

STUDIUL EXPERIMENTAL AL OSTEINTEGRĂRII IMPLANTELOR DIN TITAN CU SUPRAFAȚA NANOSTRUCTURATĂ LA ANIMALE DE LABORATOR

Gheorghe Nicolau, Iurie Marina, Sorin Hâncu, Mihai Bărbuța

Catedra Stomatologie Terapeutică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Experimental studies of osteointegration of titanium implants with nanostructural surface on laboratory animals

To a group of 7 rabbits in mentonier region, the titanium implantation has been performed. The intervention under anesthesia and antimicrobial protection there were performed. Laboratory animals were supervised for a period of three months, the necessary time for a complete osteointegration. The obtained results have demonstrated a good osteointegration of titanium implants covered with nanostructural film of TiO₂.

The initial results demonstrate that the osteointegration managed, because of the inflammatory reaction of soft surrounding tissues is missing.

The histological study at electromicrography and optical microscopy, after a necessary period of time for a complete osteointegration in 3-4 months.

Rezumat

Am implantat mostre de titan unui lot de 7 iepuri în regiunea mentonului, intervențiile au fost efectuate sub anestezie și protecție antimicrobiană. Animalele de laborator au fost supuse supravegherii pe parcursul a 3 luni, timp necesar pentru osteointegrarea completă.

Rezultatele preliminare ne demonstrează că osteointegrarea a avut loc, datorită faptului că reacție inflamatorie din partea țesuturilor moi înconjurătoare lipsește, starea generală este bună, animalele fiind active. Se preconizează studiul histologic la microscopie optică și electronică, după ce va trece perioada de timp necesară pentru osteointegrare completă de trei luni de zile.

Actualitatea temei

Datorită proprietăților oxidului de titan de osteointegrare pe de o parte și rezistența înaltă la corodare pe de altă parte, s-a creat necesitatea cercetării mai aprofundate a proprietăților lui. Iar pentru estimarea corectă a rezultatelor cercetării este necesar de elaborat o metodă de operare a animalelor de laborator, care ar crea condiții favorabile osteointegrării.

Obiectivele lucrării

Obiectivul propus a fost studierea și elaborarea metodelor operatorii pentru a obține osteointegrare a implantelor din titan. Mostrele din titan utilizate au fost acoperite cu pelicole nanostructurate de oxid de titan obținute prin metode electrochimice, prelucrate la temperaturi de 300°C și 700°C pentru ameliorarea proprietăților mecanice a oxidului.

Materiale și metode de cercetare

Pentru prima dată se realizează studiu pe animale de laborator al implantelor din titan cu o structură nanotubulară uniform repartizată pe toată suprafața. Efectul repartizării uniforme a nanotuburilor de oxid de titan pe suprafața implantului din titan asupra procesului de osteointegrare nu este cunoscut.

În calitate de animale de laborator, am ales iepuri, care au oferta osoasă suficientă pentru desfășurarea favorabilă a intervențiilor de implantare. Primul lot de cercetare este reprezentat de 7 iepuri, cu masa ce variază între 2,2 – 2,4 kg, cu vârsta de 3 luni. Atât intervențiile chirurgicale

cât și îngrijirea animalelor de laborator au fost efectuate în conformitate cu legea cu privire la protecția animalelor. Iepurii sunt ținuti și îngrijiți în vivarium al USMF „N. Testemițanu”. Intervențiile chirurgicale au fost efectuate în sală special amenajată de pe teritoriul vivariumului. Am tăiat 9 bucăți de titan cu puritate de 99,9%, cu grosimea de aproximativ 1mm, și diametrul 1,5 mm, o suprafață prelucrândo corespunzător. După aceea toate implantele au fost supuse sterilizării prin autoclavare.

