indica un rol diferit al Ni în organismele lor, precum și nivele diferite ale sensibilității față de Ni.

Concentrațiile de Ti și Ni în mediu au fost determinate după 72 de ore de expunere. Cantitatea de Ti eliberat din Nitinol este cu un ordin de mărime mai mică decât cea de Ni și este la nivelul de sensibilitate al metodei ($\pm 0,05 \mu\text{g/l}$).

Cantitatea de Ni eliberat din Nitinol este proporțională cu concentrația de suprafață a Ni. Nu s-a observat nici o corelație între compoziția chimică a Ni de la suprafață și efectele biologice induse.

Este important de studiat modul în care eliberarea Ni *in vitro* poate fi modificată prin tratamentul de suprafață al Nitinolului.

Nitinolul autoclavat în apă sau aburi (concentrația de suprafață a Ni cuprinsă între 0%-2%) nu suprimă proliferarea limfocitelor la șobolani, mai curând produce ușoara lor acumulare (20% în comparație cu controlul) [74], [105], [145].

Nitinolul tratat cu 30% peroxid de hidrogen (concentrația de suprafață a Ni 27%) afectează celulele aproape în același fel ca și Ni pur, suprimând complet proliferarea lor. Trebuie subliniat faptul că expunerea limfocitelor de șobolan la Nitinol poros suprimă aproape complet proliferarea celulară.

Fierberea/autoclavarea în apă reduce de 2 ori eliberarea de Ni, comparativ cu probele care au fost doar cufundate în HF/HNO₃. Cantitatea de Ni eliberat din probele autoclavate în apă este de 10 000 de ori mai redusă decât cea eliberată de Ni pur.

Concentrația de $1,3 \times 10^2 \mu\text{g/l}$ indusă de probele autoclavate nu are nici un efect toxic sau mutagen asupra limfocitelor umane sau de șobolan.

Concentrația de $4,7 \times 10^3 \mu\text{g/l}$ de Ni indusă de Nitinolul tratat în peroxid de hidrogen afectează în mod semnificativ rata proliferării celulelor de șobolan.

Concentrația de $1,3 \times 10^6 \mu\text{g/l}$ de Ni indusă de Ni pur are drept urmare moartea limfocitelor de șobolan și afectarea comportamentului limfocitelor umane.

Un răspuns celular normal la acțiunea Nitinolului (o ușoară stimulare a limfocitelor și a celulelor musculare netede) se observă pentru o concentrație a Ni cuprinsă între 400-900 $\mu\text{g/l}$.

Concentrațiile de Ni care ar putea rezulta în urma expunerii la acțiunea unui implant de Nitinol prelucrat chimic și autoclavat sunt cuprinse între 1-100 $\mu\text{g/l}$, deci nu ar depăși nivelul natural al Ni în plasma sanguină.

Afectarea comportamentului celular și suprimarea proliferării celulare apare pentru concentrații ale Ni cuprinse în intervalul 4×10^3 - $9 \times 10^3 \mu\text{g/l}$.

O concentrație a Ni de $5 \times 10^3 \mu\text{g/l}$ este toxică pentru limfocitele umane. Subiecții sensibili la Ni reacționează la concentrații ale Ni cuprinse între 3×10^3 - $78 \times 10^3 \mu\text{g/l}$. Ultima concentrație are același ordin de mărime cu concentrația Ni necesară pentru a afecta comportamentul celulelor de șobolan.

Suprimarea completă a proliferării celulare are loc atunci când concentrația Ni depășește $1,5 \times 10^5 \mu\text{g/l}$.

Aceste rezultate demonstrează că Ni rezultat atât în urma coroziunii Nitinolului cât și a oțelului inoxidabil poate afecta în mod dramatic proliferarea celulelor umane și animale și că efectul toxic este mai marcat în cazul oțelului inoxidabil decât în cel al Nitinolului (cel puțin pentru unele celule).

Cu toate acestea, pentru un interval destul de larg al concentrațiilor de Ni, proliferarea celulară nu este afectată, *in vitro*, nici în cazul celulelor umane, nici în cazul celor animale.

6.8. Modificări celulare pe suprafața implantului

Aderența la material este mediată prin intermediul proteinelor preadsorbite, care intră în contact local direct cu membrana celulară. O anumită secvență de aminoacizi din aceste proteine se leagă de integrinele membranei celulare, care la rândul lor sunt legate de cytoskelet.

Adeziunea celulară este indispensabilă celorlalte funcții celulare, cum ar fi: diseminarea, proliferarea, migrarea și activitățile de biosinteză. Acesta este cel mai important aspect al interacțiunilor celulei cu un biomaterial non-toxic.

Celulele fibroblast-like formează o legătură strânsă cu NiTi, demonstrând o bună adeziune. Primul strat organic de pe suprafața metalului, cu o structură afibrilată sinuoasă, este alcătuit din proteoglicani și alte componente similare matricei extracelulare. Compoziția exactă a acestui strat și potențialul său în ceea ce privește biocompatibilitatea necesită aprofundarea studiilor.

În interiorul și deasupra acestui strat se pot observa cheaguri de adeziune mai mari, cu gap-uri mai mici de 30 nm, care sunt considerate centre focale de adeziune prin contact direct [149].

În culturile de osteoblaste, celulele sunt mai puțin apropiate de suprafața metalului, în special față de oțelul inoxidabil (figura 6.3).

Materialul citotoxic de control inhibă în mod sensibil atașarea celulelor.

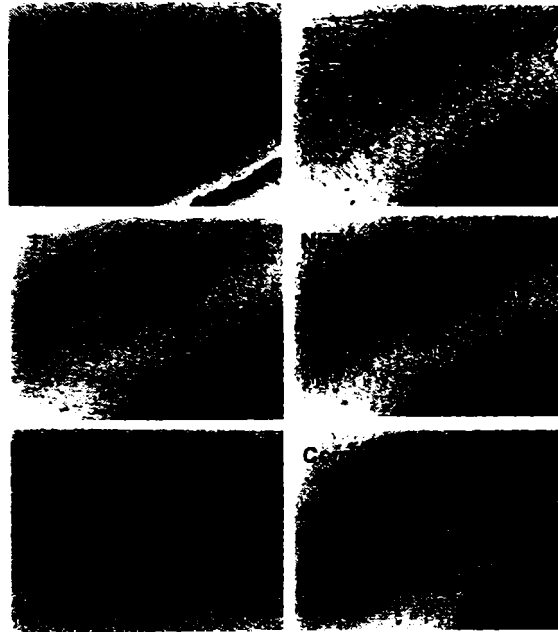


Fig. 6.3 Creșterea osteoblastelor în vecinătatea discurilor de test, după o săptămână de incubație.

Wsp = parafină albă moale, stst = oțel inoxidabil, Ti = titan, NiTi, (magn. 108x).

În cazul fibroblaștilor, culturile celulare au evidențiat că celulele au crescut foarte aproape de suprafața Ti sau a NiTi (figura 6.4 și 6.5).

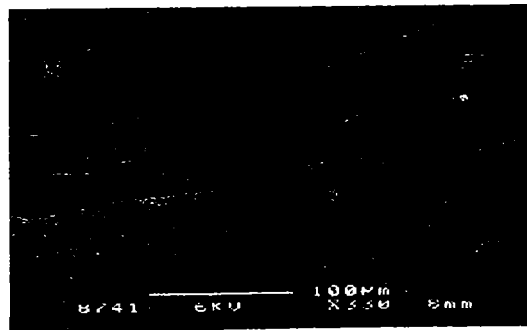


Fig. 6.4. O imagine SEM a unei probe incluse în rășină dură, conținând un implant de oțel inoxidabil, după 26 de la intervenție
M= implantul metalic, FC= capsulă fibroasă cu fibre de collagen și fibroblaști.
MT= țesut muscular. (magn. 330x)

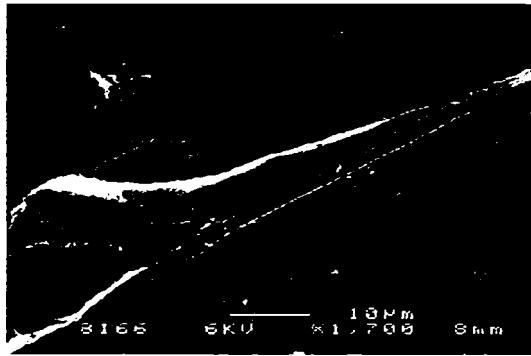


Fig. 6.5. Atașarea fibroblaștilor (FB) la suprafața metalului (M) Ti6Al4V la 4 săptămâni după implantare. (Microscopie electronică, magn. 1700x).

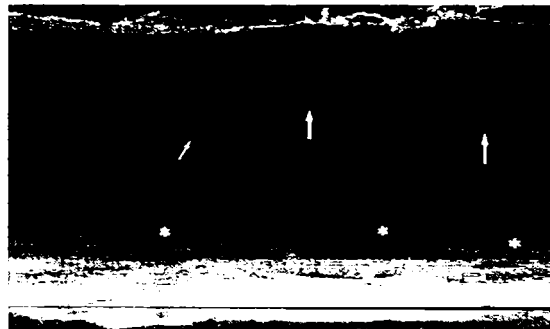


Fig. 6.6 Interfața celulă-metal în cazul NiTi la 4 săptămâni după implantare

Pe suprafața celulelor pot fi observate prelungiri podocitare și structuri membranare, indicate prin săgeți. Asterisc-urile indică prezența contactelor focale pe suprafața metalului. (magn. 5000x) (figura 6.6).

În figura 6.7 se poate observa un contact strâns între capsula fibroasă, celulele izolate și metal (NiTi, oțel inoxidabil, Ti6Al4V), *in vivo*.

