

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS DA
CORROSÃO DE MINI-IMPLANTES ORTODÔNTICOS DE Ti-
6Al-4V APÓS IMERSÃO EM SALIVA ARTIFICIAL
FLUORETADA POR 30, 90 OU 180 DIAS**

SANDRA STIVAL DOS SANTOS LEMES

GOIÂNIA

2008

Sandra Stival dos Santos Lemes

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS DA
CORROSÃO DE MINI-IMPLANTES ORTODÔNTICOS DE Ti-
6Al-4V APÓS IMERSÃO EM SALIVA ARTIFICIAL
FLUORETADA POR 30, 90 OU 180 DIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, nível de Mestrado em Clínicas Odontológicas, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás.

Orientador: Prof Dr. Marcos Augusto Lenza

Co-orientador: Prof Dr. João Batista de Souza

Goiânia

2008

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Misael e Lindaura, que muitas vezes sacrificaram os seus sonhos em favor dos meus; nas horas em que meus ideais pareciam distantes e inatingíveis, meu cansaço e preocupação foram compartilhados por vocês, numa união. Divido com vocês os méritos desta conquista. “Obrigada!”

Ao meu esposo Hélio pela sua importante presença e grande incentivo.

Aos meus amados filhos Henrique e Vitor, pela ternura de suas presenças. Muito obrigada pela compreensão nos momentos de minha ausência. Vocês são os estímulos para que eu procure crescer cada vez mais.

Ao meu irmão Sarjob e ao meu sobrinho Guilherme, companheiros e grandes amigos.

A vocês dedico com muito amor este trabalho.
Muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida e pela força que me impulsiona a crescer.

Ao professor Dr. Marcos A. Lenza por tornar possível a realização de um sonho, me aceitando como sua orientanda neste programa de Mestrado, dividindo comigo um pouco da sua grande bagagem científica.

À professora do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - IPTSP, Dra. Fátima Ribeiro-Dias, por ter me acolhido em seu laboratório e pela brilhante orientação. Muito obrigada!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. João Batista de Souza, meu sincero reconhecimento pela assistência prestada, pela dedicação ao ensino e em especial, à elaboração deste trabalho.

A todos os professores que fazem parte do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás, nível Mestrado, pela enorme contribuição para a minha formação acadêmica e pessoal.

Aos professores do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - IPTSP, Profa. Dra. Mirian Leandro Dorta e Prof. Dr. Milton Adriano Pelli de Oliveira, por terem me recebido em seus laboratórios.

Ao meu colega João Garcia Fernandes Neto, pelo companheirismo e parceria na execução deste trabalho.

Aos meus colegas Alexandre Valtuille Ribeiro e Rosineide Santos Amorim-Brito pelo apoio e receptividade.

A todos os meus familiares, que sempre torceram por mim, em especial às minhas tias Maria das Dores, Maria do Carmo e Vilma, as suas orações sempre foram um apoio incondicional à minha vida.

Às minhas funcionárias Alice e Eliemar pela enorme contribuição, vocês me deram muita tranquilidade, dando carinho e atenção aos meus filhos durante a minha ausência.

Aos colegas de laboratório do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - IPTSP, Hélio, Cibeli e Rosidete, pela ajuda e companheirismo.

A todos os colegas de turma, pelos momentos agradáveis de convivência.

Às empresas SIN e Conexão, por fornecer amostras para execução do trabalho.

A todos os funcionários da pós-graduação, que ajudam na condução do Programa de Mestrado.

RESUMO

As ligas metálicas utilizadas na terapia ortodôntica estão sujeitas ao processo de corrosão na cavidade bucal. Mini-implantes de Ti-6Al-4V utilizados em ortodontia tornou-se um ótimo recurso de ancoragem intrabucal, contudo, sua resistência à corrosão na presença de flúor é pouco conhecida. O objetivo deste trabalho *in vitro* foi avaliar a citotoxicidade dos extratos da corrosão de mini-implantes ortodônticos de Ti-6Al-4V de três diferentes marcas comerciais, quando expostos em saliva artificial fluoretada contendo 200 µg/L de fluoreto de sódio, por 30, 90 ou 180 dias. A citotoxicidade dos extratos foi avaliada, em cultura de células L929, por meio da análise do ensaio do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo de tetrazólio). Os extratos não foram citotóxicos e o ensaio de citotoxicidade revelou não haver diferenças entre as amostras, demonstrando um comportamento semelhante para os extratos provenientes dos mini-implantes imersos em saliva nos três períodos avaliados. A análise qualitativa, por meio do MEV não revelou áreas com características de corrosão propriamente dita. Os resultados demonstraram que os mini-implantes testados apresentam alta resistência à corrosão e sugerem que são biocompatíveis.

Palavras-chave: Implante dentário endoósseo, Flúor, Corrosão, Citotoxicidade.

ABSTRACT

The alloys used in the orthodontic therapy are subject to the corrosion process in the oral environment. Orthodontic mini-implants Ti-6Al-4V are an excellent source for intraoral anchorage; however, their corrosion resistance in the presence of fluoride is currently unknown. The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the cytotoxic effects of the corrosion extracts of mini-implants Ti-6Al-4V from three different manufacturers when exposed to 200 µg/L of sodium fluoride containing artificial saliva for 30, 90 or 180 days. The cytotoxic effects of their corrosion products on L929 cell culture was evaluated by MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay, for cell metabolism and proliferation. The extracts were not cytotoxic and the cytotoxicity assay demonstrated a similar behavior for the samples immersed in artificial saliva in the three evaluated periods. The qualitative analysis, through SEM did not show characteristics of corrosion. The results indicated that the mini-implants tested presented a high corrosion resistance and biocompatibility.

Key-words: Endosseous Dental Implantation, Fluoride, Corrosion, Cytotoxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Amostras preparadas.....	38
Figura 2	Ensaio de citotoxicidade.....	41
Figura 3	Extratos de mini-implantes ortodônticos, após imersão em saliva artificial fluoretada, não são citotóxicos.....	45
Figura 4	Aspecto morfológico das células L929 cultivadas na ausência (A) ou presença (B) dos extratos.....	46
Figura 5	Fotomicroscopia de mini-implantes Conexão®.....	47
Figura 6	Fotomicroscopia de mini-implantes Neodent®.....	49
Figura 7	Fotomicroscopia de mini-implantes SIN®.....	50

LISTA DE TABELA

Tabela 1 Características dos mini-implantes da liga Ti-6Al-4V	36
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al	Alumínio
ASTM	American Society for Testing and Materials
C	Carbono
D.O	Densidade óptica
Fe	Ferro
H	Hidrogênio
ISO	Internacional Organization for Standardization
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MTT	(3-{4,5 dimetiltiazol-2-il}-2,5-difenil brometo de tetrazólio)
NaF	Fluoreto de sódio
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
SEM	Scanning Electron Microscopy
Ti	Titânio
V	Vanádio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Ancoragem e mini-implantes.....	17
2.2	Titânio e suas ligas.....	19
2.3	Corrosão.....	22
2.4	Biocompatibilidade e corrosão do titânio.....	25
3	OBJETIVOS.....	33
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1	Preparo das amostras.....	36
4.2	Avaliação da citotoxicidade dos extratos <i>in vitro</i>	38
4.2.1	Cultura de células L929.....	38
4.2.2	Ensaio de citotoxicidade.....	39
4.3	Análise das superfícies dos mini-implantes sob microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	41
4.4	Análise estatística.....	42
5	RESULTADOS.....	43
5.1	Avaliação da citotoxicidade dos extratos de mini-implantes ortodônticos.....	44
5.2	Análise das superfícies dos mini-implantes sob microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	46
6	DISCUSSÃO.....	51
7	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS.....	59

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A inter-relação de áreas afins dentro da Odontologia contribuiu para o avanço tecnológico da ortodontia. Sendo assim, a maior contribuição da implantodontia para a ortodontia foi no auxílio do controle de ancoragem ortodôntica, com o surgimento dos mini-implantes.

Os mini-implantes têm se mostrado eficientes como ancoragem esquelética e vêm auxiliando os ortodontistas em inúmeras aplicações clínicas, além de possibilitar a obtenção de uma ancoragem estável, reduzindo a necessidade de colaboração dos pacientes. A ancoragem é decisiva para o sucesso do tratamento ortodôntico e pode ser definida como a resistência ao deslocamento.¹

As ligas dos dispositivos de ancoragem ortodôntica têm como elemento primordial o titânio, que é um metal que tem sido amplamente utilizado no meio odontológico devido as suas excelentes propriedades mecânicas e resistência à corrosão.² A presença de uma camada densa e estável de óxidos de titânio na superfície do titânio e suas ligas é responsável pela sua extrema estabilidade e biocompatibilidade junto aos tecidos vivos.³

A maioria das ligas metálicas utilizadas em Odontologia, ao serem submetidas às condições da cavidade bucal, passam por um processo lento e contínuo de corrosão.⁴ Os efeitos da corrosão podem não somente influenciar as propriedades mecânicas dos dispositivos metálicos, mas também promover liberação de íons para o ambiente bucal,⁵ devido à reação eletroquímica entre o metal e o meio bucal.^{6,7,8}

A resistência à corrosão do titânio está altamente relacionada com a estabilidade e capacidade de reparação do filme de óxido de titânio, presente na superfície deste metal. A remoção mecânica ou química da camada protetora pode influenciar as taxas de corrosão dos biomateriais.^{6,7,8} Dentro da prática odontológica, a utilização de soluções fluoretadas constitui

uma forma bastante eficaz para o controle da doença cárie. A diminuição da resistência à corrosão e alteração da cor do titânio e suas ligas em soluções contendo flúor tem sido relatada.^{2,9,10} O titânio e suas ligas neste meio, especificamente quando em pH reduzido, são facilmente degradados por corrosão eletroquímica.^{4,5,11} Este fenômeno é interpretado como sendo o resultado da incorporação de íons fluoreto na camada de óxido, cujas propriedades de proteção são consideravelmente reduzidas, afetando gradativamente a estrutura do metal.¹²

O pH dos géis fluoretados utilizados geralmente está entre 3,2 e 7,7, sendo que o pH dos agentes fluoretados neutros é aproximadamente 7.¹³ Preparações ácidas potencializam o efeito do gel fluoretado com incorporação de maior quantidade de flúor na superfície dentária,¹¹ porém tais condições podem promover resultados prejudiciais às propriedades químicas e mecânicas do titânio, conduzindo a uma formação mais rápida de ácido fluorídrico, responsável pelo ataque da camada protetora da superfície do titânio e suas ligas.¹⁴

Apesar da realização e divulgação de vários trabalhos em animais¹⁵ e ensaios clínicos,^{8,16,17,18,19,20,21,22,23} defenderem a eficiência dos mini-implantes como ancoragem, nota-se, ao observar a literatura, que praticamente não existem relatos de trabalhos que utilizem testes *in vitro* para avaliar a corrosão desses dispositivos de ancoragem de Ti-6Al-4V na presença de saliva artificial fluoretada,²⁴ os quais deveriam ser prévia e exaustivamente executados para atestar a biossegurança do material.

Considerando que o ambiente bucal é propício para a formação de produtos da corrosão, por ser úmido e continuamente sujeito a flutuações de temperatura e pH, vale lembrar que todos os trabalhos que atestam a excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade do titânio e suas ligas foram realizadas em amostras destes metais^{12,27,28,29,30,31} ou em implantes ortopédicos que não são destinados para uso bucal,²⁵ ratificando a necessidade de avaliar os mini-implantes a serem instalados clinicamente, visto

que os produtos manufaturados podem apresentar características de composição e estrutura na sua superfície, que podem, além de alterar o comportamento biológico das células que estão em contato direto com o implante, facilitar a corrosão.³⁰

O cuidado de se testar os mini-implantes, também se fundamenta no fato de que características da sua estrutura como, a rugosidade superficial, influencia a resistência à corrosão do titânio³² e imperfeições em sua superfície, decorrentes de sua manufatura, podem diminuir sua resistência à corrosão aumentando, conseqüentemente, a possibilidade de liberação de produtos de corrosão.

Na liga destes mini-implantes há alumínio e vanádio que foram adicionados ao titânio para aumentar substancialmente sua resistência mecânica.³³ No entanto, estes dois elementos apresentam características de toxicidade, principalmente o vanádio, que é classificado como um metal tão tóxico quanto o níquel, cobre e cobalto,^{25,28,34,35} explicando, assim, o desenvolvimento de ligas livres deste elemento devido a preocupação acerca de sua biocompatibilidade.^{26,28,31,33}

O grande emprego dos biomateriais metálicos implantados ou inseridos em várias partes do corpo humano, justifica o crescente interesse sobre o efeito da exposição aos metais na saúde. Na ortodontia, o uso de uma grande variedade de dispositivos e acessórios metálicos que são confeccionados a partir de diferentes ligas metálicas, tem sido investigado, pois os metais sofrem corrosão e o uso particularmente por um longo período de tempo, pode induzir ou exacerbar reações de hipersensibilidade, devido à liberação de íons metálicos em concentrações que podem causar toxicidade aguda, além de efeitos carcinogênicos e mutagênicos.^{36,37,38}

Considerando a natureza profilática dos agentes fluoretados sobre a cárie dental, alguns estudos complementares, sobre a corrosão eletroquímica das ligas usadas em odontologia, na presença de fluoretos, são necessários.

