

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

RAFAEL LINARD AVELAR

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA NA INTERFACE ÓSSEA APÓS A COLOCAÇÃO DE  
MINIPLACAS E PARAFUSOS COM DIFERENTES COMPOSIÇÕES METÁLICAS:

ESTUDO *IN VIVO*

PORTO ALEGRE, 2010

**RAFAEL LINARD AVELAR**

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA NA INTERFACE ÓSSEA APÓS  
A COLOCAÇÃO DE MINIPLACAS E PARAFUSOS COM  
DIFERENTES COMPOSIÇÕES: ESTUDO *IN VIVO***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do título de Mestre na área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira

**Porto Alegre, 2010.**

Dedico este trabalho:

À DEUS, norteador e condutor da minha vida.

Sempre presente, nos momentos fáceis e difíceis, dando-me confiança, coragem, discernimento, fé e esperança a cada dia da minha caminhada.

Aos meus Pais, José Victor Hugo Avelar de Sousa e Joana Valdete Linard Avelar, alicerce da minha vida, responsáveis diretos pela minha formação e por todos os meus princípios. Exemplo de perseverança, coragem, dedicação e sempre transmitindo a convicção de uma família coesa, unida e próspera, cujos valores sempre amoldaram meus ideais de vida. A vocês dedico todo o amor e mais uma etapa vencida.



## AGRADECIMENTOS

---

### AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos, **Patricia Linard Avelar e Victor Hugo Linard Avelar**, por todo o apoio, incentivo e estímulo para que eu não sentisse tanto a distância geográfica existente. Esses dois anos longe de casa mostraram, ainda mais, o quanto são importantes e o quanto eu os amo! Sei que essa vitória também é de vocês!

Aos meus tios, **Valda Linard, Claudia Avelar, Cláudio Avelar**, e primos, **Fernanda, Milena, Felipe** por compartilharem comigo os momentos de minha vida e acima de tudo, transmitirem e valorizarem o sentido da família. Estaremos sempre juntos e unidos.

A minha namorada **Maria Thereza**, que me ajudou, talvez nos momentos mais difíceis da minha vida, hoje tendo uma participação mais que especial em minha Família.

Aos grande amigos, **Otávio Becker e Fabiano Goulart**, me fez admirá-los cada vez mais. Tenho certeza do quanto este momento também é especial para vocês. Obrigado pela confiança, admiração e apoio incondicional.

Ao Prof. **Dr. Rogério Belle de Oliveira**, pela extrema confiança em minha capacidade e pelo apoio no desencadeamento deste projeto. Sei da sua sólida e inegável contribuição no âmbito da Odontologia e, sobretudo, por ser uma pessoa vocacionada para ensinar e, orientar de forma bastante serena. Agradeço-lhe profundamente pela orientação e compreensão a mim dispensadas.

Ao grande incentivador Prof. **Dr. Eduardo Costa Studart e Marcelo Ferraro Bezerra**, da Universidade Federal do Ceará. Vocês que tão bem sabem como é árdua a tarefa de deixar tudo em busca de qualificação profissional, foram e são exemplos em que procuro me inspirar. Espero sempre tê-los por perto nesta caminhada, a qual apenas se inicia. Bons professores e grandes amigos jamais serão esquecidos...

Ao **Prof. Dr. Belmiro Cavalcante**, a quem aprendi muito a respeitar e ouvir, pois sempre se mostrou uma pessoa centrada e responsável no cumprimento de suas obrigações, e com o qual, obtive sólidos conceitos em alusão aos procedimentos cirúrgicos. A tua prática cirúrgica em muito me mostrou a desmistificar os entraves cirúrgicos, tornando-os assim, atingíveis e alcançáveis, sempre com o maior respeito e responsabilidade ao ser humano. Você em muito contribuiu para o meu engrandecimento pessoal e profissional.

Aos meus grandes amigos **Rodrigo Cenci, André Dolzan, André wessheimer e Juliana Göelzer**, companheiros permanentes em todos os momentos desta jornada. Esse período da nossa vida nos mostrou invariavelmente a cordialidade, o companheirismo, a convivência e o apoio contínuo entre nós. A motivação permanente, a busca pelo aperfeiçoamento e a superação fazem parte dos nossos ideais de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, na pessoa do seu magnífico **Reitor Prof. Dr. Joaquim Clotet**.

À **Faculdade de Odontologia da PUCRS**, em nome do seu atual diretor, **Prof. Marcos Túlio Mazzini Carvalho**, pela oportunidade de ter realizado este tão bem conceituado curso.