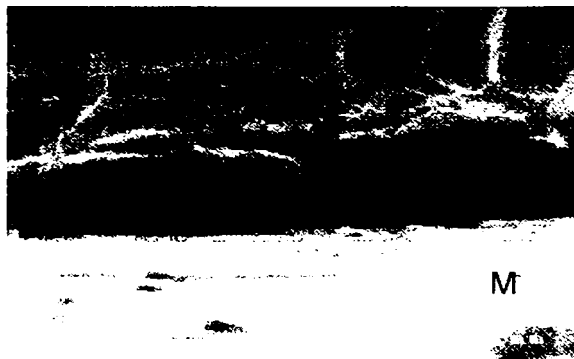


Fig. 6.7 O zonă de contact focal cu structuri membranare celulare rupte NiTi, 4 săptămâni după implantare. (magn. 50 000x)

Pe suprafața metalului e prezentă o interfață subțire, cu aspect similar laminei bazale, alcătuită dintr-un strat afibrilar de material organic amorf, cu o textură sinuoasă. În general grosimea ei este mai mare în cazul implantelor de Ti6Al4V decât al celor de NiTi sau oțel inoxidabil.

Celulele izolate par să adere prin intermediul acestui strat la o structură de adeziune cu contact direct (gap < 30 nm), cu aspectul unui bulgăre. Acestea sunt considerate centre focale de adeziune celulară, în alcătuirea cărora intră proteine și constituenți ai membranei celulare. Suprafața celulară prezintă fibrile sau structuri membranare celulare zdrențuite.

Cunoașterea structurii și a compoziției interfeței țesut-material precum și a fenomenelor de adeziune sunt importante din mai multe motive, în special din nevoia de a modifica suprafața biomaterialelor în scopul controlului interacțiunii cu țesuturile gazdei.

Caracteristicile de substrat și suprafață ale materialelor se reflectă în tipul și structura celulelor izolate.

Numărul plăcilor de adeziune, caracteristicile morfologice ale celulelor și prelungirile lor, precum și suprafața de adeziune a unei celule izolate au fost acceptate ca elemente de evaluare a biocompatibilității.

În cazul NiTi, numărul acestora nu diferă în mod semnificativ față de materialul de control. Prin urmare, în baza criteriilor stabilite anterior, el pare a fi bine tolerat.

Grosimea membranei de încapsulare

În situații optime, materialul bioinert formează la interfață o capsulă fibroasă subțire, relativ avasculară și acelulară.

Măsurarea grosimii membranei de încapsulare este o metodă larg folosită în evaluarea biocompatibilității. Pentru determinarea acesteia se folosesc metode histomorfometrice normale.

Simpla măsurare a grosimii capsulei formate în jurul implantului este insuficientă, deoarece grosimea ei mai poate fi influențată și de alți factori în afară de calitatea materialului. Aici se includ mișcările, localizarea implantului, textura și morfologia materialului, precum și unii factori dependenți de gazdă sau de procedeul chirurgical folosit. Morfologia capsulei nu este influențată în mod semnificativ de materialul folosit. Nu apar nici acumulări de tipuri celulare speciale.

În general grosimea medie a capsulei scade cu trecerea timpului. Micile diferențe induse de material nu au o relevanță statistică.

În cazul oțelului inoxidabil, capsula prezintă o grosime maximă după 2 săptămâni de la implantare.

După 4 săptămâni, nu se mai observă diferențe clare între NiTi, Ti6Al4V și oțelul inoxidabil.

Indiferent de material, după 26 săptămâni, toate capsulele periimplant tind spre o morfologie similară și grosimi aproximativ egale, de 4-8 straturi celulare.

6.9 Metode și tehnici experimentale utilizate pentru determinarea biocompatibilității

6.9.1 Metode histomorfometrice

Histomorfometria țesutului moale

Probele se colorează folosind colorația clasică Haematoxylin-Eosin.

Fiecărei imagini i se suprapune o rețea mesh, cu scopul de a randomiza dispunerea punctelor de măsură. Suprafața ecranului corespunde pentru 2,2 mm² și dimensiunea rastrului este de 260x 260x7 μm.

Grosimea capsulei se determină ortogonal față de fiecare punct de intersecție al liniilor orizontale și verticale ale rețelei corespunzătoare limitei de demarcație dintre capsulă și implant. Grosimea capsulei a fost estimată ca o medie a valorilor obținute din 10-18 măsurători aleatorii.

Histomorfometria osoasă

Aria de măsură a fiecărei secțiuni se standardizează, corespunzând unei suprafețe de 2.2 mm². Punctul central al zonei corticale se ajustează astfel încât să corespundă mijlocului ecranului.

Se măsoară grosimea medie a corticalei. Aria osoasă se măsoară într-o regiune bine definită, excluzând spațiile trabeculare. Ariile de eroziune se măsoară după reconstruirea suprafeței osului.

Suprafața activă de eroziune (suprafața de eroziune acoperită cu osteoclaste și mononucleare) nu se determină în mod distinct, dar perimetrul suprafeței active de eroziune se măsoară ca un raport dintre perimetrul suprafeței oase erodate și totale.

6.9.2 Metode imagistice

Analiza radiologică a calusului în procesul de vindecare a osteotomiei

Se pot efectua radiografiile mediale ale femurului operat, începând cu prima săptămână după intervenție. Uniunea osteotomiei se analizează vizual. Vindecarea completă cu formarea unui calus uniform, nefisurat și fără existența unei linii vizibile de osteotomie a fost calificată drept „bună”.

Formarea unui calus marcat dar neuniform și evidențierea unei linii voalate de osteotomie se consideră un rezultat „satisfăcător”

Non-uniunea cu evidențierea unei linii clare de osteotomie și absența calusului de uniune la locul osteotomiei se evaluează drept „nesatisfăcătoare”.

Tomografia computerizată cantitativă periferică (pQCT)

Structura calusului și modificările densității mineralizării osoase pot fi determinate cu ajutorul pQT [104].

Se folosesc slice-uri cu grosimea de 1 mm. Ele investighează calusul, aria ce cuprinde dispozitivul de fixare și porțiunea vecină implantului, reprezentând femurul sănătos. Alte trei slice-uri se efectuează pe femurul sănătos.

Morfologia calusului

După aproximativ 12 săptămâni, o secțiune transversală a calusului la locul osteotomiei prezintă, în pQCT, zone distincte de mineralizare (figura 6.8).

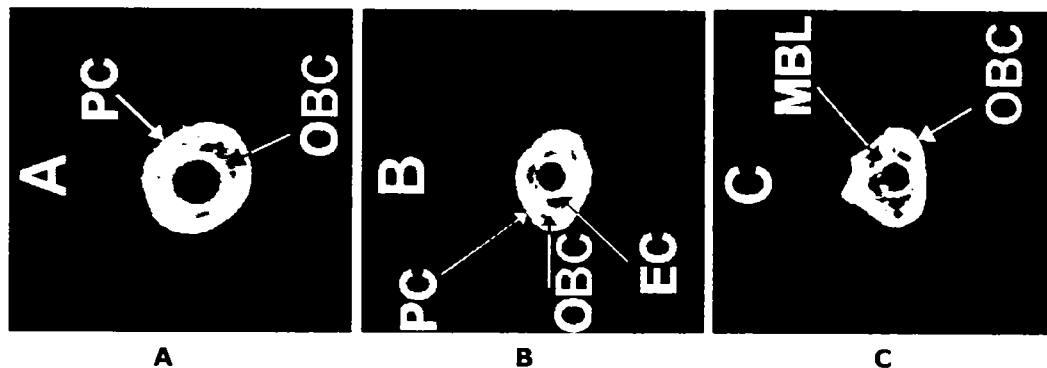


Fig. 6.8 pQCT la diferite niveluri ale femurului, după fixarea intramedulară (dispozitivul de fixare îndepărtat) . PC = calus periferic OBC = cortex original, EC = calus endosteal, MBL = stratul osos mineralizat periimplant

A) Calus proximal zonei de osteotomie. NiTi 60 săptămâni după realizarea implantului.

B) Zona de osteotomie 26 săptămâni după implantarea NiTi. Se poate observa o structură trilamelară.

C) Regiunea metafizară, distal de zona de osteotomie, 26 săptămâni după implantarea NiTi. Se observă apariția unui strat mineralizat periimplant.

În cea de a 26-a săptămână, apar zonele periferice cu densitate crescută constând din calus periosteal. Grosimea lui este aproximativ egală cu cea a corticalei originare.

Corticala osoasă originală formează stratul intermediar. Stratul interior cu densitate mai mare constă din calus endosteal, mai subțire.

În porțiunea metafizară distală, în afara zone de osteotomie, după 4 săptămâni apare un strat peri-implant de densitate mare. El devine distinct după săptămâna a 26-a.

După săptămâna 60, calusul periosteal este gros și bine mineralizat.

Densitometrie osoasă

Densitățile osoase totală (BMD) și corticală (CtBMD) nu prezintă variații majore între grupul NiTi și cel StSt.

Au fost observate variații distincte între diferitele părți ale femurului. Densitatea minerală a fost net mai redusă în regiunile de osteotomie față de porțiunile vecine acesteia.

Porțiunea proximală a femurului nu prezintă diferențe față de femurul neoperat al aceluiași subiect. CtBMD a zonei supuse osteotomiei a prezentat o creștere ușoară de la săptămâna 26 până la săptămâna 60.

6.9.3 Tehnici experimentale in vitro

Proliferarea celulară in vitro

Răspunsul fibroblaștilor și al osteoblastelor umani poate fi evaluat și *in vitro*, folosind culturi celulare într-un mediu ce simulează condițiile fiziologice. Ratele proliferării fibroblaștilor și osteoblastelor în culturile celulare se corelează între ele.