Os alimentos, as bebidas, a água de consumo e os produtos odontológicos fluoretados são, atualmente, considerados as maiores fontes de ingestão de flúor. A maioria dos alimentos tem concentração de flúor menor que 500 µg/L. Os produtos odontológicos fluoretados têm concentrações de flúor variando entre 230 ppm ou 0,05% (soluções para bochecho) até 23.000 ppm ou 5% (vernizes fluoretados).³⁹ A concentração ótima de flúor na água depende da temperatura e para a maioria das regiões brasileiras é de 700 µg F/L, correspondendo à dose média diária de ingestão de flúor por litro de água.⁴⁰

Aproximadamente 75-90% do flúor ingerido é absorvido, sendo que mais de 50% do consumo diário de flúor é derivado da água ingerida. O flúor tem efeitos benéficos sobre os dentes quando presente em baixas concentrações na água potável, mas a exposição excessiva ao flúor presente na água, ou em combinação com a exposição vinda de outras fontes, pode dar origem a efeitos adversos. Estes variam desde uma fluorose dental leve a uma fluorose esquelética quando o nível e período de exposição aumentam.⁴¹ Como o flúor, além de estar presente na saliva natural, é um elemento extremamente usado em agentes de higiene bucal de uso diário, o presente protocolo experimental é relevante para avaliar se ataques corrosivos do flúor, em baixas concentrações, dentro da variação das concentrações de flúor encontradas na literatura^{5,11,12,52,61,62} (200 µg/L NaF), mas a longo prazo, causa corrosão de mini-implantes, o que pode levar à liberação de íons tóxicos das ligas de titânio. Estas condições poderiam simular melhor o ambiente bucal *in vivo*, visto que aliado à presença do flúor, o tempo poderia ser um fator decisivo na resistência à corrosão do titânio,^{27,52} principalmente referindo-se a mini-implantes que podem permanecer na cavidade bucal por meses até a conclusão do tratamento.

Uma vez que a inflamação dos tecidos peri-implantares está entre os principais fatores de falha dos mini-implantes, as soluções antissépticas com flúor têm sido frequentemente prescritas no intuito de evitar a formação de biofilme na superfície dos mini-implantes e,

assim, melhorar a sua estabilidade. Os mini-implantes de titânio são dispositivos inovadores para a planificação da ancoragem no tratamento ortodôntico, sabendo da presença constante de íons fluoreto na cavidade bucal, e da sua atuação na camada de óxido da superfície de titânio podendo aumentar a corrosão das ligas de titânio, este estudo avaliou a citotoxicidade dos extratos da corrosão dos mini-implantes imersos em saliva artificial fluoretada.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANCORAGEM E MINI-IMPLANTES

Ancoragem em Ortodontia é um recurso que se fundamenta na resistência ao deslocamento, e o desenvolvimento de mini-implantes, com a proposta de aumentar a ancoragem ortodôntica em todos os segmentos dos arcos dentais, possui grande aplicabilidade clínica. Os mini-implantes são parafusos produzidos a partir de uma liga de titânio (Ti-6Al-4V), que os torna mais resistentes à fratura e menos propensos à osseointegração, portanto mais seguros de serem instalados e mais fáceis de serem removidos do que se fossem construídos de titânio comercialmente puro.¹⁸

Os mini-implantes apresentam vantagens, quando comparados aos demais métodos de ancoragem tradicional e esquelética: baixo custo, técnica cirúrgica bastante simplificada, diâmetro reduzido possibilitando a sua colocação em diversas áreas do processo alveolar e osso basal, inclusive entre os ápices radiculares, alta versatilidade, estética e conforto para o paciente, fácil higienização, permanecem na boca apenas por poucas semanas ou meses até a conclusão do tratamento, dispensa a colaboração dos pacientes, minimiza ou até mesmo evita os movimentos dentários recíprocos indesejáveis, cicatrização rápida, facilidade de instalação e remoção após a conclusão do tratamento e são prontos para a carga imediata, reduzindo o tempo total da terapia ortodôntica.^{8,16,17,18,19,20} Estas características foram comprovadas em estudos realizados em animais, onde os resultados indicaram a boa estabilidade destes dispositivos durante a movimentação dentária, permitindo alcançar o movimento desejado, sem causar danos excessivos às raízes dos dentes, além de confirmar a facilidade de inserção e remoção destes dispositivos.¹⁵

Como regra geral, os mini-implantes podem ser indicados para os pacientes: 1) com necessidade de ancoragem máxima; 2) não colaboradores; 3) com unidade de ancoragem comprometida por seqüelas de problemas periodontais, por presença de reabsorção radicular ou por número reduzido de elementos dentários; 4) com necessidade de movimentos ortodônticos considerados complexos ou impossíveis para os métodos tradicionais de ancoragem.¹⁸

A efetividade dos mini-implantes foi comprovada em diversos relatos clínicos com diferentes finalidades terapêuticas, como intrusão de dentes anteriores, intrusão e distalização de molares superiores, estabilização de molares superiores e inferiores, retração em massa dos dentes anteriores, retração inicial de caninos, tracionamento de caninos impactados, verticalização de molares superiores e inferiores, mesialização e vestibularização de molares inferiores, bloqueio inter-maxilar em pacientes que irão ser submetidos à cirurgia ortognática e tratamento de pacientes adultos para correções de problemas ortodônticos com alta frequência de perdas dentárias e rejeição em usar aparelhos extrabuciais.^{16,18,20,21,22}

A utilização de mini-implantes na intrusão de incisivos, como coadjuvante do tratamento da sobremordida profunda e na intrusão de molares como auxílio da correção da mordida aberta é considerada um método de ancoragem ortodôntica eficiente, consistindo de um procedimento cirúrgico simples e que, devido ao seu tamanho reduzido, não causa danos irreversíveis aos tecidos de suporte.^{18,42}

A indicação destes dispositivos nos casos onde se deseja reduzir biprotrusões dentoalveolares por meio da retração dos dentes anteriores com o mínimo de perda de ancoragem dos dentes posteriores, parece ser altamente justificável, proporcionado o fechamento de espaço com o mínimo de movimentação dos dentes posteriores, além de não necessitar da cooperação do paciente e diminuir o tempo de tratamento.^{18,20,21}

Atualmente os implantes dentais são usados com sucesso para substituição de dentes perdidos, e representam uma alternativa dentro dos métodos de ancoragem ortodôntica tradicional, pois não se movimentam frente às forças ortodônticas, resistem a cargas de alta magnitude e a forças intermitentes de oclusão. Entretanto, sua instalação requer a presença de áreas edêntulas ou a utilização de regiões alternativas como a retromolar ou palatina. Também, possuem alto custo, necessitam de procedimentos cirúrgicos extensos, são limitados quanto à direção de aplicação de forças, podem dificultar a higienização e necessitam de um período para a osseointegração.^{8,18,19,20}

Um dos grandes objetivos no planejamento de um sistema de implantes é produzir respostas desejáveis nas células que estão em contato com o implante. Propriedades como a composição e estrutura do biomaterial parecem ter importante função nos fenômenos que ocorrem na interface biomaterial-tecido durante a resposta biológica.

2.2 TITÂNIO E SUAS LIGAS

O titânio foi identificado como um elemento metálico em 1791, por William Gregor, mas foi um químico alemão, Martin Heinrich Klaproth que, em 1795, o nomeou de titânio, fazendo uma alusão ao Titã da mitologia grega, reconhecido pela sua resistência e força. Apesar de ser conhecido há mais de duzentos anos, somente no meio do século XX se tornou comercialmente atrativo.⁴⁴

O titânio puro pode apresentar estrutura cristalina hexagonal compacta, chamada de fase alfa (α -titânio), ou uma estrutura cúbica de corpo centrado, denominada de fase beta (β -titânio), ou ainda uma estrutura intermediária nomeada de fase alfa-beta ($\alpha\beta$ -titânio). O α -titânio pode se transformar em β -titânio, sob uma temperatura de 883°C. Esta mudança da

estrutura cristalina influencia as propriedades do metal. A transição entre fases pode ser controlada pela adição de elementos na liga, chamados de estabilizadores. Sendo que o oxigênio, o nitrogênio e o carbono são elementos alfa estabilizadores e o ferro beta estabilizador. Desta forma, pode-se estabilizar o metal na fase cujo campo de aplicação seja mais desejado, de acordo com as propriedades mecânicas, custo e outros fatores que fazem parte do processo de seleção do material.^{29,33,44,45,46}

O titânio comercialmente puro (Ti cp) está disponível em diversos tipos ou graus, os quais são classificados de acordo com os seus níveis de pureza, principalmente ferro e oxigênio dissolvido, sendo que a resistência à corrosão aumenta com o aumento do conteúdo desse elemento. O grau 1 possui a mais alta pureza, e apesar de apresentar a menor resistência entre os tipos de titânio, ainda assim, é um material com boa resistência à corrosão numa grande variedade de ambientes, particularmente aqueles que contém íons cloro. O Ti cp grau 2 que possui no máximo 0,25% de oxigênio, 0,03% de nitrogênio, 0,30% de ferro, 0,10% de carbono e 0,015% de hidrogênio (ASTM* B265-94), é bastante usado na Odontologia em aplicações que exigem pouca força.^{33,45,46}

Apesar do titânio ter pobre resistência mecânica, é um metal com várias propriedades desejáveis e importantes, dentre elas incluem-se a baixa relação peso-volume, alta resistência por peso e alta resistência à corrosão e à fadiga. Devido a todos esses fatores é amplamente utilizado e sua biocompatibilidade o tornou atrativo para a Medicina e Odontologia, sendo usado em partes de válvulas cardíacas e implantes ortopédicos e dentários.^{33,44,45,46}

Nas ligas de titânio a proporção deste elemento varia de 85% a 95%, sendo que as propriedades mecânicas dessas ligas são melhoradas pela adição de alumínio, níquel, cobre ou vanádio.¹¹ A liga de titânio mais usada é a Ti-6Al-4V e contabiliza 50% de o todo titânio

*ASTM: *American Standard for Testing and Materials* – entidade voluntária de padronização de técnicas, materiais, sistemas e serviços.

utilizado no mundo atualmente.^{33,48} Nessa liga é esperado encontrar os seguintes elementos que participam da sua composição: Ti, N, H, Fe, O, C, Al, V.³⁰ Sua maior aplicação é nas situações que requerem maior resistência, como na indústria aeroespacial e na fabricação de próteses médicas. É utilizada em próteses parciais e totais de quadril, joelho, ombro, cotovelo, dedos e em parafusos de fixação óssea na maxila e mandíbula, pois na sua fase alfa-beta possui boa resistência à corrosão e é biocompatível.³³

Devido a preocupação sobre a biocompatibilidade de íons vanádio liberados da liga Ti-6Al-4V, a liga Ti-6Al-7Nb foi desenvolvida substituindo-se o vanádio pelo nióbio, ambos são componentes estabilizadores da fase beta, que mantém a resistência à corrosão. A presença do alumínio nesta liga garante propriedades mecânicas superiores ao Ti cp e torna esta uma liga alfa-beta, já que este elemento é um estabilizador da fase alfa.^{9,47}

A liga Ti-13Nb-13Zr também possui o nióbio como estabilizador da fase beta e o zircônio que pode ser um estabilizador em ambas as fases. Esta combinação torna possível o desenvolvimento de uma estrutura chamada fase beta “próxima”, que possui resistência à corrosão superior às ligas fase alfa-beta e ainda possui uma fase alfa suficiente para conferir boa resistência mecânica. Esta liga é mais favorável para implantes ortopédicos do que a Ti-6Al-4V por ser mais resistente à corrosão e mais biocompatível. As razões para esta superioridade residem no fato do zircônio e do nióbio serem menos solúveis que o alumínio e vanádio e liberarem menos produtos da corrosão. Além disto, a camada de óxido desta liga é mais inerte e confere mais proteção à liga abaixo da superfície.^{9,47}

As ligas utilizadas para fabricação de implantes, que ficarão permanentes no corpo humano devem apresentar resistência à corrosão, biocompatibilidade, osseointegração e biofuncionabilidade. Estas ligas devem ser livres de vanádio, como a liga titânio-alumínio-ferro (Ti-5Al-2,5Fe), que pertence à fase alfa-beta e é utilizada em endopróteses de quadril, joelho, coluna vertebral e em implantes dentários, além de todos os tipos de parafusos e placas

de fixação cirúrgica. Uma nova liga para implantes cirúrgicos, também livre de vanádio, é a titânio-alumínio-molibdênio-zircônio (Ti-5Al-3Mo-4Zr). É uma liga de fase alfa-beta que possui propriedades mecânicas e resistência ao desgaste e à corrosão superiores ao aço inoxidável austenítico. Outra liga de fase alfa-beta superior à liga Ti-6Al-4V, é a Ti-5Al-3V-2Mo-2Fe, que apresenta em sua microestrutura finos grânulos que fornecem grande plasticidade, boas propriedades mecânicas e resistência à corrosão, melhor indicada para a fabricação de bases para próteses dentais removíveis.³³

Segundo Yamazoe et al⁴⁹ (2007) a adição de uma pequena quantidade de platina ou paládio ao titânio é eficaz para melhorar a resistência à corrosão do titânio e suas ligas mesmo em um meio ácido fluoretado. No desenvolvimento de melhorias do desempenho das ligas, além das propriedades mecânicas, a resistência à corrosão é um fator fundamental para a utilização dos metais, visto que o fenômeno da corrosão pode alterar de forma decisiva o seu comportamento clínico, influenciando, inclusive, sua biocompatibilidade.^{33,44,45,46}

2.3 CORROSÃO

A corrosão é a perda do metal ou sua conversão em óxidos.⁵⁰ É um processo contínuo de degradação de um material, geralmente metálico, devido à ação química ou eletroquímica do meio ambiente, somada ou não a esforços mecânicos. Correntes de corrosão na boca podem ser percebidas como uma sensação de gosto metálico.⁵¹ Não obstante a corrosão do titânio esteja sedimentada na literatura,^{3,10,27,28,32,33,52,53} ainda existe uma lacuna a ser preenchida acerca deste comportamento quando nos referimos aos mini-implantes.