Iepurii au fost împărțiți în două grupe de studiu: la 4 iepuri li s-au introdus implantate prelucrate la temperatura de 300°C și la 3 iepuri s-au introdus implantate prelucrate la temperatura de 700°C. Ca loc de implantare a fost ales maxilarul inferior. Sub anestezie generală cu Ketamin-ratiopharm 500mg la 1kg greutate corp, conform greutății corespunzătoare, au fost efectuate toate intervențiile chirurgicale. Noi am preferat calea exobucală, din motiv că este mai puțin traumatică și executarea este mai puțin dificilă. S-a bărberit câmpul operator și s-a prelucrat cu sol alcool de 70%. S-a efectuat incizia de 1,5 cm lungime, submentonier cu un bisturiu de unică folosință. S-a decolat atent fascia și mușchii de pe suprafața osului. Datorită fiziispenserului am avut posibilitatea să preparăm cavitatea necesară în os sub răcire cu soluție fiziologică, prevenind astfel supraîncălzirea osului.

Este știut ca dacă osul se încălzește mai sus de 41°C, vasele sangvine, circulația în ele precum și însăși țesutul osos suferă schimbări neânsemnate, iar creșterea temperaturii până la 52°C are ca efect întreruperea permanentă a circulației, urmată de necroza țesuturilor. La început cu o freză sferică din aliaj extradur se prepară o cavitate în os, apoi cu o freză coninvers se crează forma retentivă a cavității, cu orificiul cavității puțin mai mic ca fundul ei. Irigarea câmpului cu ser fiziologic și aspirația permanentă au favorizat decurgerea favorabilă a procesului operator.

Cavitățile erau preparate după mărimea implantelor utilizate. După introducerea implantelor în cavitățile formate, sub presiune dozată, care se manifesta sonor printr-un sunet specific în ocuparea spațiului creat, se verifica stabilitatea lor în cavități cu pensa chirurgicală. Din capsule de Lincomicină se trata plaga cu antibiotic, după care se sutura. După aceea, se prelucra plaga suturată cu soluție de apa oxigenată H₂O₂ de 3% și soluție verde de briliant de 1%. Intramuscular s-a administrat 0,8 ml de antibiotic – soluție de Lincomicină – ca terapie antimicrobiană și antidolora – soluție Analgini.

Fiecare iepure a fost notat cu soluție de acid picric pe blană, sub forma diferitor cifre. S-a descris protocolul operator cu notarea mostrelor aplicate și cifrelor utilizate. După 12 ore de la intervenție, iepurilor intramuscular li s-a administrat soluție de Lincomicină și Analgini, cu prelucrarea medicamentoasă a plăgii cu soluție de apa oxigenată H₂O₂ de 3% și soluție verde de briliant de 1%. Apoi, aceste proceduri s-au efectuat o dată pe zi, timp de 5 zile. La a șaptea zi de la operație au fost înlăturate suturile.

Rezultate și discuții

Pe parcursul dezvoltării implantologiei dentare au fosat elaborate diverse metode de prelucrare a suprafeței endosoase a implantelor dentare, dar nu a fost evidențiată metoda de elecție. Cel mai des implantele dentare sunt confecționate din titan și aliajele lui. Ușor absorbând oxigenul din aer, titanul spontan formează o pelicolă de oxid pe suprafața sa. Dens și stabil, oxidul de titan are legătură chimică cu titanul și previne interacțiunea de mai departe a ionilor acestui metal cu oxigen determinând rezistența lui la coroziune.

Pelicola de oxid de titan reprezintă o bază pentru formarea matricei osteoinductive, pe care poate avea loc mitoză celulelor osteogene cu activitatea de mai departe a osteoblaștilor și osteocitelor. În afară de aceasta, stratul de oxid crează condiții fizico-chimice favorabile pentru formarea legăturilor între calciu, fosfor și titan nemijlocit pe suprafața implantului. Grosimea stratului de oxid, format spontan, de pe suprafața titanului este de câțiva nanometri.