Tot *in vitro* pot fi evaluate și efectele toxice ale diferitelor metale, chiar dacă studiile pe culturi celulare nu reproduc suficient de fidel răspunsul și condițiile de mediu existente *in vivo*.

Volumele mediilor de cultură și ale celulelor utilizate sunt destul de mici în comparație cu volumul și suprafața discurilor metalice folosite în teste. Din acest motiv, efectele coroziunii asupra celulelor sunt mai mari decât *in vivo*. În plus, lipsește clearance-ul normal al fluidelor din țesuturi și culturile celulare sunt izolate de căile fiziologice de detoxifiere prezente în corp. Prin urmare, culturile celulare pot fi folosite doar ca o metodă de screening a toxicității înaintea testelor pe animale, sau ca o modalitate de observare directă a celulelor.

La concentrații mari, Ni are efecte toxice în culturi celulare și țesuturi. Principala problemă care se ridică este dacă Ni dizolvat din NiTi atinge o concentrație tisulară suficient de mare pentru a afecta proliferarea celulară și dacă solubilitatea este comparabilă cu cea a altor aliaje cu conținut de Ni, cum ar fi oțelul inoxidabil.

Pentru a determina *in vitro* citotoxicitatea NiTi ca material ortopedic, în culturi se folosesc atât celule mezenchimale (deoarece ele sunt celulele prezente la locul implantului) cât și osteoblastele [164].

Un element interesant ar consta în faptul că în prezența materialelor testate comportamentul fibroblaștilor și al osteoblastelor a fost similar.

Fibroblaștii par a fi mai sensibili decât osteoblaștii atât la efectele de inhibare a creșterii, induse de materialele compozite sau de parafina albă moale, cât și la cele de stimulare a creșterii, induse de Ti.

Proliferarea osteoblastelor nu a fost mai abundentă în cazul Ti decât în cazul NiTi, oțelului inoxidabil sau al materialului de control.

În cazul Ti s-a observat o stimulare a proliferării fibroblaștilor, care nu este întotdeauna un factor pozitiv. Ei contribuie la apariția membranei fibroase, care se poate comporta ca o conductă pentru transportul resturilor polimerice produse de suprafața articulației sau a protezei.

Celulele aderă destul de strâns la suprafața discurilor de NiTi, ceea ce constituie de asemenea semnul unei biocompatibilități bune.

O reacție net diferită se poate observa în cazul materialului compozit și al parafinei moi. Efectul toxic al parafinei albe, observat în culturile celulare, a fost chiar surprinzător.

6.10. Studiu de caz

Fractură de mandibulă în os patologic

Pacient în vârstă de 53 de ani care s-a prezentat în Clinica de Chirurgie Orală și Maxilo-Facială Timișoara cu traumatism maxilo-facial prin heteroagresiune.

Exooral s-a observat asimetria facială dată de tumefacția regiunii geniosubmandibulare drepte, în dreptul comisurii orale. Palparea a evidențiat discontinuitatea sub formă de treaptă la nivelul marginii bazilare a mandibulei și mobilitatea patologică a fragmentelor osoase mandibulare.

În regiunea premolară dreaptă, s-a observat bombarea atât a versantului vestibular cât și a celui lingual al crestei alveolare, de consistență dură, osoasă.

Radiografiile în incidențele: mandibulă ansamblu și hemimandibulă defilată dreaptă au evidențiat prezența unei radiotransparențe mandibulare în regiunea premolară dreaptă, de aspect rotund, bine delimitat, având diametrul aproape egal cu grosimea verticală a ramului orizontal mandibular (figura 6.9). Suprapusă peste această radiotransparență a fost evidentă prezența unei linii de fractură cu traiect vertical.

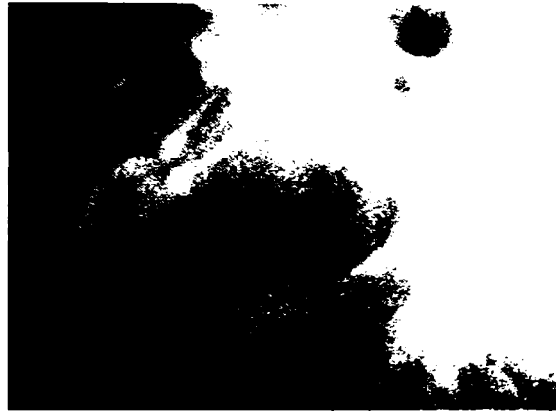


Fig. 6.9 Radiografie hemimandibulă defilată stângă preoperatorie

Pe baza examenului clinic și a investigațiilor paraclinice s-a stabilit diagnosticul de fractură ram orizontal mandibular drept în os patologic, produsă pe fondul unei tumori chistice mandibulare.

Intervenția chirurgicală a constat în enuclearea tumorii chistice mandibulare, reconstrucția defectului osos restant cu greafă osoasă autologă recoltată din creastă iliacă (figura 6.10 și 6.11) și în final reducerea și imobilizarea fracturii cu plăcuțe și șuruburi de osteosinteză (fi ura 6.12).

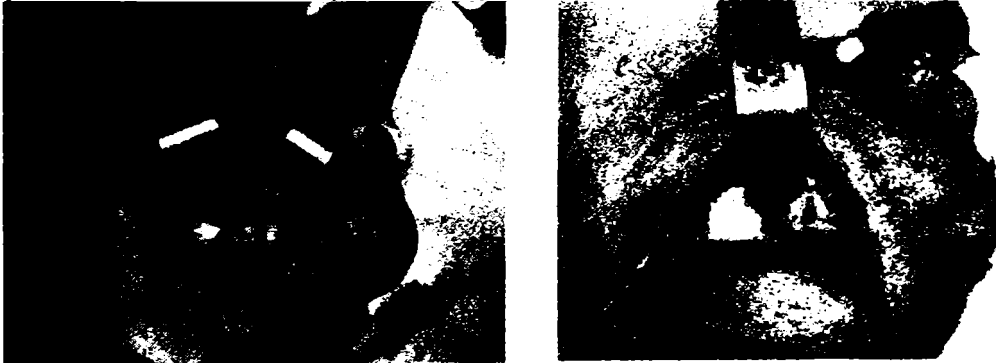


Fig. 6.10 Aspecte intraoperatorii

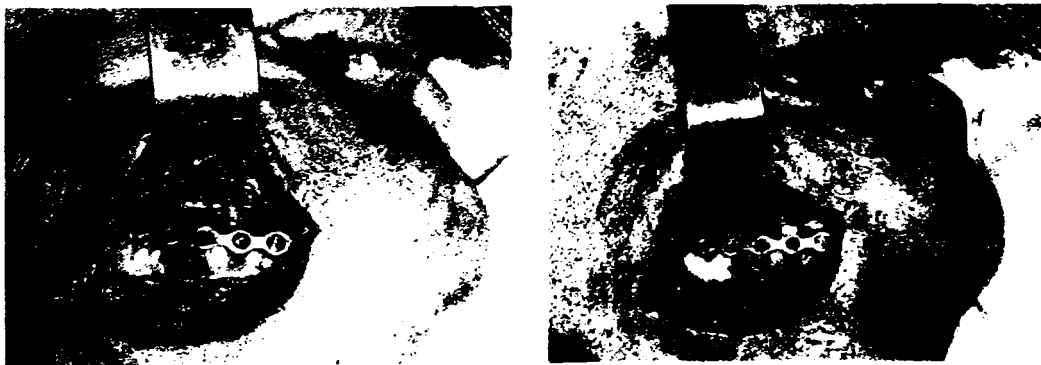


Fig. 6.11 Introducerea fragmentului osos din creasta iliacă și consolidarea lui



Fig. 6.12 Plăcuțe de osteosinteză

În figura 6.13 se prezintă aspectul postoperator pe radiografie în incidență hemimandibulă defilată dreaptă.



Fig. 6.13. Radiografie hemimandibulă defilată stângă postoperatorie

6.11. Implante Ti anodizate

În figurile 6.14 – 6.17 sunt prezentate câteva implante chirurgicale realizate în cadrul laboratorului LOPIFO, care au fost supuse procesului de anodizare, la diverse valori ale tensiunii. În toate cazurile ca electrolit a fost folosită o soluție de H_2SO_4 1M [36], [180].



Fig. 6.14 Implant Ti anodizat la 40 V

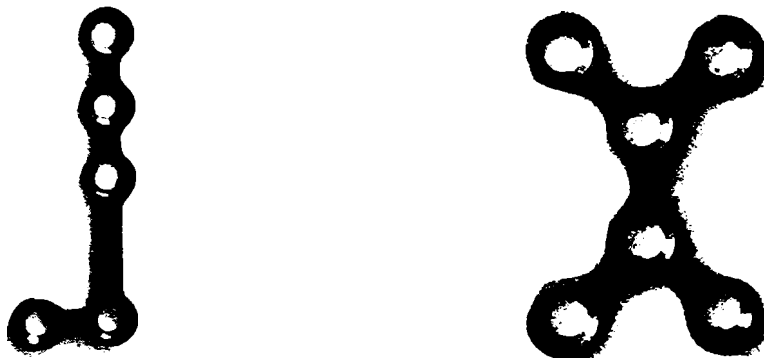


Fig. 6.15 Implant Ti anodizat la 60 V



Fig. 6.16 Implant Ti anodizat la 100 V



Fig. 6.17 Implant Ti anodizat la 120 V

Anodizarea implantelor chirurgicale le oferă o stabilitate chimică ameliorată, o integrare tisulară mai bună și un răspuns mai bun din partea pacientului. Posibilitatea de a realiza anodizări la valori diferite ale tensiunii, cărora le corespund anumite tipuri de suprafețe, permite o funcționalizare a implantelor, adaptată destinației acestora.