As características microbiológicas e enzimáticas da cavidade bucal constituem um ambiente favorável à corrosão e oxidação dos metais. A saliva, funciona como um eletrodo, o pH ácido (aproximadamente 6,5), a temperatura, a presença do biofilme dental, os ácidos orgânicos, a microbiota, as propriedades físicas e químicas dos alimentos e bebidas, tornam o

ambiente ideal para que a corrosão ocorra. Além de todos estes fatores, o oxigênio, que é fator essencial no fenômeno da corrosão, está presente em quantidades abundantes na cavidade bucal.⁵⁴

A superfície de todos os metais reage com o oxigênio para formar uma camada de óxidos que os proteja de uma possível corrosão,⁴ a qual ocorre devido à ionização metálica presente quando um metal é colocado numa solução eletrolítica.^{11,55}

Para as ligas a base de titânio, o alto conteúdo de titânio promove uma reação fácil com oxigênio da atmosfera devido a sua forte afinidade com o oxigênio. Portanto, esses materiais mostram uma tendência para formar uma camada de óxido estável e firmemente aderida à superfície. Esta camada proporciona proteção contra os efeitos prejudiciais dos meios agressivos, e é a responsável pela alta resistência à corrosão destes materiais.^{26,29,52} A formação da camada de óxido de titânio e a ruptura da sua passividade são influenciadas pela: variação de temperatura, tipo de liga utilizada, quantidade de liga exposta, alterações na técnica de fabricação e manipulação destas ligas, procedimentos de polimento, número de imperfeições da superfície do titânio antes da anodização e composição da saliva (incluindo concentração de flúor). O processo de destruição é também influenciado pela espessura da camada de óxido. Variações químicas, modificações estruturais e desgastes são algumas das alterações prejudiciais indesejáveis representadas pela deterioração do metal.⁵³

Os processos corrosivos podem ser classificados em dois grandes grupos de acordo com o tipo de ação do meio corrosivo sobre o material: corrosão eletrolítica e corrosão química. Os processos de corrosão eletrolítica ou corrosão em meio aquoso são mais frequentes na natureza e se caracterizam por ocorrerem necessariamente na presença de água no estado líquido, em temperatura ambiente. Nos processos de corrosão, os metais reagem com os elementos não metálicos presentes no meio, como o oxigênio, enxofre, gás carbônico,

produzindo compostos semelhantes aos encontrados na natureza, de onde foram extraídos.^{51,54,56}

Por outro lado, os processos de corrosão química ou oxidação em altas temperaturas são menos frequentes na natureza e são caracterizados pela ausência da água líquida e interações diretas entre o metal e o meio corrosivo, envolvendo operações onde as temperaturas são elevadas. Como na corrosão química não se necessita de água líquida, ela também é denominada de corrosão em meio não aquoso ou corrosão seca.^{51,56}

Frequentemente a corrosão ocorre de forma localizada, onde a remoção seletiva do metal ocorre em pequenas áreas, sobre a superfície. Como exemplos típicos, tem-se a corrosão por pites ou puntiforme (ocorre a formação de pontos profundos: pites), corrosão intergranular (ocorre entre grãos), corrosão em frestas (ocorre dentro de fendas ou rachaduras) e a corrosão galvânica. A corrosão galvânica é um processo corrosivo resultante do contato elétrico de materiais metálicos, com diferentes potenciais, em presença de um eletrólito.^{51,56}

Os íons fluoreto são íons agressivos à camada de óxido protetora de titânio e suas ligas e está presente em produtos de higiene como creme dentais e géis profiláticos, portanto a sua presença pode dar início a uma corrosão localizada por pites e em frestas, devido à formação de um complexo de moléculas de titânio fluoreto que são muito estáveis e solúveis nas soluções eletrolíticas.²

Teoricamente, a camada de óxido protetora não deveria ser danificada sob as condições encontradas no meio bucal.^{11,48} Entretanto, dentro da prática odontológica, a aplicação de soluções fluoretadas constitui uma forma bastante eficaz para o controle da doença cárie, e as ligas de titânio nesse meio, especificamente quando em pH reduzido, apresentam grande degradação. Portanto, cuidado deve ser tomado para prevenir corrosão do titânio durante longos tratamentos com substâncias que contêm flúor.^{4,53}

O fenômeno da corrosão também pode ser alterado por algumas substâncias, como as proteínas, que interagem diferentemente com cada liga, podendo inibir ou acelerar a corrosão de alguns metais. O papel das proteínas na corrosão é dependente de muitos fatores tais como a superfície química do metal, as características de absorção da proteína e a interação das moléculas proteicas com outros íons presentes na solução eletrolítica.^{9,47}

O emprego de mini-implantes como ancoragem ortodôntica está bem fundamentado na literatura,^{8,15,16,17,18,20} no entanto, existem ainda muitos fatores desconhecidos que podem afetar o sucesso clínico dos mini-implantes, dentre eles a biocompatibilidade das ligas utilizadas em sua fabricação.

Para minimizar os problemas causados pela corrosão quando ligas metálicas são utilizadas como implantes no corpo humano, é necessário uma melhor compreensão de alguns dos princípios básicos envolvidos no processo de corrosão.

2.4 BIOCOMPATIBILIDADE E CORROSÃO DO TITÂNIO

O titânio possui alta resistência à corrosão, o que lhe confere excelente biocompatibilidade, permitindo seu amplo uso na área da saúde. Além disso, é eletroquimicamente nobre, como o ouro e a platina, possuindo também o atributo da passivação, ou seja, ele é protegido por uma camada de óxido particularmente aderente e inerte, a qual se forma em sua superfície. Muitos metais, a exemplo do aço inoxidável 316L e das ligas cobalto-cromo, também possuem tal proteção, mas a camada que se forma na superfície do titânio apresenta-se especialmente inerte a ataques eletroquímicos.²⁹

Quando o titânio é exposto à atmosfera, inicia-se a formação de uma camada de óxido dentro de alguns nanossegundos (10^{-9} segundos). Depois de apenas um segundo essa película apresenta-se com aproximadamente 2 a 5 nanômetros de espessura. A razão para se formar

tão rapidamente uma camada de óxido, inicialmente óxido de titânio (TiO_2), é o fato desse metal possuir uma alta reação ao calor. Essa película é bastante aderente, além de ser muito resistente à corrosão e consideravelmente impenetrável ao oxigênio. Na verdade, esse delgado filme protetor impede que o oxigênio alcance o metal abaixo dele, conferindo, desse modo, seu caráter de impenetrabilidade.²⁹

A superfície de Ti consiste principalmente de uma camada de óxido coberta por uma camada de contaminantes de composição complexa, variando com o tratamento de superfície que o material recebe. O óxido da superfície consiste principalmente de TiO_2 .³⁰ A natureza da estrutura, composição e a exata espessura da camada de óxido, depende de muitos fatores associados a sua formação, que podem favorecer ou não a incorporação de contaminantes. Dentre esses fatores está o tipo de manufatura da peça, a rugosidade superficial e os procedimentos de esterilização, a limpeza e a passivação. Após a usinagem os implantes são submetidos a protocolos de limpeza e passivação. Os procedimentos de limpeza têm por objetivo eliminar resíduos orgânicos e inorgânicos, sujeiras, lubrificantes, crostas, óxidos (contaminantes) depositados sobre a superfície e dessa forma obter superfícies altamente reativas e com características aceitáveis para o uso cirúrgico.^{29,30} Meira et al³⁰ (2001) em um estudo para a caracterização de superfícies de titânio grau I, titânio grau II e Ti-6Al-4V submetidos a diferentes tratamentos térmicos mostraram que o Ti, O e C são os elementos dominantes na camada de óxido.

Não há definição aceitável universalmente para o termo “passivação”. Se um implante de metal é oxidado e este óxido não se altera sob condições fisiológicas, é dito que o metal está passivo ou “passivado”.⁴⁸ É possível que o tratamento da superfície com oxidação térmica, melhore a resistência à corrosão e reduza a liberação iônica pelo aumento da espessura da camada de óxido.³² Desta forma, todas essas etapas visam modular esta camada, tornando-a mais ou menos espessa. Com a alteração da camada de óxido por estes diversos

processos, impurezas como carbono, nitrogênio, cálcio, zinco, sílica e estanho podem ser introduzidas nesta camada, possivelmente adsorvidas do ar, dos tratamentos de preparo de superfície, manipulação e lubrificantes usados na usinagem. Quando se comparam os níveis de contaminantes na camada de óxido entre o titânio grau 1, 2 e a liga Ti-6Al-4V, esta última apresenta maior quantidade de impurezas, provavelmente em virtude da presença do alumínio e vanádio.^{29,30}

Enquanto as condições para se produzir uma ótima camada de óxido precisam ser mais entendidas, em geral, a película protetora do titânio não só proporciona boa resistência à corrosão, como também permite que esse metal seja colocado diretamente sobre tecidos duros e moles, estando, assim, bem próximo dos fluidos fisiológicos e proteínas do corpo. Acredita-se que dentre as razões para se conseguir essas propriedades estejam a alta aderência do TiO_2 quando comparado a outros óxidos.²⁹

O processo de repassivação da camada de óxido ocorrerá mesmo em um meio fluoretado dependendo da composição da liga, das características do meio bucal e das propriedades dos óxidos formados, que poderão ser diferentes do óxido original. Quando da desestruturação ou remoção completa do filme protetor da superfície do titânio, o mesmo apresenta um potencial reparador extremamente rápido e eficaz quando as condições do meio se normalizam, ou seja, o pH e a concentração de flúor, diluída pela saliva ou água, voltam aos níveis de normalidade.^{2,10,27,47}

Foram baseados na complexidade química pertinente à cavidade bucal que Strietzel et al²⁷ (1998) focalizaram, em seu estudo, o comportamento do titânio frente à corrosão, sob a influência de diferentes ânions manufaturados. Nesse estudo, *in vitro*, amostras de titânio puro (grau 1) foram estaticamente imersas em diferentes soluções corrosivas por um período de quatro semanas. Espectroscopia de absorção atômica foi usada para analisar as soluções semanalmente, determinando os íons liberados. A presença de íons fluoreto nas soluções

corrosivas aumentou em 10.000 vezes a liberação de íons de titânio quando comparada com soluções que continham cloreto ou tiocianato. A liberação de íons aumentou a extremos, acima de 500 μg ($\text{cm}^2 \times \text{d}$), na presença de flúor. Baixos valores de pH aceleram esse efeito ainda mais. Esse comportamento se justifica, segundo os autores, pelo fato do fluoreto reagir com os íons titânio da camada de óxido formando complexos solúveis. Uma vez desfeita essa camada protetora, a suscetibilidade à corrosão é aumentada. Clinicamente, nenhum efeito de corrosão foi observado. Apesar disso, os autores recomendam que é melhor evitar a presença de flúor ou reduzir o tempo de contato do mesmo com a superfície de titânio. Ânions inorgânicos exercem extrema influência na corrosão do titânio, que é suscetível a ataques gerais quando colocado em soluções contendo mais do que 20.000 $\mu\text{g/L}$ de íons fluoreto e com um pH abaixo de 6 a 7.⁵²

Focalizando o efeito do pH e da presença de flúor na corrosão de fios ortodônticos, Kao et al⁵ (2007) avaliando *in vitro* a citotoxicidade dos extratos de corrosão de fios ortodônticos de níquel-titânio (NiTi) e aço inoxidável (SS) em soluções fluoretadas, observaram que os extratos de corrosão dos fios de NiTi e SS em saliva artificial contendo fluoreto de sódio ácido (pH 3,5) podem causar toxicidade às células U2OS (linhagem de células de osteosarcoma humano).