Ao **Ministério da Educação**, por meio da **CAPES**, por acreditar e investir nos alunos do Programa de Pós-graduação em Odontologia da PUCRS e contribuírem para a formação de novos docentes e pesquisadores.

Ao **Prof. Dr. José Poli Figueiredo**, coordenador do Programa de Pós-graduação em Odontologia da PUCRS e ao **Prof. Dr. Clayton Heitz**, coordenador da área de concentração CTBMF, pela dedicação que têm dispensado ao curso de pós-graduação.

Ao Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da PUCRS, em nome da técnica responsável **Vanessa Maria Stamatto**, pela sua inestimável colaboração para que este trabalho se tornasse exequível, mediante o processamento das amostras teciduais para a análise microscópica.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da PUCRS: **Dr. Cláiton Heitz, Dr. Rogério Belle de Oliveira, Dr. Rogério Miranda Pagnoncelli, Dr. Manoel Sant'Ana Filho, Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**, pelos preciosos ensinamentos técnico-científicos e pela certeza do engrandecimento pessoal e profissional fornecidos aos seus discentes.

Ao **Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho**, pela disponibilidade de colaborar com a análise microscópica deste trabalho e pelos ensinamentos na área de patologia bucomaxilofacial.

Ao **Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira** pela confiança e oportunidades cirúrgicas oferecidas nos procedimentos cirúrgicos ambulatoriais e hospitalares. Nosso Deus sempre nos guiará pelo melhor caminho. Obrigado por todo apoio e pelos primeiros ensinamentos no campo da cirurgia ortognática.

Aos colegas e companheiros do curso de mestrado: **Rodrigo Cenci, Vinicius, Rodrigo Coelho, Anderson Prockt, Fernando Deon** por formarem um grupo caracterizado singularmente pelo ecletismo e solícitude. Vocês foram importantes na minha formação enquanto colegas e amigos. Foi uma honra conviver com vocês.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS: **Ana Prestes, Davenir Bruschi, Marcos Correa e Carlos Minossi**, pela disponibilidade, dedicação e rigor na execução de suas tarefas.

Aos **funcionários da Faculdade de Odontologia da PUCRS** e do **Hospital São Lucas da PUCRS**, em especial à **Maria Luíza Braga Kurowski e Carolina Santis**, as quais sempre demonstraram eficiência, integridade e respeito aos alunos, jamais medindo esforços no sentido de viabilizar o bom êxito da prática cirúrgica.

Aos **legítimos e verdadeiros amigos**, que próximos ou distantes, exacerbaram sua solidariedade para que fosse possível transpor as barreiras e superar minhas limitações. A vocês o meu muito obrigado!



### RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar as alterações histológicas ósseas superficiais após a inserção de miniplacas e parafusos com diferentes composições metálicas.

**MATERIAL E METODOS:** Dezoito ratos, da linhagem Wistar, foram utilizados. Uma miniplaca e dois parafusos foram inseridos na superfície externa do fêmur direito de cada animal. Todos os parafusos foram de 5,0 mm de comprimento e foram inseridos até as pontas serem projetadas pelo lado endosteal. Os animais foram divididos em três grupos com seis animais cada. Nos primeiros seis animais foram colocados uma placa e dois parafusos de titânio, em outros seis animais foram colocados uma placa de titânio e dois parafusos de aço inoxidável, e nos animais restantes foram colocados placa e parafuso revestido com Diamond-Like Carbon (DLC). Após 30 dias da realização do procedimento cirúrgico, as miniplacas e os parafusos foram retirados e foram feitas avaliações histológicas na interface placa parafuso no defeito ósseo, em uma extensão de 0,5 cm<sup>2</sup>.

**RESULTADOS:** Na avaliação histológica observou-se um maior processo inflamatório no grupo com diferentes composições metálicas (Grupo titânio-aço)( $p=0,204$ ), como também uma maior presença de lacunas de Howship que indicam uma possível osteólise em decorrência de um início de corrosão galvânica entre o titânio e o aço inoxidável ( $p=0.002$ ).

**CONCLUSÕES:** Os resultados deste estudo indicam que, quando usamos diferentes materiais com diferentes composições metálicas, os componentes de implantes de aço inoxidável quando em associação com o titânio têm uma maior suscetibilidade à provocar osteólise do que quando se utilizam os mesmos componentes como materiais de fixação.

**DESCRITORES:** Corrosão; Fixação interna rígida; Parafusos de fixação





### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** The aim of the present study was to assess histological alterations following the placement of miniplates and screws with different metal compositions.