Pe ultimul loc, dar nu complet lipsit de importanță, ar fi faptul că realizarea unor suprafețe colorate diferit ar permite chirurgului o identificare mai ușoară și rapidă a componentelor unei truse de implante chirurgicale, fără a mai fi necesară măsurarea dimensiunilor acestora intraoperator.

Pentru rezolvarea chirurgicală a acestui caz au fost utilizate plăcuțe și șuruburi de osteosinteză provenite din trusa de implante chirurgicale realizată în laboratorul LOPIFO. Tehnica chirurgicală implică utilizarea unei autogrefe, cu un fragment osos provenit din creasta iliacă. Acesta are drept scop umplerea defectului osos și uniunea dintre cele două fragmente mandibulare. Osteosinteza nu s-ar fi putut realiza fără ajutorul plăcuței de fixare, al cărei scop este acela de a consolida mecanic regiunea până la integrarea grefei și refacerea discontinuității osoase.

6.12. Concluzii

Biocompatibilitatea implantelor este corelată cu o multitudine de reacții complexe ce depind atât de pacient cât și de compoziția chimică, respectiv calitatea suprafeței implantului.

Problemele legate de compoziția chimică a implantelor au fost parțial rezolvate prin elaborarea unor aliaje cu conținut redus de Ni. O soluție de excepție a constat în introducerea Titanului ca material de elecție pentru aplicații chirurgicale.

Proprietățile fizice și mecanice deosebite, dublate de o stabilitate chimică remarcabilă, stau la baza utilizării lui pe scară tot mai largă.

Cu toate acestea, începând cu actul chirurgical de implantare, care reprezintă în sine o traumă, prezența unui obiect strain în organism declanșează o serie de reacții locale și sistemice ale gazdei. Studiul lor amanunțit poate deschide perspective spre reducerea efectelor nefavorabile sau secundare ale implantării.

Funcționalizarea suprefețelor din Titan, prin metodele descrise mai sus, își găsește pe deplin justificarea clinică, fapt susținut prin studiul de caz prezentat în acest capitol. Chiar folosind o autogrefă de țesut osos, defectul osos major nu ar fi putut fi rezolvat fără ajutorul plăcuțelor de osteosinteză din trusa prezentată. Utilizarea acestora a permis consolidarea mecanică a zonei și menținerea unui contact direct între osul mandibular și cel al grefei. În final rezultatul a fost foarte bun, asigurând o refacere anatomică și funcțională.

CAPITOLUL VII

CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVELE CERCETĂRII

Chiar dacă de-a lungul timpului Titanul s-a dovedit un material de elecție pentru aplicațiile medicale, indiferent de natura lor, diversificarea acestora impune o funcționalizare a suprafețelor și specializarea lor în conformitate cu scopul urmărit. O suprafață neprelucrată nu mai satisface exigențele specialiștilor. La ora actuală există un număr mare de metode prin care se poate realiza acest deziderat. Dintre acestea, unele prezintă o complexitate prea mare pentru a putea fi incluse în practica curentă. Altele, mai simple, dar aproape la fel de eficiente, se pretează la o aplicare pe scară semi-industrială. Aici s-ar putea include metodele chimice și electrochimice de funcționalizare a suprafețelor, cele mai importante contribuții ale autorului axându-se pe aceste aspecte.

Contribuțiile autorului s-au materializat pe capitole astfel:

În **Capitolul I – Proprietățile și comportarea mecanică a materialelor metalice biocompatibile pe bază de Titan** s-a realizat un studiu bibliografic asupra proprietăților Titanului și ale unor aliaje ale sale (Ti6Al4V, Nitinol, Ti6Al7Nb). Au fost avute în vedere proprietățile chimice, fizice, mecanice, legate direct de biocompatibilitatea acestora. O contribuție originală a constatat în studiul comportării implantelor chirurgicale la solicitări ciclice similare celor care apar în organism, post implantare. În acest scop s-au utilizat plăcuțe provenite din trusa de implantare chirurgicale realizată în laboratorul LOPIFO. Efectele lor au fost studiate urmărind două aspecte: rezistența la rupere și viteza de coroziune. Concluzia rezultată este că solicitările ciclice nu influențează comportamentul la rupere, în schimb acționează nefavorabil asupra vitezei de coroziune. Pentru o acuratețe cât mai mare a rezultatelor, determinarea comportamentului la coroziune s-a făcut strict pe zona afectată de solicitările ciclice, izolarea acesteia de restul suprafeței implantului fiind realizată pe baza unei tehnici originale, realizate de autor, constând în acoperirea unei porțiuni cu un strat de lac pe bază de celuloză, care a fost îndepărtat ulterior.

Creșterea numărului de cicluri la care a fost solicitat implantul duce la creșterea vitezei de coroziune. Utilizarea unor metode combinate, constând în solicitări mecanice variate urmate de determinarea comportamentului la coroziune – un element important în ceea ce privește biocompatibilitatea implantelor - deschide calea spre o metodă de anticipare a comportamentului implantelor, în funcție de solicitările mecanice la care sunt supuse post implantare. Metoda poate fi extinsă și la alte tipuri de implantare, respectiv solicitările ciclice și rezultatele obținute pot fi o modalitate de control în proiectarea unor implantare noi.

Capitolul II – Interfața metal – mediu biologic tratează complexitatea fenomenelor care au loc la acest nivel. Chiar dacă grosimea acestei interfețe este extrem de redusă, de ordinul a 3-5 nm, la nivelul ei se desfășoară procese fizice și chimice deosebit de complexe. Această interfață reacționează în primă etapă cu apa din mediul înconjurător implantului, ceea ce duce la apariția unor centri activi de tip oxidic sau hidroxidic. Reactivitatea lor crescută le permite să reacționeze în continuare atât cu compușii anorganici prezenți în mediul înconjurător, cât și cu cei organici, declanșând o serie de reacții chimice în cascadă. O importanță deosebită o are interacțiunea interfeței cu proteinele. Acestea se atașează de interfața activată atât direct, cât și în urma unor modificări conformaționale ce poate atrage după sine

și modificări funcționale. Cunoașterea acestor aspecte este deosebit de importantă, deoarece tipul de proteine care se absorb pe suprafața implantului, mecanismele care guvernează această absorbție, precum și raportul dintre albumina/fibrinogenul absorbite pe suprafață determină comportamentul ulterior. Aderența celulelor, o etapă foarte importantă a integrării tisulare a implantelor, este și ea determinată de proprietățile interfeței. Prin urmare toate eforturile de optimizare a acesteia își găsesc o justificare clinică.

Chiar dacă acest capitol are un conținut preponderent teoretic, concluziile trase au stat la baza elaborării metodelor utilizate în capitolele următoare.

În Capitolul III – Coroziunea Titanului, *in vitro* și *in vivo* - după o trecere în revistă a principalelor aspecte teoretice legate de coroziune la modul general și a mecanismelor electrochimice care stau la baza acesteia, a fost studiat comportamentul Titanului în diverse medii și influența pe care mediul o are asupra vitezei de coroziune. Practic, determinările s-au efectuat cu ajutorul potențiostatului galvanostat VoltaLab 21. Metoda de lucru pentru determinarea comportamentului la coroziune a fost elaborată de autor, în procedura specifică de lucru PSL -01.

O contribuție personală a constat în observația că prezența albuminei în mediu coroziv duce la creșterea vitezei de coroziune. Prin urmare, pentru o evaluare mai corectă a comportamentului la coroziune se recomandă și introducerea unei cantități de albumină variind între 2-4 g/l atunci când se dorește simularea plasmei sau a lichidului interstițial și de 40 g/l pentru simularea lichidului sinovial.

O altă contribuție a constat în studiul comportamentului la coroziune al Titanului, comparativ cu alte metale utilizate pentru confecționarea implantelor chirurgicale. Față de aliajele studiate, Titanul a dovedit o superioritate netă. Ultimul aspect abordat în acest capitol a fost studiul influenței pe care diferite metode de prelucrare o au asupra vitezei de coroziune. Concluzia rezultată este că multe metode de prelucrare, cum ar fi debitarea cu ajutorul unei instalații laser sau de electroeroziune, sudura, laminarea, etc., pot avea o influență nefavorabilă asupra vitezei de coroziune, necesitând o pasivare ulterioară a suprafeței.

Capitolul IV – Pregătirea suprafețelor implantelor trece în revistă toate operațiile care au loc după realizarea implantelor. În primă etapă, șlefuirea suprafețelor, materialele și metodele folosite în acest scop. Etapa a doua, lustruirea, include descrierea metodelor mecanice, chimice și electrochimice de lustruire, cu accent pe ultimele două. O contribuție personală a constat în elaborarea unor rețete de lustruire chimică a suprafețelor de Titan, adaptate atât caracteristicilor suprafețelor, cât și gradului de complexitate geometrică a implantului lustruit. Prin utilizarea lustruirii chimice a implantelor din Titan, timpul necesar finisării acestora a fost redus considerabil. Dacă prin metoda clasică, de lustruire manuală, timpul mediu necesar lustruirii unui implant putea să depășească 45 minute, prin metoda chimică pot fi lustruite simultan, în 3-5 minute, 10-15 implante, în funcție de dimensiunile lor. Pe lângă o calitate superioară a suprafețelor rezultate, lustruirea chimică asigură parțial și pasivarea lor, datorită HNO_3 inclus în rețeta de lucru. Eficiența acestor metode a fost demonstrată cu ajutorul metodelor electrochimice, scoțându-se în evidență o scădere a vitezei de coroziune.