Apesar do titânio possuir excelente biocompatibilidade, não tendo nenhum efeito evidente no crescimento de células, ele apresenta baixa resistência mecânica, podendo liberar produtos de corrosão sobre os tecidos adjacentes, quando submetido a estresse mecânico na cavidade bucal.²⁸

A liga de titânio Ti-6Al-4V contém alumínio, o qual foi associado às ligas de titânio com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas, aumentando a resistência à fadiga e à corrosão destas ligas quando comparado ao titânio comercialmente puro. O alumínio é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre na forma de óxido de alumínio (Al_2O_3) e é um

dos poucos elementos na natureza que parecem não apresentar nenhuma função biológica significativa. O alumínio está presente em fontes ambientais como alimentação e ar, tem muitas aplicações industriais e domésticas, é pouco absorvido pelo trato gastrointestinal e por isto somente pequena quantidade alcança a corrente sanguínea e talvez por isto ele seja tido como inofensivo. As doses aceitáveis na água potável estão em torno de 200 µg/L e 20.000 µg/dia é a ingestão estimada diária de alumínio, sendo que uma porcentagem mínima vem da água potável.⁵⁷ Mas a exposição a altas concentrações pode causar problemas de saúde.²⁵ Embora existam controvérsias,³⁵ a ingestão por muito tempo do alumínio em altas concentrações pode levar a sérios problemas de saúde, relacionados com neurotoxicidade, tal como a demência senil do tipo Alzheimer.^{28,34}

Com o mesmo objetivo de aumentar a resistência à fadiga e à corrosão das ligas de titânio, o vanádio foi acrescentado à liga Ti-6Al-4V. Considerado como um elemento relativamente tóxico como o níquel, o cobre e o cobalto, sua principal fonte são os alimentos. As concentrações de vanádio na água potável podem variar de 1 a 6 µg/L, dependendo da localização geográfica, e a ingestão média diária foi estimada em 20 µg/dia.⁵⁸ É um potente inibidor de muitas enzimas, podendo reduzir o nível de colesterol no sangue e alterar a atividade enzimática das células da resposta inflamatória.²⁵ A maior fração do vanádio ingerida não é absorvida, sendo excretada na urina ou nas fezes. A parcela absorvida do elemento, a qual é estimada em aproximadamente 5%, é retida principalmente pelos rins, ossos e fígado. Os efeitos no trato respiratório depois da sua inalação crônica são: rinite, faringite e bronquite.⁵⁸

A liga de titânio-alumínio-vanádio (Ti-6Al-4V) é extensamente usada em ortopedia há vários anos. No entanto, a liberação de íons vanádio tornou-se motivo de preocupação acerca da sua biocompatibilidade, a ponto de se desenvolver novas ligas de titânio sem este elemento. Deste modo, foram desenvolvidas ligas livres de vanádio como o titânio-alumínio-

nióbio (Ti-6Al-7Nb), o titânio-alumínio-ferro (Ti-5Al-2.5Fe), o titânio-alumínio-molibidênio-zircônio (Ti-5Al-3Mo-4Zr) e o titânio-zircônio-nióbio-tântalo-paládio (Ti-15-Zr-4-Nb-4-Ta-0,2Pd), por exemplo.^{26,28,31,33}

A liga contendo alumínio e ferro também é bastante apropriada para implantes, pois proporciona resistência à corrosão e propriedades mecânicas similares à liga com vanádio, além de não apresentar toxicidade. Apesar destas ótimas propriedades, estas ligas podem gerar íons metálicos, que podem se difundir através do filme de óxido do titânio e interagir com fluidos humanos, formando complexos e precipitados extremamente pequenos que, em contato com a água, podem formar hidróxidos ou óxidos e conseqüentemente alterar o pH local. Quando diferentes gradientes de pH aparecem entre distintas áreas do implante, existe a possibilidade de gerar e manter corrosão por fenda.⁵⁹

O comportamento de três ligas de titânio (Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb e Ti-13Nb-13Zr) em função do pH de três diferentes meios corrosivos, foi investigado por Khan et al⁹ (1999). Os autores concluíram que o acréscimo de proteína à solução salina tamponada com fosfatos (PBS) aumentou os valores de pH, reduzindo a influência deste sobre a corrosão, das três ligas analisadas.

Takemoto et al¹⁴ (2005) avaliaram as reações do flúor e albumina sobre a superfície do titânio em soluções contendo 2,0 g/L de flúor e 0,1 ou 1,0 g/L de albumina. Eles demonstraram que há uma diminuição da resistência à corrosão do titânio em presença de flúor e a albumina não somente eliminou a corrosão do titânio pelo flúor, como também, suprimiu a degradação do filme protetor, diminuindo a dissolução do titânio, porque aumentou a resistência à corrosão.

Ao avaliarem pastilhas de titânio imersas em soluções com diferentes concentrações de flúor e diferentes níveis de pH, Nakagawa et al¹⁰ (1999) relataram que o processo de corrosão ocorrido no titânio, quando da presença de íons flúor, foi dependente tanto da

concentração destes íons no meio, como também do pH da solução. Foi observada a corrosão do titânio mesmo quando da existência de uma baixa concentração de flúor, desde que o pH da solução fosse baixo. Do mesmo modo, o titânio apresentou corrosão também em pH elevado, desde que a concentração de íons flúor fôsse alta. Os autores concluíram que quanto maior a concentração de flúor e menor o pH da solução, maior a corrosão na superfície do titânio.

Kuphasuk et al³³ (2001) avaliaram a corrosão eletroquímica do titânio e ligas baseadas neste metal, por meio de testes *in vitro* e, após cada teste, o meio eletrolítico utilizado (solução de Ringer) foi analisado por meio de espectrofotometria de absorção atômica. Foi concluído comparando as cinco ligas consideradas (Ti-6Al-7Nb, Ti-5Al-2.5Fe, Ti-5Al-3Mo-4Zr, Ti-6Al-4V e níquel-titânio) e o titânio comercialmente puro, este último e a liga contendo ferro, foram as mais resistentes à corrosão, principalmente quando comparados à liga de níquel-titânio e a que continha vanádio. Quanto à liberação de íons no meio corrosivo, nenhum nível de detecção de produtos da corrosão foi apurado, exceto uma pequena quantidade de níquel na solução usada no teste da liga de níquel-titânio.

Raman et al³¹ (2005) também afirmaram que um importante parâmetro para se determinar a biocompatibilidade das ligas usadas em Odontologia é a corrosão. Neste trabalho, onde foi avaliado o comportamento eletroquímico do titânio e suas ligas em saliva artificial, concluíram que a liga Ti-6Al-7Nb exibiu alta resistência à corrosão, quando comparada ao titânio comercialmente puro.

A rugosidade superficial também influencia a resistência à corrosão do titânio. A avaliação desta propriedade e a liberação de íons de amostras de titânio comercialmente puro (grau 2) com diferentes morfologias superficiais, em solução de Hanks (solução salina tamponada com fosfatos), mostrou que, quando a rugosidade superficial é maior, a resistência à corrosão diminui e a taxa de liberação de íons aumenta.³² Reclaru e Meyer² (1998)

sugeriram que os íons de flúor poderiam danificar a camada protetora da superfície do titânio, com aumento da rugosidade superficial e o aparecimento de falhas em sua superfície.

A grande preocupação dos estudos sobre a liberação de íons, como produtos da corrosão de mini-implantes, advém do fato que, a quantidade liberada pelos dispositivos ortodônticos pode somar-se às concentrações ingeridas pela dieta normal e favorecer o aparecimento dos efeitos tóxicos da sobreexposição aos íons liberados. Portanto, há de se pesquisar no presente estudo, a ação do fluoreto de sódio presente em saliva artificial fluoretada com baixa concentração de flúor, em mini-implantes, por meio da análise da citotoxicidade dos extratos de corrosão.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se ocorre corrosão de mini-implantes ortodônticos de Ti-6Al-4V quando imersos por 30, 90 ou 180 dias em saliva artificial fluoretada com baixa concentração de flúor (200 µg/L NaF).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a citotoxicidade dos extratos da corrosão dos mini-implantes, após diferentes períodos de imersão em saliva artificial fluoretada, por meio da avaliação do metabolismo mitocondrial e/ou crescimento celular de células L929.
2. Avaliar possíveis aspectos de corrosão nas superfícies dos mini-implantes ao microscópio eletrônico de varredura (MEV), antes e após imersão em saliva artificial fluoretada.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

Os mini-implantes metálicos utilizados para ancoragem ortodôntica de três marcas comerciais - Conexão® Sistemas de Prótese (São Paulo, Brasil), Neodent Implante Osteointegrável® (Curitiba, Brasil) e SIN® - Sistema de Implante Nacional (São Paulo, Brasil) foram avaliados nesse estudo. Suas medidas eram 2x12, 1,6x11 e 1,6x12 mm (diâmetro x comprimento) respectivamente. Em uma mesma marca comercial, todos os mini-implantes pertenciam ao mesmo lote de fabricação. As composições das ligas estão apresentadas na Tabela 1, de acordo com informações dos fabricantes.

Tabela 1 – Características dos mini-implantes da liga Ti-6Al-4V.

MARCA COMERCIAL	COMPOSIÇÃO DA LIGA							LOTE	Nº DE AMOSTRAS	DIMENSÕES
	N	C	H	Fe	O	Al	V			
CONEXÃO®	nf	Nf	Nf	nf	nf	Nf	nf	6110146172	9	2x12 mm
NEODENT®	0,02	0,02	0,002	0,10	0,02	0,40	0,15	2405407	9	1,6x11 mm
SIN®	0,02	0,02	0,002	0,10	0,02	0,40	0,15	C7145	9	1,6x12 mm

Valores em porcentagem (%) máxima por peso. nf: não fornecido pelo fabricante

A Neodent e SIN aplicam aos implantes para ancoragem ortodôntica o titânio conforme a norma ASTM F136-02 - *Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminum-4Vanadium ELI (Extra Low Interstitial) Alloy for Surgical Implant Applications* (dados fornecidos pelos fabricantes).

Os mini-implantes foram adquiridos em embalagens próprias, já esterilizados, transferidos para tubos de vidro tipo *vacutainers* estéreis (B.D. Vactainer, Becton

Dickison Ind. Cirúrgicas Ltda, Juiz de Fora - MG, Brasil) e divididos em três grupos de acordo com o tempo de imersão (30, 90 ou 180 dias) em saliva artificial fluoretada (200 µg/L de NaF). A composição química da saliva utilizada foi: 0,40 mg/L de NaCl, 0,40 mg/L de KCl, 0,80 mg/L de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1,0 mg/L de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (uréia), fluoreto de sódio 200 µg/L em 1.000 mL de água destilada, pH= 6,76, sendo esterilizada por autoclavagem. Esta saliva é uma modificação da solução de Meyer,^{38,60} cuja atividade corrosiva, conteúdo de cloretos e fluoretos são semelhantes à saliva natural de indivíduos que utilizam flúor diariamente. A concentração de fluoreto na saliva utilizada como meio neste estudo foi baseada tanto em experimentos preliminares como em estudos anteriores^{5,11,12,24,27,52} que utilizaram diferentes soluções de fluoreto de sódio. Considerando também os resultados dos estudos de Oliveby et al⁶² (1989) e Vogel et al⁶¹ (1992) que demonstraram que a maior parte da população excreta de 9,5 a 62,7 µg de flúor por litro de saliva, dependendo da concentração de fluoreto na água e da utilização ou não de outras fontes de flúor.

O padrão da Organização Internacional para avaliação biológica de dispositivos médicos (*ISO 10993-5*)⁶³ preconiza que a quantidade de saliva utilizada em experimentos *in vitro* deve ser definida de acordo com o peso de cada mini-implante e de tal forma que o metal fique totalmente imerso. Nesse estudo, de acordo com a *ISO 10993-5*, utilizou-se a razão de 0,2 g de mini-implante para 1 mL de saliva. Para obter o peso dos mini-implantes, utilizou-se uma balança analítica (*Kern*, Modelo 410).

A *ISO 10271*⁶⁴, que padroniza a metodologia dos testes de corrosão dos materiais metálicos dentários, preconiza um período de imersão mínimo de 28 dias quando se pretende simular as condições bucais. Três amostras de cada marca de mini-implante foram imersas, isoladamente, em saliva artificial fluoretada, em tubos de vidro

hermeticamente fechados, e incubados a 37°C, sob condições estáticas, por 30, 90 ou 180 dias (Fig. 1).



Figura 1 – Amostras preparadas. Tubos vacutainers, hermeticamente fechados, com um mini-implante em cada, imersos em saliva artificial fluoretada, a serem levados à estufa a 37°C.

Após o preparo das amostras, os tubos foram levados a estufa a 37°C mantendo-os inertes. Após o período de imersão, os mini-implantes foram removidos, secos e armazenados em novos tubos *vacutainers* estéreis, que foram mantidos hermeticamente fechados até o momento das análises subsequentes. Os extratos dos mini-implantes, contendo os possíveis elementos da corrosão, foram colocados em tubos com fundo cônico (1,5 mL) e mantidos a 4°C até a realização das outras análises.