Prin utilizarea metodelor de oxidare, fie chimică sau anodică, grosimea acestui strat de oxid poate fi mărită substanțial, până la grosimea de câțiva micrometri. Structura și grosimea stratului de oxid astfel obținut depinde de condițiile de electroliții utilizați, de tensiune și de curent

aplicat, în cazul oxidării anodice, precum și de pH soluției. La anodizarea titanului, dizolvarea oxidului de titan este asigurată de ionii de fluor din soluțiile utilizate ce contribuie astfel la formarea nanotuburilor de TiO_2 . Ionii de Fluor crează compuși solubili de $[\text{TiF}_6]^{2-}$ ce duc la dizolvarea oxidului de titan.

De noi, a fost studiat și descrisă modalitatea de a nanostructura suprafața, de a o acoperi cu un strat nanostructurat de oxid de titan de diferite forme, inclusiv tuburi de diferite dimensiuni. Pentru a spori lungimea tuburilor noi am utilizat electrolit în baza soluțiilor organice în schimbul soluțiilor utilizate de Zwilling. Utilizând electroliți organici este posibil de a obține nanotuburi de TiO_2 cu lungimea de 10 micrometri lungime în doar 1 oră de oxidare anodică. Oxidarea anodică îndelungată permite obținerea membranelor grosimea cărora depășește 100 micrometri.

În studiul prezent ca scop a fost ales elucidarea interdependenței între grosimea și forma stratului de oxid de titan și osteointegrarea și elaborarea metodologiei de operare a animalelor de laborator pentru metode extra și intrabucale.

Prin oxidarea anodică au fost obținute nanotuburi de oxid de titan, cu structură amorfă, din punct de vedere a structurii cristaline. Din această cauză este necesară obținerea unor probe cristaline, pentru oxid de titan este rutil sau anatas.

În studiul prezent structura cristalină de tip anatas a fost obținută la cristalizarea oxidului de titan la temperatura de 300°C în autoclava industrială. Structura cristalină de tip rutil a fost obținută la cristalizarea oxidului de titan la temperaturi mai mari de 700°C .

Amele tipuri de structuri cristaline pot fi obținute la cristalizarea oxidului de titan la temperaturi apropiate de 500°C .

Alegerea structurii cristaline a peliculei nanostructurate obținute de noi maximal favorabilă osteointegrării poate fi efectuată numai pe cale experimentală. Noi planificăm un studio histologic al osteointegrării ambelor structuri cristaline la nivelul microscopiei optice și electronice.

E cunoscut, că pentru ca osteointegrarea să aibă loc, noi trebuie să creăm condiții favorabile pentru aceasta, iar intervențiile chirurgicale trebuie efectuate conform cerințelor respective. Deja este demonstrată importanța protecției antimicrobiene intra- și postoperatorii, măsurilor de antiseptică și aseptică, pentru ca infecția să nu ducă la periimplantită cu respingerea implantelor din titan. De asemenea este demonstrată importanța răcirii frezelor în timpul preparării osului, pentru prevenirea supraîncălzirii osului, ce negative acționează asupra procesului de osteointegrare. Aceste cerințe au fost respectate în timpul intervențiilor chirurgicale.

De asemenea este importantă alegerea corectă a locului de înserare a mostrelor noastre, care să ne ofere suficient os pentru desfășurarea implantării, cât și o vascularizare eficientă pentru cicatrizarea plăgii.

Altă problemă în fața noastră, era alegerea unei căi de acces exo- sau endobucal de efectuare a intervențiilor chirurgicale. De noi a fost aleasă calea exobucală, mai puțin traumatică și mai accesibilă și mai ușor de efectuat, cu traumatizare minimală a țesuturilor și respective cu cicatrizare mai rapidă a plăgii.

Luând în considerație faptul că intervențiile sunt efectuate pe iepuri, zona de intervenție trebuie să fie protejată de iritarea mecanică a ei de animalele de laborator. Toate aceste măsuri, cât și protecția antidoloră în timpul intervenției și postoperator au fost respectate de noi prin utilizarea fiziodispensorului, antibioticelor, analgezicilor și respectarea regulilor de aseptică și antiseptică, cât și alegerea reușită a câmpului operator- zona submentonieră.