Un alt aspect important tratat în acest capitol a fost acela al funcționalizării suprafețelor din Titan prin metode electrochimice: oxidare anodică, oxidare în microarc, depunere anodică în arc. Instalația utilizată în acest scop a fost concepută și realizată de autor. Ea este destinată să funcționeze în condiții extreme, putând asigura o tensiune variabilă în intervalul 0-350 V și un curent maxim de 10 A, curent continuu. Studiul s-a realizat pentru anodizări la 40 V, 60 V, 80 V, 100 V, 120 V, 140 V, 160 V, 200 V, 250 V, 300 V. Eficiența anodizării s-a urmărit având în vedere

grosimea stratului rezultat, viteza de coroziune, rugozitatea suprafeței și aderența celulară. Concluzia rezultată în urma coroborării rezultatelor este aceea că rezultatele procesul de anodizare sunt optime pentru tensiuni situate în jurul valorii de 150 V.

Depunerea de hidroxiapatită este și ea o metodă foarte eficientă de funcționalizare a suprafețelor. Din păcate, solubilitatea sărurilor de Ca utilizate pentru acest proces este un impediment major în realizarea unor concentrații mai mari de hidroxiapatită pe suprafața implantelor din Titan. Contribuția personală a constat într-o pregătire prealabilă a suprafeței, care să ducă la o fixare a calciului pe suprafață prealabilă procesului de ASD. Creșterea concentrației Calciului în electrolit a fost realizată cu ajutorul EDTA disodic. Aplicând această soluție originală, a rezultat o creștere a concentrației hidroxiapatitei pe suprafața plăcuțelor din Titan, demonstrată cu ajutorul XRD.

Capitolul V – Utilizarea celulelor stem pentru creșterea gradului de biocompatibilitate cuprinde o descriere a celulelor stem, o clasificare a acestora și o trecere în revistă a aplicațiilor medicale. Accentul a fost pus pe utilizarea celulelor stem pentru integrarea tisulară a implantelor din Titan. O condiție esențială este aceea de a realiza o suprafață funcționalizată pe care celulele stem să adere suficient de bine. În acest scop au fost utilizate suprafețele realizate prin anodizare, conform metodei descrise mai sus. În urma acestor determinări s-a ajuns la concluzia că cea mai bună aderență o prezintă suprafețele anodizate la 150 V. Acest rezultat deschide calea unor noi cercetări privind funcționalizarea suprafețelor din Titan. Suprafețele anodizate se pretează și la prelucrări ulterioare, cum ar fi depunerea de hidroxiapatită, silanizare sau grefarea de polimeri bioorganici sau biodegradabili.

În **Capitolul VI – Aspecte clinice și paraclinice** sunt trecute în revistă atât reacțiile tisulare cât și cele sistemice la interacțiunea cu implantele metalice. În ultima parte este prezentat un studiu de caz reprezentând o situație clinică rezolvată chirurgical cu ajutorul unor implantate confecționate în laboratorul LOPIFO și ale căror suprafețe au fost prelucrate prin metodele descrise mai sus. Pacientul a fost urmărit pre, intra și post operator. Succesul intervenției chirurgicale și faptul ca postoperator pacientului i s-a asigurat o calitate a vieții corespunzătoare, demonstrează clinic faptul că metodele sunt eficiente și își găsesc justificare. Rezultatele obținute deschid noi perspective privind anodizarea colorată a componentelor trusei de implantate, cu scopul funcționalizării suprafeței, dar și a identificării lor mai ușoare. De asemenea, mai pot fi funcționalizate și șuruburile, prin depunere electrochimică de hidroxiapatită sau derivați organo-silicici.

BIBLIOGRAFIE

- [1] Albrektsson T., Branemark P.I., Hansson H.A., Lindstrom J., *Osseo-integrated titanium implants*, Acta Orthop. Scand., 52: 155-170, 1982
- [2] Anderson J., *Implants and devices*, Biomaterial Science, Academic Press, New York, 1996, pp. 415-425
- [3] Badiavas E.V., Falanga V., *Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells*, Archives of Dermatology 139, 510-516, 2003
- [4] Baksh D., Song L., Tuan L.S., *Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy*, J. Cell. Mol. Med. Vol 8, No 3, pp. 301-316, 2004
- [5] Balekics M., *Tribologie*, Editura Todesco, Cluj-Napoca, ISBN 973-99780-9-6, 2000
- [6] Barrett R.D., Bishara S.E., Quinn J.K., *Biodegradation of orthodontic appliances, Part 1: Biodegradation of nickel and chromium in vitro*, Am. J. Orthod. Dentofacial. Orthop., 103: 8-14, 1993
- [7] Bâră C., *Esențial de imunologie*, Ed. Bic All, București, ISBN 973-571-373-X, 2002
- [8] Bjerregaard L., Geels K., Ottesen B., Ruckert M., *Metalog Guide*, Struers Tech A/S, Denmark, 1992
- [9] Blackwood D.J., Chooi S.K.M., *Stability of protective oxide films formed on porous titanium*, Corros. Sci., 44: 395-405, 2002
- [10] Blackwood D.J., Peter L.M., Williams D.E., *Stability and open circuit breakdown of passive films on titanium*, Electrochim. Acta, 33: 1143-1149, 1988
- [11] Blackwood D.J., Seah K.H.W., Teoh S.H., *Corrosion of Metallic Implants*, In: Engineering Materials for Biomedical Applications, S.H. Teoh, Published by World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2004
- [12] Bloebaum R.D., Nelson K., Dorr L.D., Hoffman A., Lyman D.J., *Investigation of early surface delamination observed in retrieved hard-pressed tibial inserts*, Clin. Orthop., 269: 120-127, 1991
- [13] Bockris J.O.M., Reddy A.K.N., Gamboa-Aldeco M., *Modern Electrochemistry 2A – Fundamentals of Electronics*, Kluwer, New York, 1998
- [14] Brett C.M.A., Brett A.M.O., *Electrochemistry, Principles, Methods and Applications*, Oxford University Press, Oxford, 1993.
- [15] Brown S.A., Merritt K., *Metal allergy and metallurgy, in: Implant Retrieval: Material and Biological Analysis*, NBS SP 601, Weinstein, Gibbons, Brown, Ruff (eds.), pp. 299-321, 1981
- [16] Brunette D.M., *The effect of surface topography on cell migration and adhesion*, In: Ratner BD (ed) Surface Characterization of Biomaterials, Elsevier, Amsterdam, p. 203-217, 1988
- [17] Burt, R.K., Traynor A.E., *Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A New Therapy for Autoimmune Disease; Stem Cells*17, 366-372; 1999
- [18] Castleman L.S., Motzkin S.M., *The biocompatibility of Nitinol*, In: Williams DF (ed.) Biocompatibility of clinical implant materials, Volume 1. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, p 129-154, 1981
- [19] Castleman L.S., Motzkin S.M., Alicandri F.P., Bonawit V.L., *Biocompatibility of nitinol alloy as an implant material*. J.Biomed.Mater.Res. 10: 695-731, 1976
- [20] Chamberlain J.R., Schwarze U., Wang P.R., Hirata R.K., Hankenson K.D., Pace J.M., Underwood R.A., Song K.M., Sussman M., Byers P.H., Russell D.W., *Gene Targeting in Stem Cells from Individuals with Osteogenesis Imperfecta*, Science, 303:1198-1201, 2004

- [21] Chou L., Marek B., Wagner W.R., *Effects of hydroxyapatite coating crystallinity on biosolubility, cell attachment efficiency and proliferation in vitro*, *Biomaterials*, 20: 977-85, 1999
- [22] Cicala E.F., *Metode de prelucrare statistică a datelor experimentale*, Ed. Politehnica Timișoara, ISBN 973-9389-30-8, 1999
- [23] Ciolac S., Vasilescu E., Morcan G., Ivănescu S., *Coroziunea titanului și a unor aliaje neconvenționale de titan în soluție Ringer*, *Rev. De chimie*, 48, nr.9, 831-837, 1997
- [24] Cook S.D., Renz E.A., Barrack R.L., Thomas K.A., Harding A.F., Haddad R.J., Millicic M., *Clinical and metallurgical analysis of retrieved internal fixation devices*, *Clin. Orhop.*, 184: 236-247, 1985
- [25] Cristea V., Crișan M., Costin N., Olinescu A., *Imunologie clinică*, Ed. Casa cărții de știință, Cluj-Napoca, ISBN 973-686-000-0, 2002
- [26] Cristescu A., **Voicu A.**, *Rolul proteinelor de stres în protecția antiischemică a miocardului*, Zilele Academice Timișorene 23-25 mai, 2001
- [27] Cristescu A., **Voicu A.**, *Proteinele de stres și rolul lor în protecția antiischemică*, Conferința Națională a Cercetării Științifice din Învățământul Superior, Pitești 9-11 mai 2002
- [28] Cristescu C., Voicu M., **Voicu A.**, *Rezistența la antibiotice în sepsis*, Conferința Națională de Chimioterapie Antibacteriană, Antifungică și Antivirală, Iași, 14-15 Nov. 2002
- [29] Cutright D.E., Bhaskar S.N., Perez B., Johnson R.M., Cowan G.S.J., *Tissue reaction to nitinol wire alloy*, *Oral Surg.Oral Med.Oral Pathol.* 35: 578-584., 1973
- [30] Czichos H., *Tribologie – Handbuch (Reibung und Verschleiss)*, Vieweg&Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig, 1992
- [31] Dawson D.K., *Medical devices*, In *Comprehensive Composite Materials*, Vol. 6, A., Kelly, ed. Elsevier, pp. 1-32, 2000
- [32] Diaz A., Lopez T., Manjarrez J., Basaldella E., Martinez-Blanes J.M., Odriozola J.A., *Growth of hydroxyapatite in a biocompatible mesoporous ordered silica*, *Acta Biomaterialia* 2, 173-179, 2006
- [33] De Assis C.M., De Oliveira Vercik L.C., Dos Santos M.L., Fook M.V.A., Guastaldi A.C., *Comparison of crystallinity between Natural Hydroxyapatite and Synthetic cp-Ti/HA Coatings*, *Materials Research*, vol. 8, no. 2, 207-211, 2005
- [34] De Broe M.E., *Tubular regeneration and the role of bone marrow cells: 'stem cell therapy' – a panacea?*, *Nephrol Dial Transplant* 20: 2318-2320, 2005
- [35] Disegi J.A., *Anodizing treatments for titanium implants*, *Proc. 161h South, Biomedical Eng. Conf.*, eds. J.D. Bumgardner and A.D. Pucknett, Institute of Electrical and Electronics Engineers, New York, pp.: 129-132, 1997
- [36] Dreucean M., **Voicu A.**, Demian C., Menyhardt K., *Titanium Implants Anodisation*, International Conference on Biomaterials & Medical Devices, BiomMed'2006, Conference proceeding, November, 9-11th, Iași, Romania, p. 177, 2006
- [37] Echavarría A., Arroyave C., *Electrochemical assessment of some titanium and stainless steel implant*, *Rev. Metal. Madrid Vol. Extr.* 174-181, 2003
- [38] Frauchiger V.M., Schlottig F., Gasser B., Textor M., *Anodic plasma-chemical treatment of CP titanium surfaces for biomedical applications*, *Biomaterials*, 1-14, 2003
- [39] Garrec P., Tavernier B., Jordan L., *Evolution of flexural rigidity according to the cross-sectional dimension of a superelastic nickel titanium orthodontic wire*, *European Journal of Orthodontics* 27, 402-407, 2005
- [40] Gileadi E., Wang J., *Electrode Kinetics*, Wiley, New York, 1994