4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS *IN VITRO*

4.2.1 Cultura de células L929

Foi utilizada para a avaliação da citotoxicidade, a linhagem celular de fibroblastos murinos L929, mantidas em cultura em frascos de 75 cm³ (*Costar, Cambridge, MA, USA*), em meio de cultura completo, composto de RPMI 1640 (*Gibco BRL, Grand Island, NY, USA*), tamponado com Hepes 10 mM e suplementado com 5% de Soro Fetal Bovino (SFB Gibco), L-Glutamina 2 mM (*Sigma Chemical Co., ST. Louis, MO, USA*), bicarbonato de sódio 11 mM, 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma). Após a formação da monocamada de células L929, por um período de 24 h, a 37°C e atmosfera úmida contendo 5% de CO₂, o meio de cultura era removido e as células lavadas com 1 mL de meio incompleto (RPMI 1640 sem SFB). Em seguida, as células eram tratadas com uma solução de tripsina 0,025% (*Sigma*) até desprenderem do frasco de cultura. Após a tripsinização, as células ressuspensas em 5 mL de meio de cultura eram transferidas para um tubo plástico de 50 mL (*Costar*) e em seguida centrifugadas a 2.000 rpm, por 10 minutos, à temperatura de 15°C. Para a manutenção das culturas, as células eram novamente cultivadas em meio completo (1 x 10⁵ células /mL). Para o ensaio de citotoxicidade, as células ressuspensas em meio completo eram ajustadas para a concentração de 3,5 x 10⁴ células/100 µL, após a quantificação em hematocitômetro.

4.2.2 Ensaio de citotoxicidade

Cem microlitros da suspensão de células L929 foram pipetados em placas de fundo chato de 96 poços (*Costar Cambridge, MA, USA*) e as placas foram incubadas por 24 h em estufa umidificada contendo 5% de CO₂, a 37°C, para obtenção da monocamada de células. Passado este período, e confirmada a obtenção de monocamada por meio de microscopia de luz, foram adicionadas 10 µL de cada extrato dos mini-implantes, bem como 10 µL da saliva artificial fluoretada (Fig. 2). A

quantidade de extrato foi usada em um volume que não diluísse significativamente o meio de cultura. Todos os extratos das amostras utilizadas foram testados em triplicatas em todas as placas. As placas foram incubadas em estufa umidificada contendo 5% de CO₂, a 37°C, por mais 24 h.

A citotoxicidade foi revelada pelo ensaio colorimétrico do MTT (3-{4,5-dimetiltiazol-2il}-2,5-difenil brometo de tetrazólio). Esse ensaio determina alterações no metabolismo celular, podendo considerar inibição do crescimento das células e/ou morte celular. Este é um teste sensível, que avalia o metabolismo energético mitocondrial e baseia-se na conversão do sal amarelo de (3-{4,5dimetiltiazol-2il}-2,5-difenil brometo de tetrazólio) em um precipitado formazan púrpura pela ação da enzima desidrogenase mitocondrial das células. A densidade óptica (D.O) foi obtida por meio do leitor de microplacas. Desta forma quanto maior o metabolismo celular, maior a cor desenvolvida.⁶⁶

Após o período de incubação de 24 h foram adicionados às células com os extratos, meio ou saliva controle, 10 µL de solução de MTT (5mg/mL em PBS). Em seguida as placas eram incubadas por 3 h em estufa umidificada contendo 5% de CO₂, a 37°C. Após este período de incubação, 100 µL de solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 10% em ácido clorídrico (HCl) 0,01 N foram adicionados em todos os poços, para dissolver os cristais de formazan gerados pelo metabolismo mitocondrial celular, e as placas foram novamente incubadas por cerca de 24 h, a 35°C (Fig. 2). A densidade óptica (D.O) de cada poço foi obtida em leitora de microplacas (*Thermo Labsystems-Original Multiskan*, Modelo 352) usando filtro a 550 nm, tendo uma coluna de branco com poços sem células, contendo apenas meio de cultura (100 µL) tratado igualmente às amostras, para descontar qualquer coloração de fundo. Os resultados foram expressos em densidade óptica (D.O). Para controle da qualidade da cultura celular, alguns poços

continham células cultivadas apenas em meio de cultura, cuja D.O corresponde a 100% de atividade metabólica. A avaliação qualitativa foi realizada pelo exame microscópio da células para verificação de mudanças na morfologia geral e lise celular.

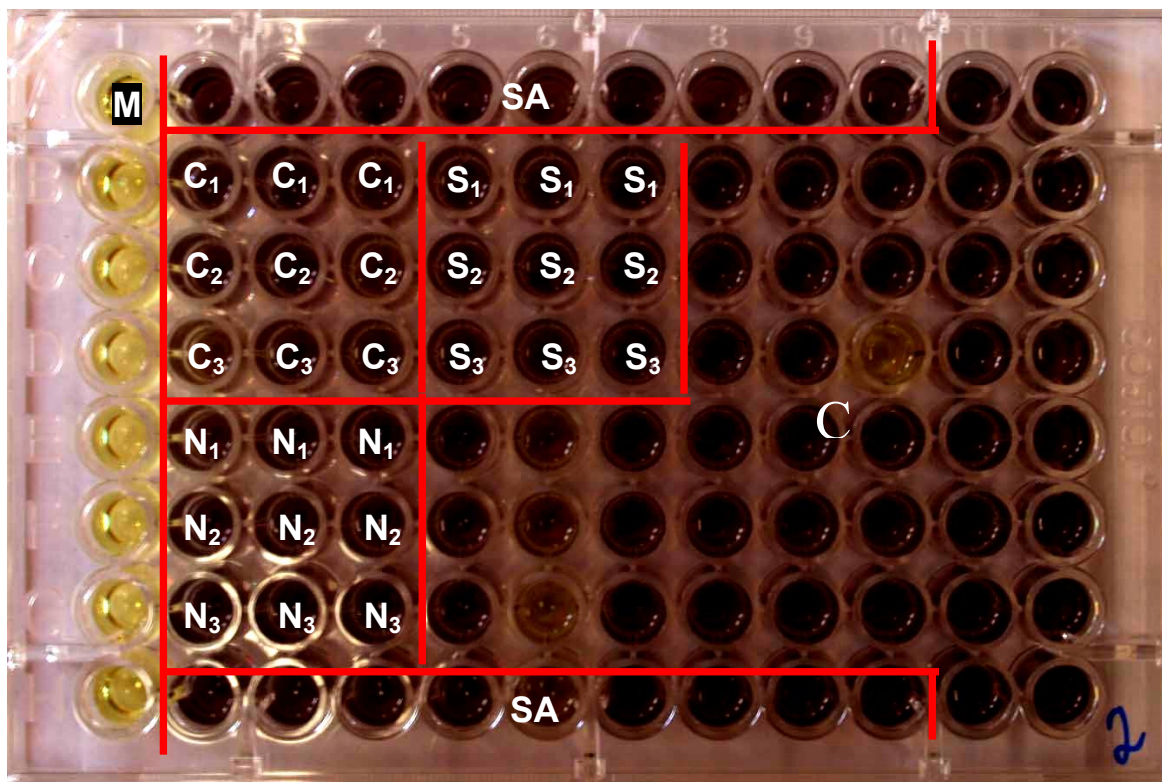


Figura 2 - Ensaio de citotoxicidade. (M) Meio completo, sem células. (C) Meio com células, sem nenhum extrato. (SA) Saliva artificial fluoretada 200 µg/L NaF (controle negativo). Os poços que receberam os extratos dos três mini-implantes da marca Conexão® (“C₁, C₂ e C₃”), foram testados em triplicatas sempre na sequência indicada acima, assim como os mini-implantes das marcas Neodent® (“N₁, N₂ e N₃”) e SIN® (“S₁, S₂ e S₃”).

4.3 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DOS MINI-IMPLANTES SOB MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para verificar qualitativamente as características das superfícies dos mini-implantes em relação a presença de imperfeições e de possíveis áreas de corrosão, uma amostra de cada marca comercial, após cada período de imersão, foi escolhida arbitrariamente e examinada sob microscopia eletrônica de varredura (JEOL modelo

JSM5410). Da mesma forma, foi selecionado um mini-implante de cada fabricante, que não foi imerso em saliva artificial, para servir de controle do experimento. As imagens foram descritas baseadas na análise visual da morfologia externa dos mini-implantes, principalmente na região que fica exposta na cavidade bucal, com aumentos de 35x e 1000x.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como medianas. Para comparações entre dois grupos (controles x extratos) num mesmo período de avaliação, o teste t de Student foi utilizado. Foi usado o programa *Graph Pad PRISM Software – Version 4.0 (San Diego, CA, EUA)*, sendo consideradas diferenças significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DOS EXTRATOS DE MINI-IMPLANTES ORTODÔNTICOS

A avaliação dos efeitos citotóxicos dos extratos de mini-implantes ortodônticos, de três marcas comerciais, foi realizada por meio do ensaio colorimétrico do MTT, nas culturas de células L929, após três períodos de imersão em saliva artificial fluoretada (200 µg/L NaF), em três experimentos consecutivos.

Após 24 horas de cultura em estufa, não foi detectada inibição da atividade metabólica das células analisadas (Fig. 3), nem alteração morfológica da monocamada das células (Fig.4), que apresentaram aspecto similar ao controle negativo.

Os resultados foram similares para os mini-implantes das três marcas comerciais avaliadas, para os extratos provenientes dos mini-implantes imersos em saliva com 200 µg/L de fluoreto de sódio nos períodos de 30, 90 ou 180 dias (Fig. 3).

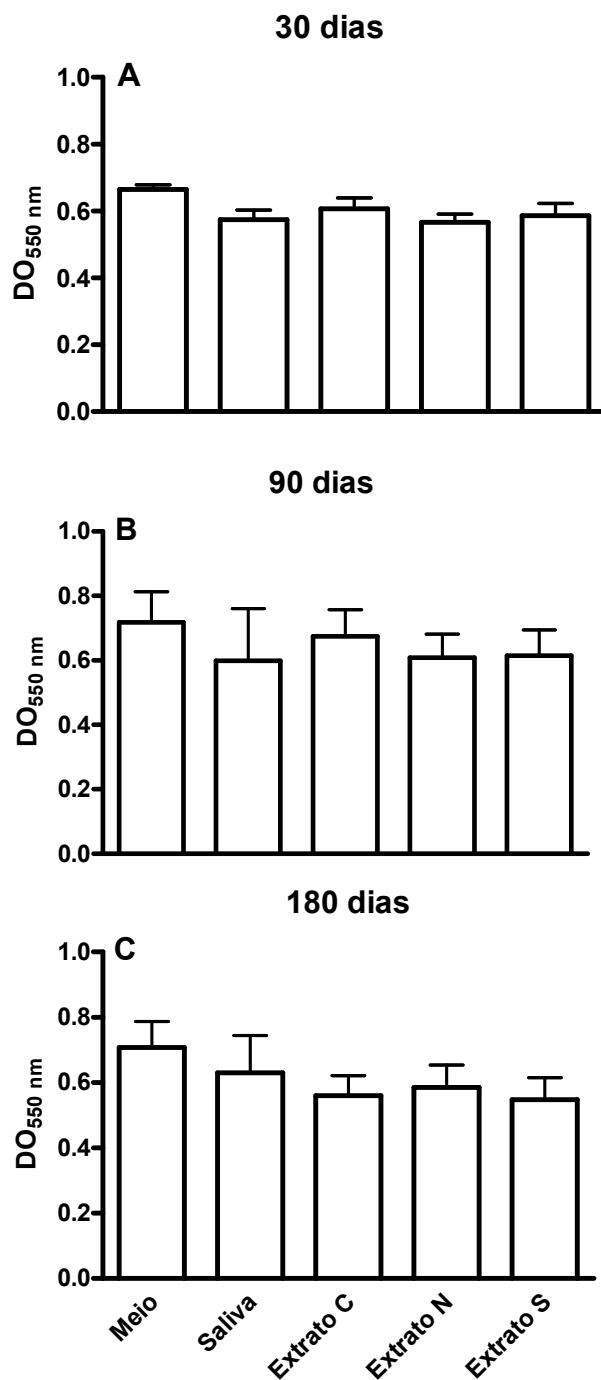


Figura 3. Extratos de mini-implantes ortodônticos, após imersão em saliva artificial fluoretada por longos períodos, não são citotóxicos. Ensaio colorimétrico do MTT para os extratos após 30 (A), 90 (B) ou 180 (C) dias de imersão em saliva artificial contendo 200 µg/L de fluoreto de sódio. Os dados representam a mediana de três experimentos consecutivos (n = 3 extratos por grupo). C = Conexão, N = Neodent, S = SIN, D.O = densidade óptica em filtro de 550 nm, meio = células + meio, saliva = células + meio/saliva e extrato C, N e S = células + meio/ extratos .