Rezultatele obținute ne indică o dinamică pozitivă a procesului de osteointegrare fără inflamarea țesuturilor moi înconjurătoare.

Concluzii

Pentru prima dată în Republica Moldova este efectuat un studiu cu implimentarea nanotehnologiilor în elaborarea implantelor dentare din titan și efectul lor asupra osteointegrării. La momentul de față efectuăm studiul preventiv pe iepuri, cu elaborarea metodologiei operatorii

cu traumatizare minimală a țesuturilor, care ne-a permis să obținem rezultate pozitive, fără cazuri de respingere a implantelor din titan și cicatrizare rapidă fără edemuri pronunțate. Studiul a fost finanțat de Consiliul Suprem al Academiei de Știință Republicii Moldovei, contract nr. 131.IND din 14.01.2008

Bibliografie

1. А. А. Кулаков, Ф. Ф. Лосев, Р. Ш. Гветадзе “Зубная имплантация” МИА, Москва 2006
2. Т. Г. Робустова “Имплантация зубов” Медицина, Москва 2003
3. Biosensing of osseointegration between bone and implant interface by aluminum nitride thin film,
4. Formation of porous TiO_x biomaterials in H₃PO₄ electrolytes, *Electrochemistry Communications* 10
5. S. Langa, I.M. Tiginyanu, J. Carstensen, M. Christophersen & H. Foll. Formation of porous layers with different morphologies during anodic etching of n-InP. *Electrochemistry & Sol.-St.Lett.*, Vol. 3, No 11, pp. 514-516 (2000),
6. S. Langa, J. Carstensen, M. Christophersen, H. Foll & I.M. Tiginyanu. Observation of crossing pores in anodically –etched n-GaAs. *Appl. Phys.Lett.*, Vol. 78, No 8, pp. 1074-1076 (2001)
7. I.M. Tiginyanu. Physics of ordered and disordered porous semiconductor structures. *Conferința fizicienilor din Moldova, Rezumatele lucrărilor*, pp. 13-14, Chișinău, Octombrie 19- 20, 2005
8. I.M. Tiginyanu, H.L. Hartnagel, J. Monecke, I. Kravetsky & G. Marowsky. Self arrangement of pores in anodically . etched GaP under in/situ illumination. 1999 MRS Fall Meeting. Boston, Massachusetts, Nov.29 / Dec.3, 1999 (Abstract Booklet, p. 142, report G8.3)
9. Macak J. M., Tsuchiya H and Schmuki P. High-aspect-ratio TiO₂ nanotubes by anodization of titanium *Angew. Chem. Int. Edn* 44 2100 (2005)
10. Varghese O.K., Gong D., Paulose M, Grimes C. A. and Dickey E.C. Crystallization and high temperature structural stability of titanium oxide nanotube arrays *J. Mater. Res.* **18** 156 (2003)
11. Mor G. K., Varghese O.K., Paulose M, Mukherjee N. and Grimes C. A. Fabrication of tapered, conical-shaped titania nanotubes *J. Mater. Res.* **18** 2588 (2003).
12. М.Д. Перова “Реабилитация тканей дентоальвеолярной области”. Новое в стоматологии. Н. 3 – 2001, Москва.
13. А.И. Зайка, Савчик А.Б., Бирка И.И., Вороняк М.И., Сирый О.М., Влияние титана на остеогенный и пролиферативный потенциал клеток костного мозга in vitro. *Стоматология* 1989, Н.3.
14. М.Д. Перова Клиническое и теоретическое обоснования комплексной программы повышения эффективности дентальной имплантации: Дис. ... доктора мед.наук – СПб., 1999 а – С 400.
15. Фомин И.В., Лясников В.Н., Докторов А.А., Воложим А.И. Изменения рельефа поверхности имплантатов с плазменным гидроксипатитовым покрытием и титановым подслоем в зависимости от времени нахождения в кости. Новое в стоматологии. Н. 2 – 1999, Москва.