- [41] Gluhovschi G., *Actualități în imunologia clinică*, Ed. Helicon Timișoara, ISBN 973-9159-62-1, 1999
- [42] Greene N.D., *Corrosion of surgical alloys: A few basic ideas*, in Corrosion and degradation of implant materials, 2nd symposium, eds. A.C. Fraker and C.D. Griffin, ATSM STP, 859: 5-10, 1985
- [43] Greiner C., Oppenheimer S.M., Dunand D.C., *High strength, low stiffness, porous NiTi with superelastic properties*, Acta Biomaterialia 1: 705-716, 2005
- [44] Griffin C.D., Buchanan R.A., Lemons J.E., *In vivo electrochemical corrosion study of coupled surgical implant materials*, J. Biomed. Mater. Res., 17: 489-500, 1983
- [45] Groth T., Altankov G., Klosz K., *Adhesion of human peripheral blood lymphocytes is dependent on surface wettability and protein preadsorption*. Biomaterials 15: 423-428, 1994
- [46] Han Y., Hong S.H., Xu K., *Synthesis of nanocrystalline titania films by micro-arc oxidation*, Materials Letters 56: 44-747, 2002
- [47] Hanawa T., *Evaluation techniques of metallic biomaterials in vitro*, Science and Technology of Advanced Materials 3: 289-295, 2002
- [48] Hayes R., Shanks P., Darnovsky M., *Stem Cells and Public Policy*, The Century Foundation, Inc., 2006
- [49] Hochedlinger K., Jaenisch R., *Nuclear Transplantation, Embryonic Stem Cells, and the Potential for Cell Therapy*, N Engl J Med;349:275-86, 2003
- [50] Iohara K., Nakashima M., Ito M., Ishikawa M., Nakasima A., Akamine A., *Dentin Regeneration by Dental Pulp Stem Cell Therapy with Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 2*, J Dent Res 83(8):590-595, 2004
- [51] Israil A.M., *Biologie moleculară*, Ed. Humanitas București, ISBN 973-28-0960-4, 2000
- [52] Izquierdo-Barba I., Conde F., Olmo N., Lizarbe M.A., Garcia M.A., Vallet-Regi M., *Vitreous SiO₂-CaO coatings on Ti₆Al₄V alloys: Reactivity in simulated body fluid versus osteoblast cell culture*, Acta Biomaterialia xxx, 1-11, 2006
- [53] Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM., *Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow*, Nature. 2002 Jul 4;418(6893):41-9, 766-770, 28 August 2004
- [54] Jorma R., *Biocompatibility evaluation of Nickel-titanium shape memory metal alloy*, Academic Dissertation to be presented with the assent of the Faculty of Medicine, University of Oulu, for public discussion in Auditorium 1 of the University Hospital of Oulu, on May 7th, 1999, <http://herkules oulu.fi/isbn9514252217/html/index.html>
- [55] Kaesche H., *Corrosion of Metals, Physicochemical Principles and Current Problems*, Springer, Berlin, 2003
- [56] Kapanen A., *Biocompatibility of orthopaedic implants on bone forming cells*, Academic Dissertation to be presented with the assent of the Faculty of Medicine, University of Oulu, for public discussion in the Auditorium A 101 of the Department of Anatomy and Cell Biology, on February 22nd, 2002,
- [57] Kasemo B., Lausmaa J., *Biomaterials from a surface science perspective*, In: Surface characterization of Biomaterials, B.D., Ratner, ed. Elsevier, New York, Ch. 1, pp. 1-12, 1988
- [58] Kasemo B., Lausmaa J., *The biomaterial-tissue interface and its analogues in surface science and technology*. In: Davies JE (ed.) The bone-biomaterial interface, University of Toronto press, Toronto, p 19-32, 1991

- [59] Kierzkowska A., Malinowski M., Krasicka-Cydzik E., *Effect of bending on anodized Ti6Al4V alloy: I. Surface layers characteristics*, Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, Vol. 8, ISSUE 1-2 September–October 2006
- [60] Krasicka-Cydzik E., Kierzkowska A., Glazowska I., *Effect of bending on anodized Ti6Al4V alloy: II. Behavior in vitro*, Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, vol. 17: 1-4, ISSUE 1-2 July-August, 2006
- [61] Kurrat R., Wälivaara B., Marti A., Textor M., Tengvall P., Ramsden J.J., Spencer N.D., *Plasma protein adsorption on titanium: comparative in-situ studies using optical waveguide lightmode spectroscopy and ellipsometry*, Colloids Surf B: Biointerfaces 11:187–201, 1998
- [62] Leckband D., Schmitt F.J., Israelachvili J.I., *Direct force measurements of specific and nonspecific protein interaction*, Biochemistry 33(15):4611–4624, 1994
- [63] Lee S.H., Kim H.W., Lee E.J., Li L.H., Kim H.E., *Hydroxyapatite-TiO₂ Hybrid Coating on Ti Implants*, J Biomater Appl 20, 195-208, 2006
- [64] Lemons J.E., *Surface modifications of surgical implants*, Surf. Coat. Technol., 103-104: 135-137, 1998
- [65] Lendeckel S. et al., *Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report*, Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery 32, 370-373, 2004
- [66] Lia L.H., Konga Y.M., Kima H.W., Kima Y.W., Kima Y.E., Heob S.J., Koakb J.Y., *Improved biological performance of Ti implants due to surface modification by micro-arc oxidation*, Biomaterials 25, 2867–2875, 2004
- [67] Linder L., Carlsson A., Marsal L., Bjursten L.M., Branemark P.I., *Clinical aspects of osseointegration in joint replacement. A histological study of titanium implants*, J.Bone Joint Surg.[Br.] 70: 550-555, 1988
- [68] Liță M., *Cristalografie și analiză structurală*, Notițe de curs, an III SIM, Facultatea de Mecanică, U.P. Timișoara, 2001
- [69] Marcu G., Brezeanu M., Bâtcă A., Bejan C., Cătuneanu R., *Chimie anorganică*, Ed. Didactică și pedagogică București, 1981
- [70] Matusz P.L., Chiotan N., *Progrese în studiul cicatrizării structurilor aparatului locomotor*, Ed. Brumar Timișoara, ISBN 973-9295-05-3, 1997
- [71] Merritt K., Rodrigo J.J., *Immune response to synthetic materials: sensitization of patient receiving orthopaedic implants*, Clin. Orthop., 329S: S233-S243, 1996
- [72] Momârlan M., Bădescu V., *Oxidarea titanului și a unor aliaje de titan*, Ed. Agir București, ISBN 973-8130-50-6, 2001
- [73] Morita M., Sasada T., Hayashi H., Tsukamoto Y., *The corrosion fatigue properties of surgical implants in a living body*, J. Biomed. Mater. Res., 22: 529-540, 1988
- [74] Morrissey R.F., Phillips G.B. eds., *Sterilization Technology: A Practical Guide for Manufactures and Users of Health Care Products*, Van Nostrand Reinhold, New York, 1993
- [75] Oniciu L., Grunwald E., *Galvanotehnica*, Ed. Științifică și enciclopedică București, 1980
- [76] Okazaki Y., *Corrosion Resistance, Mechanical Properties, Fatigue Properties and Tissue Response of Ti-15Zr-4Nb-4Ta Alloy*, National Institute of Advanced Industrial, Tsukuba, Ibaraki, Japan; 1995