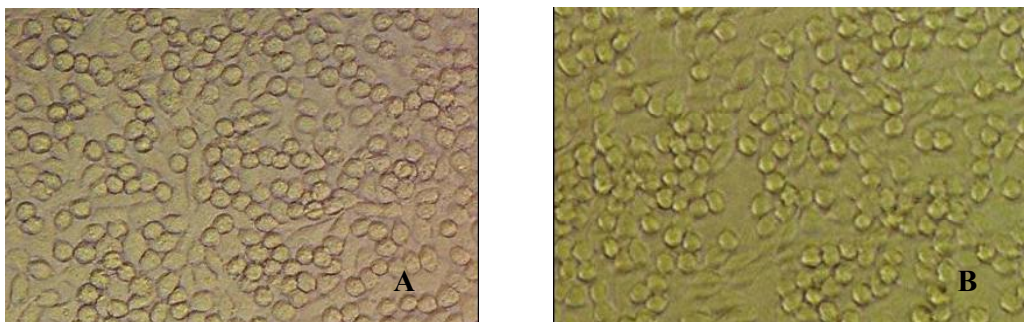


Figura 4. Aspecto morfológico das células L929 cultivadas na ausência (A) ou presença (B) dos extratos. As células foram distribuídas ($3,5 \times 10^4$ células/100 μ L de meio) para obtenção da monocamada (24 h, 37°C, 5% de CO₂) e depois 10 μ L de cada extrato foram adicionados às células, e as placas foram incubadas por adicionais 24 h. Microscopia de luz, com magnitude de 400x.

5.2 ANÁLISE DAS SUPERFÍCIES DOS MINI-IMPLANTES SOB MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada para evidenciar um possível efeito de corrosão da saliva artificial fluoretada na superfície dos mini-implantes. Com o objetivo de ilustrar as características das superfícies dos mini-implantes em relação a presença de imperfeições e de possíveis áreas de corrosão, um mini-implante de cada marca comercial foi escolhido arbitrariamente, antes e depois dos períodos de imersão em saliva artificial fluoretada e examinados sob microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A análise de uma superfície do mini-implante da marca Conexão® que não foi imerso em saliva artificial fluoretada quando observado ao microscópio eletrônico de varredura, apresentou uma topografia regular com partículas aderidas e manchas escurecidas abaixo delas no plano avaliado (Fig. 5A e 5B). A superfície examinada do mini-implante escolhido após cada período de imersão (Fig. 5C, 5D, 5E, 5F, 5G e 5H) apresentou pequena quantidade de partículas aderidas e topografia semelhante ao controle. Notam-se nas amostras, manchas esbranquiçadas que advém, provavelmente, dos componentes da saliva artificial. Assim, estas manchas não sugerem que o mini-

implante tenha sofrido corrosão (Fig. 5F e 5H). Uma região mais rugosa na amostra avaliada de 30 dias, chamou a atenção (Fig. 5C).

A superfície examinada do mini-implante da marca Neodent® (Fig. 6A e 6B) que não foi imerso em saliva artificial fluoretada apresentou aspecto liso e regular, com algumas partículas aderidas em sua superfície e poucos pontos escuros no plano avaliado. A superfície avaliada de três amostras desta marca comercial, após os períodos de imersão de 30 (Fig. 6C e 6D), 90 (Fig. 6E e 6F) ou 180 (Fig. 6G e 6H) dias apresentou uma alteração da coloração com maior número de pontos escurecidos em suas superfícies, principalmente na amostra de 180 dias (Fig. 6H). Com exceção da amostra avaliada após 30 dias de imersão, que apresentou uma alteração na superfície do plano avaliado (Fig. 6D), as outras duas amostras (90 e 180 dias) apresentaram aspecto liso e regular, semelhante ao controle.

A análise de uma superfície do mini-implante da marca SIN®-Sistema de Implante Nacional, que não foi imerso em saliva artificial, também apresentou uma superfície lisa e regular, com algumas partículas aderidas (Fig. 7A e 7B). A superfície avaliada de três amostras dessa marca, que foram escolhidas após os três períodos de imersão em saliva artificial fluoretada, apresentaram semelhança ao controle (Fig. 7C, 7D, 7G, 7H), exceto por uma área na cabeça do mini-implante da amostra de 90 dias que apresentou uma superfície mais áspera, com uma rugosidade maior (Fig. 7F).

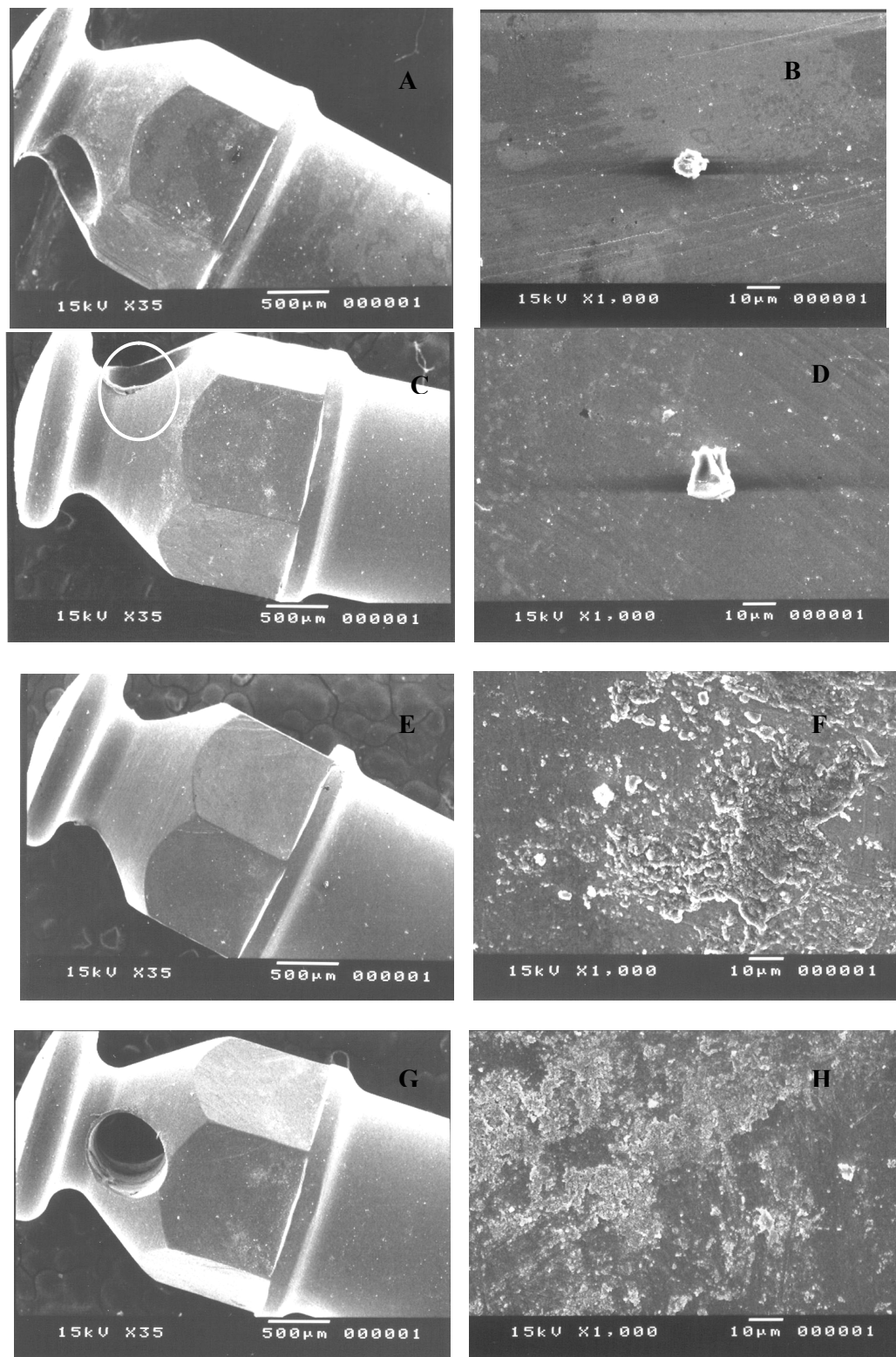


Figura 5 – Fotomicroscopia de mini-implantes Conexão®. Em (A), (C), (E) e (G) microscopia de mini-implantes controle, imersos por 30, 90 ou 180 dias, respectivamente (aumento 35x) e (B), (D), (F), e (H) detalhe dos respectivos mini-implantes (aumento 1000x). Em (C) o círculo indica uma região mais rugosa.

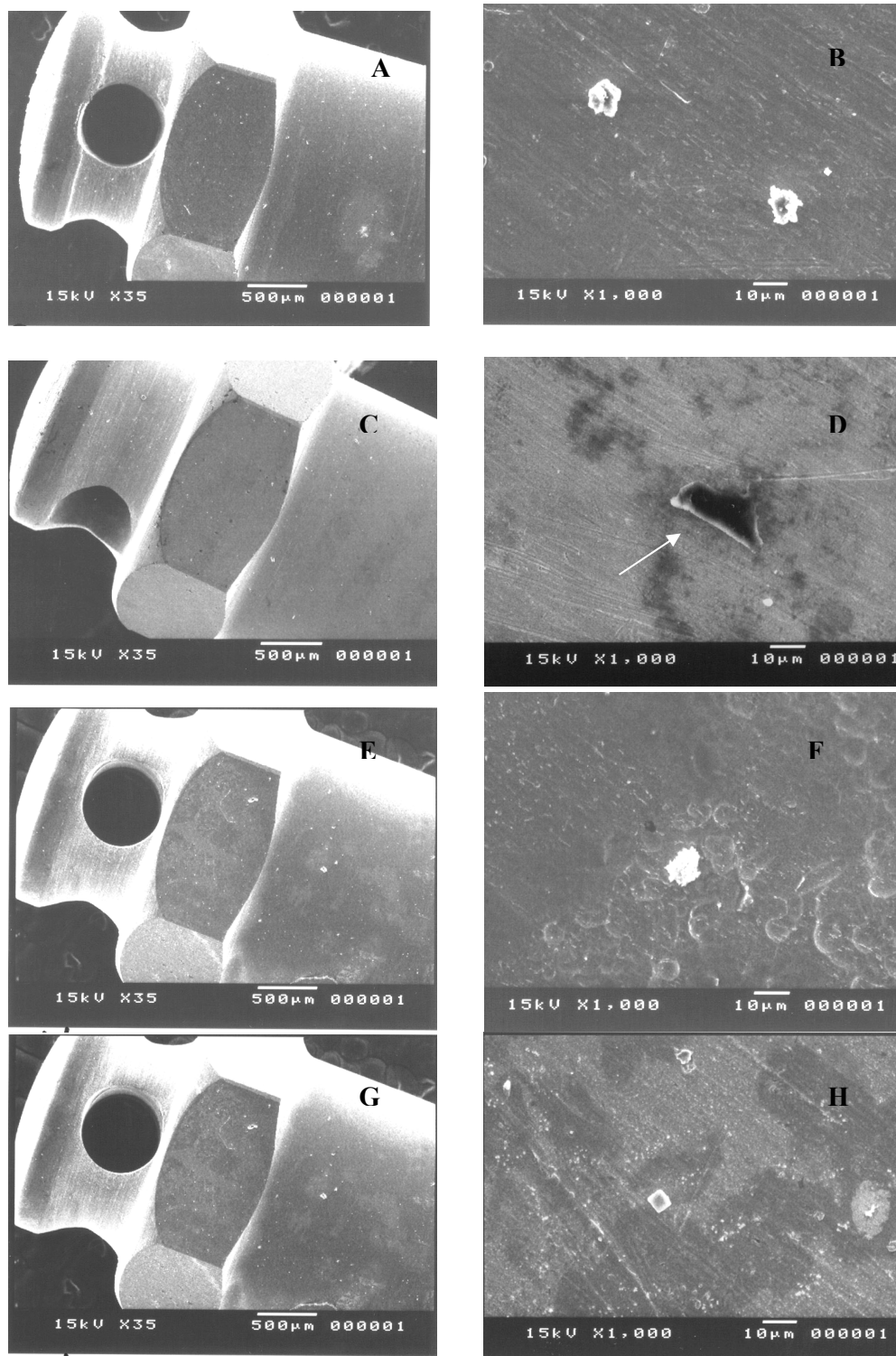


Figura 6 – Fotomicroscopia de mini-implantes Neodent®. Em (A), (C), (E) e (G) microscopia de mini-implantes controle, imersos por 30, 90 ou 180 dias, respectivamente (aumento 35x) e (B), (D), (F), e (H) detalhe dos respectivos mini-implantes (aumento 1000x). Em (D) a seta indica uma alteração na superfície avaliada.

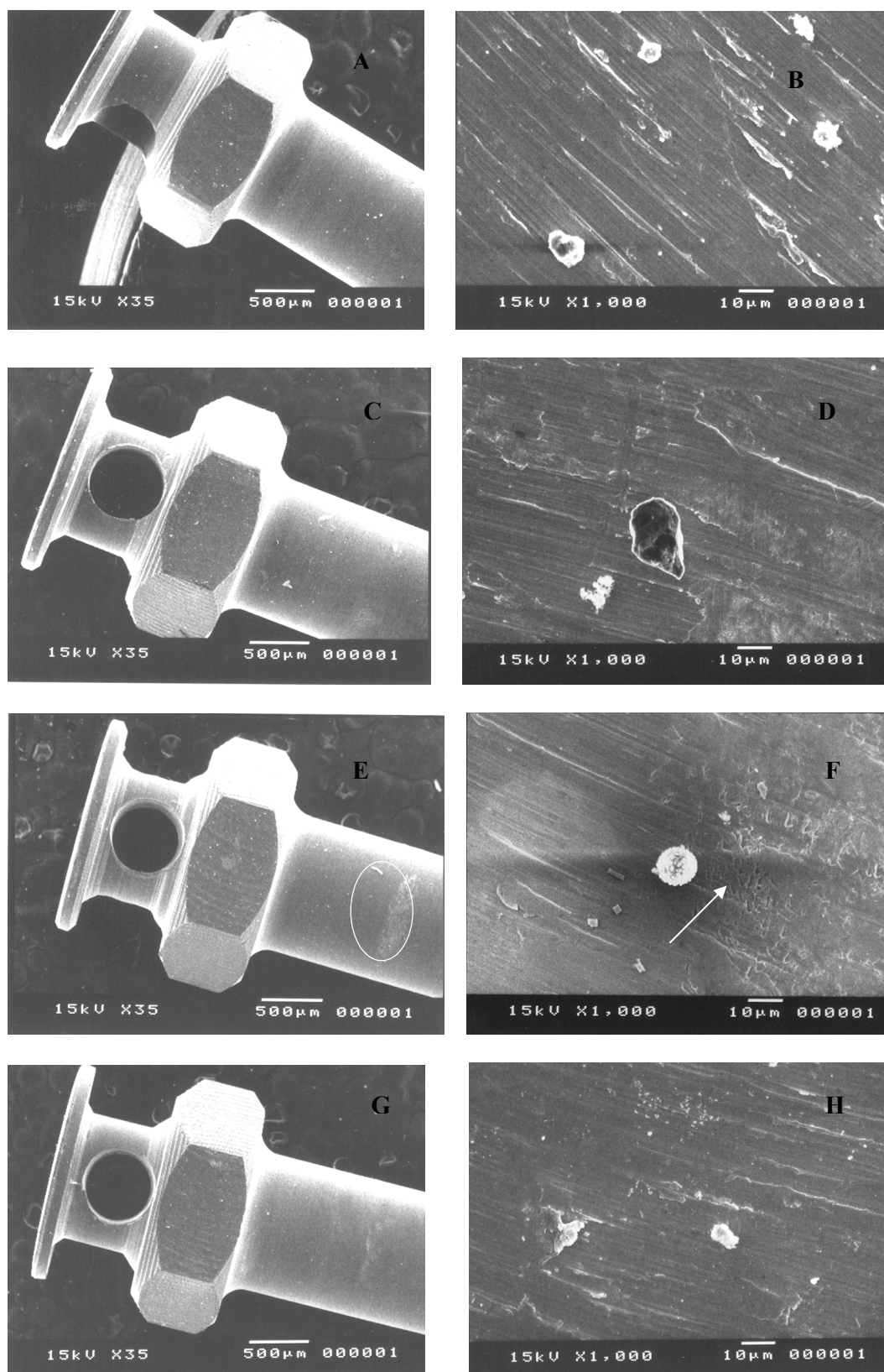


Figura 7 – Fotomicroscopia de mini-implantes SIN®. Em (A), (C), (E) e (G) microscopia de mini-implantes controle, imersos por 30, 90 ou 180 dias, respectivamente (aumento 35x) e (B), (D), (F), e (H) detalhe dos respectivos mini-implantes (aumento 1000x). Em (E) o círculo indica uma área que apresentou uma superfície mais áspera e em (F) a seta indica uma superfície com uma rugosidade maior.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Neste trabalho os extratos nos quais foram imersos os mini-implantes, foram avaliados quanto ao seu poder citotóxico em culturas de células L929, que é uma linhagem de célula recomendada e bastante usada para esta finalidade.^{24,37,43,65,69} Os resultados indicaram que todos os extratos de todos os mini-implantes testados, nos três períodos de imersão, não afetaram a viabilidade celular, nem diminuíram o metabolismo das células em questão, demonstrando que eles não foram citotóxicos à linhagem de células estudadas, concordando com os resultados dos trabalhos que sustentam a alta biocompatibilidade do titânio e suas ligas.^{24,27,28,29,31,43} Portanto, os dados indicam que, em baixas concentrações, mesmo após um longo período de exposição, em condições estáticas, o flúor não causou a liberação de íons tóxicos dos mini-implantes de titânio ou os íons liberados não atingiram concentrações tóxicas. Deste modo, os dados sugerem alta resistência da liga de titânio dos mini-implantes à corrosão, confirmando sua elevada biocompatibilidade.

Nos últimos anos tem sido relatado que em meio ácido (cavidade bucal) e na presença de íons fluoreto a resistência à corrosão de certos materiais, particularmente Ti e ligas de Ti, pode diminuir.⁶⁷ Em um estudo feito por Huang⁶⁸ (2007) a resistência à corrosão de Ti e suas ligas diminuiu com o aumento da concentração de fluoreto de sódio em saliva artificial. No presente estudo, a saliva artificial continha flúor em concentração baixa próxima à encontrada na saliva natural e não promoveu alteração da resistência à corrosão dos mini-implantes de Ti-6Al-4V.

Uma característica da saliva artificial, proposta por Hwang et al⁶⁰ (2001) e utilizada no presente trabalho como solução de imersão, é o pH de 6,76, próximo ao pH da cavidade bucal e que se manteve estável durante toda a fase experimental. Segundo

Park e Shearer³⁸ (1983) esta solução seria um meio ideal para liberação de íons pois se assemelha à saliva natural, porém neste trabalho ela foi alterada por acréscimo de 200 µg/L NaF. De acordo com Popa et al²⁵ (2004), alterações de pH exercem baixa influência na suscetibilidade à corrosão do titânio e algumas ligas, inclusive a liga com alumínio e vanádio. Esta afirmação, entretanto, difere dos resultados dos trabalhos de Strietzel et al²⁷ (1998), Levine e Staehle⁵⁹ (1977), Khan et al⁹ (1999), Nakagawa et al¹⁰ (1999) os quais afirmam que diferentes gradientes de pH afetam sobremaneira o desempenho do titânio e suas ligas, principalmente a liga Ti-6Al-4V. Neste trabalho o pH de 6,76 presente na saliva fluoretada utilizada para imersão não promoveu a corrosão da liga de Ti-6Al-4V.

A presença de íons fluoreto nas soluções corrosivas podem exercer extrema influência na corrosão do titânio. Este comportamento é justificado pelo fato do fluoreto reagir com os íons titânio da camada de óxido, formando complexos solúveis e aumentando a suscetibilidade à corrosão.^{27,45} Segurado⁴³ (2006) avaliando a citotoxicidade e resistência à corrosão de mini-implantes ortodônticos de Ti-6Al-4V após 30 ou 60 dias de imersão em saliva artificial não fluoretada, pH 6,76, já havia ressaltado a importância de se avaliar a influência do flúor na resistência à corrosão dos mini-implantes, uma vez que em seu estudo, esses dispositivos apresentaram-se resistentes à corrosão nos dois períodos de imersão em saliva sem flúor, e isto poderia ser um fator decisivo quanto à resistência à corrosão do titânio, haja vista a presença constante de fluoreto em agentes de higiene bucal de uso diário.

Partindo da necessidade de se avaliar a influência do flúor na corrosão de mini-implantes de titânio, Fernandes Neto²⁴ (2007) avaliou a citotoxicidade dos extratos da corrosão de mini-implantes de Ti-6Al-4V quando imersos em diferentes concentrações de fluoreto de sódio (baixa-200 µg/L e alta-2 g/L), por um curto período de tempo (32

dias), pH de 6,76 e condições estáticas. Após avaliar os extratos da corrosão, não foi observada citotoxicidade, como verificado pela ausência de alterações significantes no crescimento, morfologia ou metabolismo celular. Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, onde optou-se por avaliar a resistência de mini-implantes de titânio à corrosão induzida pelo flúor por meio da imersão em saliva artificial fluoretada com baixa concentração de flúor (200 µg/L NaF) e pH 6,76, aproximando-se do neutro. Porém, por um maior período de tempo (30, 90 ou 180 dias) visto que aliado à presença do flúor, o tempo poderia ser um fator decisivo na resistência à corrosão do titânio.²⁷

Mini-implantes adquiridos diretamente de seus fabricantes e absolutamente prontos para o uso clínico foram avaliados nesse trabalho. Todas as amostras desses mini-implantes que foram avaliadas microscopicamente receberam um banho de ouro para que as imagens ficassem melhores, e isso impossibilitou a utilização dos mini-implantes utilizados como controles para a imersão em saliva artificial fluoretada. A avaliação das superfícies desses mini-implantes, sob microscopia eletrônica de varredura, demonstrou que as amostras avaliadas não sofreram corrosão evidente, confirmando a alta resistência à corrosão destes mini-implantes, mesmo que estes sejam compostos por uma liga reconhecidamente menos resistente quando comparada com outras que não possuem o vanádio coligado, como foi descrito previamente em outros trabalhos.^{9,28,31,33}

Há de se ressaltar que apesar da comprovação da boa resistência à corrosão e biocompatibilidade dos mini-implantes em questão, a superfície da amostra avaliada das marcas comerciais Conexão® (30 dias), Neodent® (30 dias) e SIN® (90 dias) que foram avaliadas microscopicamente, demonstraram áreas com alterações e rugosidades sugestivas de defeito de fabricação. A interpretação destes resultados para estas

amostras, deve despertar especial atenção acerca da corrosão, mesmo que estas zonas com maior rugosidade sejam defeito de fabricação, porque isto pode influenciar o filme de óxido e conduzir a corrosão de regiões isoladas.

Estas zonas de irregularidade, com maior rugosidade na amostra avaliada dos mini-implantes das marcas Conexão® (30 dias), Neodent® (30 dias) e SIN® (90 dias) podem representar defeitos de fabricação desses mini-implantes, que possivelmente não foram vistos no controle devido ao fato da microscopia eletrônica de varredura examinar somente um plano da amostra e, deste modo, estes defeitos podem estar nas faces não avaliadas, uma vez que todos dispositivos pertenciam ao mesmo lote de fabricação. Mesmo assim, se não forem áreas de corrosão, propiciam a ocorrência desta.

Segurado⁴³ (2006), avaliando microscopicamente mini-implantes ortodônticos dessas mesmas marcas, também não constatou presença de corrosão, apesar de ter encontrado rugosidades na superfície avaliada da amostra escolhida da marca SIN® de 30 ou 60 dias de imersão em saliva artificial não fluoretada.

Mele e Cortizo⁵³ (2000), em um estudo sobre o comportamento eletroquímico do titânio em saliva artificial fluoretada, observaram que a suscetibilidade a ataques de corrosão da camada de óxido foi mais significativa nas amostras com maior número de imperfeições detectadas por microscopia. A ruptura da camada protetora do titânio também pode ser causada pelo desenvolvimento de forças tensional ou compressiva e variar de zero a valores altos o bastante para rompê-la.

Levando-se em consideração que neste trabalho, bem como no de Segurado (2006)⁴³ as amostras permaneceram incubadas em condições estáticas e, por conseguinte, não sofreram desgaste, estes defeitos nas superfícies dos mini-implantes tornam-se preocupantes, uma vez que em um experimento com simulação de desgaste,⁴⁷ poderia ser liberada uma maior quantidade de produtos oriundos de corrosão que

poderiam ser nocivos, pois a camada de óxido protetora desta região estaria alterada e não impediria o fenômeno da corrosão. Esta observação é notável no trabalho de Chen et al³² (1998) que constataram uma grande influência da rugosidade superficial sobre a resistência à corrosão do titânio, mostrando que quanto maior a rugosidade, menor esta resistência. Essa rugosidade superficial pode afetar a estabilidade dos mini-implantes, uma vez que, quanto maior a rugosidade e os defeitos na superfície dos dispositivos utilizados, maior será a formação de biofilme na superfície dos mini-implantes, aumentando a chance de inflamação dos tecidos peri-implantares.

As condições dos experimentos do presente trabalho foram próximas às encontradas na cavidade bucal, apresentando variáveis como baixa concentração de flúor, pH próximo ao neutro, longo período de tempo de imersão, utilização de dispositivos prontos para serem instalados clinicamente e condições estáticas, além do armazenamento dos extratos em geladeira, os quais não foram suficientes para promover a citotoxicidade dos extratos de corrosão da liga de Ti-6Al-4V utilizada nos mini-implantes ortodônticos avaliados.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Os dados mostraram que os mini-implantes das três marcas comerciais apresentam boa resistência à corrosão à saliva fluoretada, na concentração de flúor utilizada e nos períodos avaliados.

Após 30, 90 ou 180 dias de imersão dos mini-implantes de titânio em saliva artificial fluoretada (200 µg/L NaF), os extratos não apresentaram citotoxicidade, verificada pela ausência de alterações significantes no crescimento, morfologia ou metabolismo de células L929.