- [77] Oldham K. B., Myland J. C., *Fundamentals of Electrochemical Science*, Academic Press, San Diego, CA, 1994.
- [78] Park J.B., Lakes R.S., *Metallic implant materials*, in Biomaterials. An introduction, Plenum Press, New York, pp: 75-115, 1992
- [79] Perețianu D., Saragea M., *Imunologia în teoria și practica medicinei*, vol 2, Ed. All București, ISBN 973-571-148-6, 1998
- [80] Petite H., Viateau V., Bensaïd W., Meunier A., Pollak C., Bourguignon M., Oudina K., Sedel L., Guillemin G., *Tissue-engineered bone regeneration*, Nature Biotechnology 18: 959-963, 2000
- [81] Popa M.V., Vasilescu E., Drob P., Vasilescu C., Demetrescu I., Ionescu D., *Stabilitatea filmelor pasive pe biomateriale pe bază de titan, în ser fiziologic și soluții Ringer*, Rev. Chim. 54, nr. 6, 503-518, 2003
- [82] Prigent H., Pellen-Mussi P., Cathelineau G., Bonnaure-Mallet M., *Evaluation of the biocompatibility of titanium-tantalum alloy versus titanium*, J. Biomed. Mater. Res. 39, pp. 200-206, 1998
- [83] Puleo D.A., Bizios R., *Formation of focal contacts by osteoblasts cultured on orthopedic biomaterials*, J.Biomed.Mater.Res. 26: 291-301, 1992
- [84] Rae T., *Tissue culture techniques in biocompatibility testing*. In: Williams DF (ed.) Techniques of biocompatibility testing, Volume 2. CRC Press, Boca Raton, FL, p 81-93, 1986
- [85] Ratner, B. D., Hofman, A. S., Schoen, F. J., Lemons, J. E. (eds.), *Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine*, Academic Press, San Diego, 1996
- [86] Ratner B.D., Porter S.C., *Surfaces in biology and biomaterials; description and characterization*, In: Brash JLW (ed) Interfacial Phenomena and Bioproducts. Marc Dekker, New York, p. 57-83, 1996
- [87] Rădoi I., Golumbioschi F., Nemeș M., *Electrochimie*, Curs, Institutul Politehnic Timișoara, 1985
- [88] Rias Diaz S., Santana Lopez A., Mârza Roșca J., *Comportamentul electrochimic al biomaterialelor pe bază de titan în soluție oxidantă de HNO₃ și Hank*, Rev. Chim. 53, nr. 11, 761-763, 2002
- [89] Rondelli G., *Corrosion resistance tests on Ni-Ti shape memory alloy*, Biomaterials, 17:2003-2008, 1996
- [90] Ryhanen J., Niemi E., Serlo W., Niemela E., Sandvik P., Pernu H., Salo T., *Biocompatibility of nickel-titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures*, J. Biomed. Mater. Res., 35: 451-457, 1997
- [91] Sauli K., *Biocompatibility and biomechanical aspects of Nitinol shape memory metal implants*, Academic Dissertation to be presented with the assent of the Faculty of Medicine, University of Oulu, for public discussion in the Auditorium 1 of the University Hospital of Oulu, on November 7th, 2003
- [92] Scales J.T., Winter G.D., Shirley H.T., *Corrosion of orthopaedic implants*, J. Bone Joint Surg., 41B: 810-820, 1959
- [93] Schlegel P., Auer J.A., Schneider E., *In vivo biocompatibility study of different calcium-phosphate surfaces for implant bone integration*, Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, Davos, 2004
- [94] Schors E.C., Holmes R.E., *Porous hydroxyapatite*, in An Introduction to Bioceramics, L.L., Hench and J., Wilson, eds., World Scientific, Singapore, pp. 191-198, 1993
- [95] Shabalovskaya S., *Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material-Bio-Medical Materials and Engineering* ; 12; 9-109 IOS Press, 2002

- [96] Sharan D., *The problem of corrosion in orthopedic implant materials*, Orthop. Update, India, 9: 1-5, 1999
- [97] Sittig C., Wieland M., Xiao S.J., Textor M., *Characterization And Properties Of Titanium Implant Surface*, Laboratory for Surface Science and Technology, Department of Materials, ETH Zürich, 2003
- [98] Solar R. J., *Corrosion resistance of titanium surgical implant alloys: A review*, In: Corrosion degradation implant materials, eds. B.C. Syrett and A. Acharya, ASTM STP, 684: 259-273, 1979
- [99] Sommer B., Felix R., Sprecher C., Leunig M., Ganz R., Hofstetter W., *Wear particles and surface topographies are modulators of osteoclastogenesis in vitro*, Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com), Published online 9 November 2004
- [100] Spencer N.D., Textor M., *Surface Modification, Surface Analysis, and Biomaterials Laboratory for Surface*, Science and Technology Department of Materials, ETH Zürich, 2003
- [101] Stephen K., Lower S.F., *Electrochemistry: Chemical reactions at an electrode, galvanic and electrolytic cells*, A Chem Reference Text, <http://www.chem1.com/acad/webtext/virtualtextbook.html>
- [102] Șerban V.A., Răduță A., *Știința și ingineria materialelor*, Editura Politehnica, Timișoara, 2006
- [103] Tabata Y., *Foreign body reaction*, in *Metallic Biomaterials Fundamentals and Applications*, eds. M. Sumita, Y. Ikada, and T. Tateishi, ICP, Tokyo, 335-346, 2000
- [104] Takada M., Engelke K., Hagiwara S., Grampp S., Genant H.K., *Accuracy and precision study in vitro for peripheral quantitative computed tomography*, Osteoporos.Int. 6: 207-212, 1996
- [105] Takao H., *Evaluation techniques of metallic biomaterials in vitro - Science and Technology of Advanced Materials* 3; 289-295, 2002
- [106] Tateishi-Yuyama E. et al.; *Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial*; Lancet 360, 427-435; 10 August 2002
- [107] Tengvall P., Lundstrom I., *Physico-chemical considerations of titanium as a biomaterial*, Clin. Mater., 9: 115-134, 1992
- [108] Thomsen P., Ericson L.E., *The bone-biomaterial interface*, ed. J.E. Davis, University of Toronto Press, Toronto, pp.: 153-164, 1991
- [109] Torricelli P, Fini M, Borsari V, Lenger H, Bernauer J, Tschon M, Bonazzi V, Giardino R, *Biomaterials in orthopedic surgery: effects of a nickel-reduced stainless steel on in vitro proliferation and activation of human osteoblasts*, PMID: 14636013 [PubMed - indexed for MEDLINE], 2003
- [110] Toth R.W., Parr G.R., Gardner L.K., *Soft tissue response to endosseous titanium oral implants*, J.Prosthet.Dent. 54: 564-567, 1985
- [111] Traisnel M., Le Maguer D., Hildebrand H.F., Iost A., *Corrosion of surgical implants*, Clin. Mater., 5: 309-318, 1990
- [112] Tudor A., *Contactul real al suprafețelor de frezare*, Editura Academiei Române, București, 1990
- [113] Uram-Țuculescu S., Bratu E., Lakatos S., *Titanul în stomatologie*, Ed. Signata Timișoara, ISBN 973-551-041-3, 2001
- [114] Vaszilcin N., *Noțiuni de electrochimie*, Ed. Politehnica Timișoara, ISBN 973-625-114-4, 2004
- [115] Velid S., *Principles of Biocompatibility for Dental Practitioners - Dept. of Biomaterials - Eastman Dental Institute (UCL) University of London*

- [116] Venugopalan R., Gaydon J., *A Review of Corrosion Behavior of Surgical Implant Alloys*, Princeton Applied Research, 2003
- [117] Voicu A., Demian C., Stoia D., *Titanium Implants Behavior in Biological Environments*, Scientific Bulletin of the Politehnica University of Timisoara, Proceedings of the XIth International Conference on Vibration Engineering, Timisoara, Romania, September 27 – 30, Tom 50 (64), p. 117-122, 2005
- [118] Voicu A., Demian C., *Titanium Implants Evaluation Using Electrochemical and Metallographic Analysis Methods*, Buletinul Științific al Universității "Politehnica" din Timișoara, Seria Mecanica, Tom 49 (63), Transaction on Mechanics, Fascicola 2, 2004
- [119] Von Recum A., (Ed.) *Handbook of biomaterials evaluation*, New York, Macmillan, 1986
- [120] Wallin R.F., Upman P.J., *A Practical Guide to ISO 10993-6: Implant Effects*
- [121] Walter M.J. (Medical Alloy Specialist), *Properties of an Essentially Nickel-Free Stainless Alloy for Medical Implants*, Carpenter Technology Corporation, Reading, PA Warnke PH et al., Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man, *Lancet* 364, 2003
- [122] Wennerberg A., Albrektsson T., *Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surface*,. *Int. J. Oral Maxillofac Implants* 15(3):331–344, 2000
- [123] Wieland M., Sittig C., Brunette D.M., Textor M., Spencer N.D., *Measurement and Evaluation of the Chemical Composition and Topography of Titanium Implant Surfaces*, In: Davies JE (ed) *Bone Engineering*, Publisher: em squared inc, Toronto, pp 163–182, 2000
- [124] Williams D., *Definitions in Biomaterials*, Progress in Biomedical Engineering, 4. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Publishers, 1987
- [125] Williams D., *Biocompatibility of Clinical Implant Materials*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 9–44, 1981
- [126] Wintermantel E., *Tissue Engineering Supported with Structured Biocompatible Materials: Our Activities*, ETH Zürich
- [127] Wobus A.M., Boheler K.R., *Embryonic Stem Cells: Prospects for Developmental Biology and Cell Therapy* *Physiol. Rev.* 85: 635-678, 2005;
- [128] Yamamoto A., Honma R., Sumita M., *Cytotoxicity evaluation of 43 metal salts using murine fibroblasts and osteoblastic cells*, *J.Biomed.Mater.Res.* 39: 331-340, 1998
- [129] Yannas I.V., Spector M., *Formation Of Soft Tissue And Bone Around Implants: The Chronic Response to Implants*, Massachusetts Institute of Technology Massachusetts Technology Harvard Medical SchoolHarvard SchoolBrigham and Women's HospitalBrigham HospitalVA Boston Healthcare SystemVA System
- [130] Yokokawa H., Sakai N., Kawada T., Dokiya M., *Generalized Electrochemical Potential Diagrams for Complex Aqueous (M-X-H-O-e) Systems*, *J. Electrochem. Soc.* 137(2), 388 1990
- [131] Zinger O., Anselme K., Habersetzer P., Landolt D., *Time-Dependent Adhesion And Morphology Of Osteoblastic Cells On Titanium Model Surfaces Featuring Scale-Dependent Topography*, *European Cells and Materials* Vol. 5. Suppl. 1: 21-23, ISSN 1473-2262, 2003
- [132] Zitter H., Plenk H.J., *The electrochemical behavior of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibility*, *J.Biomed.Mater.Res.* 21: 881-896, 1987