Os mini-implantes avaliados sob microscopia eletrônica de varredura após os períodos de imersão, não apresentaram aspectos de corrosão nas suas superfícies, sendo similares às amostras controle.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

1. MOYERS, R.E. **Ortodontia**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
2. RECLARU, L; MEYER, J.M. Effects of fluorides on titanium and other dental alloys in dentistry. **Biomaterials**, v. 19, n. 1/3, p. 85-92, 1998.
3. CANAY, S. et al. Evaluation of titanium in oral conditions and its electrochemical corrosion behaviour. **J Oral Rehabil**, v. 23, n.10, p. 759-764, 1998
4. MENEZES, L.M. et al. Avaliação da superfície de braquetes de titânio após a aplicação de fluoreto de sódio. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 11, n.3, p. 93-103, maio/jun. 2006.
5. KAO, C.T. et al. Cytotoxicity of orthodontic wire corroded in fluoride solution in vitro. **Angle Orthod**, v. 77, n. 2, p. 349-354, 2007.
6. ELIADES, T. et al. Characterization and cytotoxicity of ions released from stainless steel and nickel-titanium orthodontic alloys. **Am J Orthod Dentofac Orthop.**, v. 125, p. 125-129, 2004.
7. VON FRAUNHOFER, J.A. Corrosion of Orthodontic Devices. **Semin Orthod.**, v. 3, p. 198-205, 1997.
8. PARK, H.S.; BAE, S.M.; KYUNG, H.M. Micro-implant anchorage for treatment of skeletal Class I bi-alveolar protrusion. **Int J Clin Orthod**, v. 35, p. 417-422, 2004.
9. KHAN, M.A.; WILLIAMS, R.L.; WILLIAMS, D.F. The corrosion behavior of Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb and Ti-13Nb-13Zr in protein solutions. **Biomaterials**, v. 20, p. 631-637, 1999.
10. NAKAGAWA, M. et al. Effect of fluoride concentration and pH on corrosion behavior of titanium for dental use. **J Dent Res**, v. 78, n.9, p. 1568-1572, 1999.
11. TOUMELIN-CHEMLA, F.; ROUELLE, F.; BURDAIRON, G. Corrosive properties of fluoride-containing odontologic gels against titanium. **J Dent**, v. 24, p. 109-115, 1996.
12. JOHANSSON, B.I.; BERGMAN, B. Corrosion of titanium and amalgama couples. Effects of fluoride, area size, surface preparation and fabrication procedures. **Dent. Mater**, v. 11, p. 41-46, 1995.
13. WATANABE, I.; WATANABE, E. Surface changes induced by fluoride prophylactic agents on titanium-based orthodontic wires. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 123, p. 653-656, 2003.

*As referências seguem os padrões da NBR 6023:2002 da ABNT

14. TAKEMOTO, S. et al. Corrosion behavior and surface characterization of titanium in solution containing fluoride and albumin. **Biomaterials**, v. 26, p. 829-837, 2005.
15. OHMAE, M.A. et al. clinical and histological evaluation of titanium mini-implants as anchors for orthodontic intrusion in the beagle dog. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 119, n. 5, p. 566-570, 2001.
16. PARK, H.S.; KYUNG, H.M.; SUNG, J.H. A simple method of molar uprighting with micro-implant anchorage. **J Clin Orthod**, v. 36, n.10, p. 592-596, 2002.
17. BAE, S.M. et al. Clinical application of micro-implant anchorage. **J Clin Orthod**, v. 36, n. 5, p. 298-302, 2002.
18. VILLELA, H. et al. Utilização de mini-implantes para ancoragem ortodôntica direta. **Innovations Journal**, v. 8, n.1, p. 5-12, 2004.
19. CHENG, S.J. et al. A prospective study of the risk factors associated with failure of mini-implants used for orthodontic anchorage. **Int Oral Maxillofac Implants**, v. 19, p. 100-106, 2004.
20. KANOMI, R. Mini-implant for orthodontic anchorage. **J Clin Orthod**, v. 31, n. 11, p. 763-767, 2002.
21. LEE, J.S.; PARK, H.S.; KYUNG, H.M. Micro-implant anchorage for lingual treatment of a skeletal Class II malocclusion. **J Clin Orthod**, v. 35, n. 10, p. 643-647, 2001.
22. KYUNG, H.M. et al. Development of orthodontic micro-implants for intra-buccal anchorage. **J Clin Orthod**, v. 37, n. 6, p. 321-328, 2003.
23. MAINO, B.G. et al. The Spider Screw for skeletal anchorage. **J Clin Orthod**, v. 37, n. 2, p. 90-97, 2003.
24. FERNANDES NETO, J.G. **Avaliação dos produtos da corrosão de mini-implantes ortodônticos após imersão em saliva artificial fluoretada**. 2007. 53f. [Dissertação]. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.
25. POPA, M.V. et al. Corrosion susceptibility of implant materials Ti-5Al-4V and Ti-6Al-4Fe in artificial extra-cellular fluids. **Eletrochimica Acta**, v. 49, p. 2113-2121, 2004.
26. LOPEZ, M.F.; JIMÉNEZ, J.A.; GUTIÉRREZ, A. Corrosion study of surface modified vanadium free titanium alloys. **Eletrochimica Acta**, v. 48, p. 1395-1401, 2003.

27. STRIETZEL, R. et al. In vitro corrosion of titanium. **Biomaterials**, v. 19, p. 1495-1499, 1998.
28. OKAZAKI, Y. et al. Corrosion resistance, mechanical properties, corrosion fatigue strength and cytocompatibility of new Ti alloys without Al and V. **Biomaterials**, v. 19, p. 1197-1215, 1998.
29. LAUTENSCHLAGER, E.P.; MONAGHAN, P. Titanium and titanium alloys as dental materials. **Int Dent J**, v. 43, p. 245-253, 1993.
30. MEIRA, K.B.; ARGENTA, L.C.; CAMPOS JÚNIOR, A. Caracterização de superfícies de titânio grau I, titânio grau II, e Ti6Al4V submetidos a diferentes tratamentos térmicos. **Rev FOB**, v. 9, n. 1, p. 71-76, 2001.
31. RAMAN, V. et al. Eletrochemical behaviour of titanium and titanium alloy in artificial saliva. **Trends Biomater Artif Organs**, v. 18, n. 2, p. 137-140, 2005.
32. CHEN, G.; WEN, X.; ZHANG, N. Corrosion resistance and ion dissolution of titanium with different surface microroughness. **Biomed Mater Eng**, v. 8, p. 61-74, 1998.
33. KUPHASUK, C. et al. Eletrochemical corrosion of titanium and titanium-based alloys. **J Prosthet Dent**, v. 85, p. 195-202, 2001.
34. RAO, S. et al. Effect of Ti, Al, and V ions on the relative growth rate of fibroblast (L929) and osteoblast (MC3T3-E1) cells. **Biomed Mater Eng**, v. 6, p. 79-86, 1996.
35. LANDSBERG, J.P.; MCDONALD, B.; WATT, F. Absence of aluminum in neurotic plaque cores in Alzheimer's disease. **Nature**, v. 360, p. 65-68, 1992.
36. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Nickel. In: **Air quality guidelines**. Chapter 6.10. Geneva: WHO.
37. MOCKERS, O.; DEROZE, D.; CAMPOS, J. Cytotoxicity of orthodontic bands, brackets and archwires *in vitro*. **Dent Materials**, v. 18, p. 311-317, 2002.
38. PARK, H.Y.; SHEARER, T.R. In vitro release of nickel and chromium from simulated orthodontic appliances. **Am J Orthod**, v. 84, n. 2, p. 156-159, 1983.
39. BUZALAF, M.A.R.; CURY, J.A.; WHITFORD, G.M. Fluoride exposures and dental fluorosis: A literature review. **Rev Fac Odontol Bauru**, v. 9, p. 1-10, 2001.
40. CATANI, D.B. et al. Relação entre níveis de fluoreto na água de abastecimento público e fluorose dental. **Rev Saúde Pública**, v. 41, n. 5, p. 732-739, 2007.
41. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Fluoride in drinking-water** by J. Fawell, K. Bailey, J. Chilton, E. Datri, L. Fewtrell and Y. Magara. IWA Publishing London: UK, p. 34-9, 2006.

42. PARK, Y.C. et al. Intrusion of posterior teeth using mini- screw implants. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 126, n. 6, p. 690-694, 2003.
43. SEGURADO, M.N. **Avaliação da citotoxicidade e da resistência à corrosão de mini-implantes utilizados para ancoragem ortodôntica**. 2006. 76f. [Dissertação]. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.
44. CRAWFORD, P.R. Titanium – The metal of gods. **J Am Dent Assoc**, v. 58, n. 7, p. 568, 1992.
45. BERGMAN, M. Cast titanium in dental constructions. **Manual 10**. Malmö: DPNOVA AB; 1995.
46. CRAIG, R.G. **Restorative dental materials**. 10^a ed. St. Louis: Mosby; 1996.
47. KHAN, M.A; WILLIAMS, R.L; WILLIAMS, D.F. Conjoint corrosion and wear in titanium alloys. **Biomaterials**, v. 20, p. 765-772, 1999.
48. PARR, G.R; GARDNER, L.K; TOTH, R.W. Titanium: The mystery of implant dentistry. Dental materials aspects. **J Prosthet Dent**, v. 54, n. 3, p. 410-414, 1985.
49. YAMAZOE, J. et al. The development of Ti alloys for dental implant, with corrosion resistance and mechanical strength. **Dent Mater J**, v. 25, n. 2, p. 260-267, 2007.
50. TOMS, A.P. The corrosion of orthodontic wire. **Eur J Orthod**, v. 10, n. 2, p. 87-97, 1988.
51. GENTIL, V. **Corrosão**. 3^a ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A; 1994.
52. KÖNÖNEN, M.H.O; LAVONIUS, E.T; KIVILAHTI, J.K. SEM observations on stress corrosion cracking of commercially pure titanium in a topical fluoride solution. **Dent Mater**, v. 11, p. 269-272, 1995.
53. MELE, M.F.L.; CORTIZO, M.C. Electrochemical behaviour of titanium in fluoride containing saliva. **J Electrochem**, v. 30, p. 95-100, 2000.
54. PHILLIPS, R.W. **Materiais dentários de Skinner**. 8^o ed. São Paulo: Interamericana; cap 19, 1984.
55. JANSON, G.R.P. et al. Nickel hypersensitivity reaction before, during and after orthodontic therapy. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 113, n. 6, p. 655-660, june 1998.
56. **CORROSÃO**. [Acesso: em 10 out. 2006]. Disponível em: <http://www.abraco.org.br/corros11.htm>.

57. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Aluminium in drinking-water, guidelines for drinking-water quality**. 2nd ed. Addendum to Vol. 2, p. 301-3, 2003.
58. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Regional office for, vanadium air quality guidelines** - second Edition, Copenhagen, Denmark, chapter 6.12, 2000.
59. LEVINE, D.L.; STAEHLE, R.W. Crevice corrosion in orthopedic implant metals. **J Biomed Mater Res**, v. 11, p. 553, 1977.
60. HWANG, C.; SHIN, J.S.; CHA, J.Y. Metal release from simulated fixed orthodontic appliances. **Am J Orthod Dentofac Orthop**, v. 120, n. 4, p. 383-391, 2001.
61. VOGEL, G.L. et al. *In vivo* fluoride concentrations measured for two hours after a NaF or a novel two-solution rinse. **J Dent Res**, v. 71, n. 3, p. 448-452, march 1992.
62. OLIVEBY, A. et al. Studies on fluoride concentrations in human submandibular/sublingual saliva and their relation to flow rate and plasma fluoride levels. **J Dent Res**, v. 68, n. 2, p. 146-149, february 1989.
63. INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **Biological evaluation of medical devices** – part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Geneva, ISO Document 10993-5, p. 1-7, 1999.
64. INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **Dental metallic materials** – corrosion test methods. Geneva, ISO Document 10271, 2001.
65. COSTA, M.T et al. *In vitro* evaluation of corrosion and cytotoxicity of orthodontic brackets. **J Dent Res**, v. 86, n. 5, p. 441-445, 2007.
66. RIBEIRO-DIAS, F. et al. Discrimination between NK and LAK cytotoxic activities of murine spleen cells by MTT assay: differential inhibition by PGE2 and EDTA. **J Immunol Methods**, v. 241, p. 121-129, 2000.
67. SCHIFF, N. et al. Galvanic corrosion between orthodontic wires and brackets in fluoride mouthwashes. **Eur J Orthod**, v. 28, p. 298-304, 2006.
68. HUANG, H.H. Variation in surface topography of different NiTi orthodontic archwires in various commercial fluoride-containing environments. **Dent Mater J**, v. 23, p. 24-33, 2007.
69. GRIMSDOTTIR, M.R.; HENSTEN-PETERSEN, A.; KULLMANN, A. Cytotoxic effect of orthodontic appliances. **Eur J Orthod**, v. 14, p. 47-53, 1992.