- [133] *** - Association for the Advancement of Medical Instrumentation, *AAMI Standards and Recommended Practices, Vol. 13, Sterilization, Part 3, Industrial Process Control*, Association for the Advancement of Medical Instrumentation, Arlington V.A., 1999
- [134] *** - Carpenter Technology Corporation, Reading, PA, USA, *Specialty Alloys and Titanium Shapes to Consider for Latest Medical Materials Requirements*, Published in European Medical Device Manufacturer, September 2003
- [135] *** - IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: *Surgical, Implants and other Foreign Bodies*, Lyon, 74:65-84, 1999
- [136] *** - Laborator CIDUCOS, UPT, *Procedură specifică de lucru, PSL-01 Încercarea la coroziune*
- [137] *** - Legea 176/ 18 octombrie 2000 privind dispozitivele medicale
- [138] *** Guidance Document for Testing Orthopedic Implants With Modified Metallic Surfaces Apposing Bone Or Bone Cement Orthopedic Devices Branch Division of General and Restorative Devices Office of Device Evaluation Center for Devices and Radiological Health U.S. Food and Drug Administration April 28, 1994
- [139] *** *Metallic Nickel and Certain Nickel Alloys*, December 13 - 14, 2000, Meeting of the NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee, Prepared by: Technology Planning and Management Corporation, Canterbury Hall, Suite 310
- [140] *** Opinion of The European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE), nr 15, 14 nov 2000, *Ethical aspects of human stem cell research and use*
- [141] *** Office for Official Publications of the European Communities, *Stem cells therapies for the future*, Luxembourg: ISBN 92-894-3745-6, 2002
- [142] *** - Sendelbach L.E., Wallin R.F., *A Practical Guide to ISO 10993-11: Designing Subchronic and Chronic Systemic Toxicity Tests*
- [143] *** Toxicological Review of Soluble Nickel Salts - Prepared by: Toxicology Excellence for Risk Assessment (TERA) under subcontract in part with Science Applications International Corporation (SAIC), March 1999
- [144] *** - ASTM F86-04, *Standard Practice for Surface Preparation and Marking of Metallic Surgical Implants*
- [145] *** - ASTM F561-05a, *Standard Practice for Retrieval and Analysis of Medical Devices, and Associated Tissues and Fluids* [23 cap5]
- [146] *** - ASTM G3-89 (2004) *Standard Practice for Conventions Applicable to Electrochemical Measurements in Corrosion Testing*
- [147] *** - ASTM G48-03 *Standard Test Methods for Pitting and Crevice Corrosion Resistance of Stainless Steels and Related Alloys by Use of Ferric Chloride Solution - Method D - Critical crevice temperature test for nickel-base and chromium-bearing alloys (CCT)*
- [148] *** - ASTM G5-94 (2004) *Standard Reference Test Method for Making Potentiostatic and Potentiodynamic Anodic Polarization Measurements*
- [149] *** - ISO 12891-2: 2005 *Retrieval and analysis of surgical implants - Part 2: Analysis of retrieved metallic surgical implants*
- [150] *** - ISO 16428: 2005 *Implants for surgery - Test solutions and environmental conditions for static and dynamic corrosion tests on implantable materials and medical devices* [Implante chirurgicale - Soluții de încercare și condiții de mediu pentru încercările la coroziune statică și dinamică asupra materialelor implantabile și a dispozitivelor medicale]

- [151] *** - ISO 16429: 2004 *Implants for surgery - Measurements of open-circuit potential to assess corrosion behaviour of metallic implantable materials and medical devices over extended time periods* [Implante chirurgicale - Măsurători ale potențialului cu circuit deschis pentru a stabili comportamentul la coroziune a materialelor metalice implantabile și a dispozitivelor medicale pentru perioade de timp prelungite]
- [152] *** - prEN ISO 10993-6: 2006 *Biological evaluation of medical devices - Part 6: Tests for local effects after implantation (ISO/DIS 10993-6: 2005)* [Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale Partea 6: Teste pentru efectele locale după implantare]
- [153] *** - SR 10013: 1995 *Metale și aliaje neferoase exceptând cuprul și aliajele de cupru. Determinarea mărimii medii a grăuntelui*
- [154] *** - SR EN 550: 1997 *Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare și control de rutină pentru sterilizarea cu oxid de etilenă*
- [155] *** - SR EN 552: 2001/ A2: 2003 *Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare și control de rutină pentru sterilizarea prin iradiere*
- [156] *** - SR EN 554: 2003 *Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare și control de rutină pentru sterilizarea cu caldură umedă*
- [157] *** - SR EN 556-1: 2003/ AC: 2007 *Sterilizarea dispozitivelor medicale. Cerințe pentru dispozitivele medicale etichetate "steril". Partea 1: Cerințe pentru dispozitivele medicale sterilizate în faza finală*
- [158] *** - SR EN ISO 10993-1: 2004 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 1: Evaluare și testare*
- [159] *** - SR EN ISO 10993-10: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 10: Teste de iritare și de hipersensibilitate cu efect retard*
- [160] *** - SR EN ISO 10993-11: 2007 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 11: Încercări de toxicitate sistemică*
- [161] *** - SR EN ISO 10993-12: 2005 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 12: Prepararea eșantioanelor și a materialelor de referință*
- [162] *** - SR EN ISO 10993-15: 2002 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 15: Identificare și cuantificare a produșilor de degradare din metale și aliaje*
- [163] *** - SR EN ISO 10993-16: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 16: Proiectarea studiilor toxicocinetice pentru produse de degradare și substanțe extractibile*
- [164] *** - SR EN ISO 10993-17: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 17: Stabilirea limitelor admisibile pentru substanțe extractibile*
- [165] *** - SR EN ISO 10993-18: 2006 *Evaluare biologică a dispozitivelor medicale. Partea 18: Caracterizare chimică a materialelor*
- [166] *** - SR EN ISO 10993-2: 2007 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 2: Cerințe pentru protecția animalelor*
- [167] *** - SR EN ISO 10993-3: 2004 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 3: Teste pentru genotoxicitate, carcinogenitate și toxicitate asupra funcției de reproducere*
- [168] *** - SR EN ISO 10993-4: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 4: Selectarea testelor pentru interacțiunile cu sângele*
- [169] *** - SR EN ISO 10993-5: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 5: Teste pentru citotoxicitate in vitro*
- [170] *** - SR EN ISO 10993-7: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 7: Reziduuri de sterilizare cu oxid de etilenă*

- [171] *** - SR EN ISO 10993-8: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 8: Selectarea și calificarea materialelor de referință utilizate pentru teste biologice*
- [172] *** - SR EN ISO 10993-9: 2003 *Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 9: Cadru pentru identificarea și cuantificarea produșilor potențiali de degradare*
- [173] *** - SR EN ISO 14155-1: 2003 *Investigația clinică a dispozitivelor medicale pentru subiecți umani. Partea 1: Cerințe generale*
- [174] *** - SR EN ISO 14602: 2001 *Implanturi chirurgicale neactive. Implanturi pentru osteosinteză. Cerințe particulare*
- [175] *** - SR EN ISO 14630: 2005 *Implanturi chirurgicale neactive – Cerințe generale*
- [176] *** - SR ISO 5832-2: 1996 *Implanturi chirurgicale – Produse metalice. Partea 2: Titan nealiat, standard anulat, versiune nouă și neadoptată fiind ISO 5832-2: 1999 Implants for surgery - Metallic materials - Part 2: Unalloyed titanium*
- [177] *** - SR ISO 5832-3: 1999 *Implanturi chirurgicale – Produse metalice. Partea 3: Aliaj deformabil titan – aluminiu 6 – vanadiu 4*
- [178] *** - Contract nr. 05/ 15.09.2006, cod CNCSIS 43: *Platformă de implantologie, protezare inteligentă și recuperare biomecanică, 2006-2008, director proiect prof.dr.ing. Doina Drăgulescu, drd. ing. Voicu Adrian membru în colectiv*
- [179] *** - Contract nr. 28/ 7.09.2005: *Extinderea și dezvoltarea capacității laboratorului de încercări CIDUCOS în curs de acreditare de către RENAR conform SR EN ISO/CEI 17025:2001 EDCL-CIDUCOS, 2005-2007, director proiect prof.dr.ing. Doina Drăgulescu, drd. ing. Voicu Adrian membru în colectiv*
- [180] *** - Contract PNCDI/ INFRAS, nr. 10953/ 27.10.2003: *Laborator de certificare a implantelor și distractoarelor utilizate în chirurgia osoasă și stomatologie – CIDUCOS, 2003-2005, director proiect prof.dr.ing. Doina Drăgulescu, drd. ing. Voicu Adrian membru în colectiv*