**MATERIALS AND METHODS:** Eighteen Wistar rats were divided into three groups of six animals. A miniplate and two screws were inserted on the external surface of the right femur of each animal. Six received a titanium plate and screws; six received a titanium plate and stainless steel screws; and six received a plate and screws coated with diamond-like carbon. The screws were five mm in length and inserted until the tips projected through the endosteal side. After 30 days, the miniplates and screws were removed and histological analysis was performed on the 0.5-cm<sup>2</sup> interface between the plate, screw and bone defect.

**RESULTS:** A greater inflammatory process occurred in the group with different metal compositions (titanium and steel). In this same group, there was a greater presence of Howship lacunae, indicating possible osteolysis stemming from the onset of galvanic corrosion between the titanium and stainless steel.

**CONCLUSIONS:** When using materials with different metal compositions in blood, the combination of stainless steel and titanium implants leads to a greater possibility of galvanic corrosion than when using components made from the same materials for fixation purposes.

**Keywords:** Corrosion; Rigid internal fixation; Screws



**SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO-----	11
2. OBJETIVOS-----	17
3. DESENVOLVIMENTO-----	18
3.1. ARTIGO 1-----	18
3.2. ARTIGO 2-----	43
4. DISCUSSÃO GERAL-----	65
4.1 CONCLUSÕES-----	69
5. REFERÊNCIAS-----	70
6. ANEXOS-----	74



### 1. INTRODUÇÃO

#### 1.1- MATERIAIS UTILIZADOS COMO FIXAÇÃO INTERNA RÍGIDA

A utilização de dispositivos de fixação interna em fraturas e osteotomias, teve muito destaque nos últimos anos, conseguindo uma popularidade crescente nas últimas décadas. O design dos materiais utilizados para fixação das fraturas sofreu uma evolução gradual ao longo dos anos, com várias pesquisas que buscaram facilitar a cicatrização e diminuir a taxa de complicações (SAUERBIER *et al.*, 2008).

Um aumento no número de pacientes que recebe este moderno modo de tratamento tem sido evidenciado; no entanto, uma preocupação crescente sobre a biocompatibilidade dos metais usados e seus produtos de corrosão tem induzido estudos sobre a reação dos tecidos com relação aos materiais implantados (WILLIAMS, 1973).

Um número de efeitos adversos, como reações de hipersensibilidade e respostas celulares imunologicamente mediadas, estão sendo discutidos em conjunto com a aplicação de metais como matéria-prima na cirurgia ortopédica e cirurgia buco-maxilo-facial. Poucos estudos, até o momento, têm investigado as reações imunológicas e histológicas dos materiais de fixação frente ao osso, quando utilizados em ossos longos ou nos ossos da face. (CUNNINGHAM *et al.*, 2003).

Diversos estudos sobre as reações de tecido causadas por dispositivos de fixação sugerem reações imunológicas locais e generalizadas aos implantes de aço inoxidável e com outros constituintes metálicos. No entanto, implantes ortopédicos metálicos não são as principais causas das alergias em níveis relevantes (MERRIT E RODRIGO JJ, 1996).

O titânio foi introduzido como um material mais biocompatível, que pode se associar a diversos metais, formando ligas que contenham aço, cromo, níquel, alumínio, nióbio, entre outros. O titânio tem um módulo de elasticidade mais próximo à região óssea cortical do que outros materiais como o aço inoxidável, apresentando também uma melhor capacidade de osseointegração (CARLSSON L *et al.*, 1986).

Diversos estudos de possíveis manifestações imunológicas do titânio têm iniciado a discussão de uma reação de hipersensibilidade causada por estes materiais (TORGERSEN S, MOE G, JONSSON R, 1995). Além disso, a presença de osteólise ao redor dos materiais feitos de titânio, em diferentes graus de pureza tem recebido grande atenção (MALONEY, JAMES, SMITH, 1996). No entanto, pouco se sabe sobre as imunoreações mediadas pelo titânio quando associado com parafusos de aço inoxidável usadas especialmente, para fixação interna dos ossos longos. Uma das suposições para esta diferença é a possível diferença de potencial eletroquímico entre os metais (PEREIRA *et al.*, 2005).

Essa corrosão ocorre quando acontece o contato entre dois metais ou quando existem ligas de diferentes metais associados. Materiais degradados também liberam fragmentos de desgaste, que são geralmente evidenciados por microscopia eletrônica que podem ser fagocitados por células como os macrófagos (HALLAB, LINK, MCAFEE, 2003). Íons metálicos e partículas liberadas para o tecido podem também ser citotóxicas, cancerígenas e resultar em maior sensibilidade ao metal nos pacientes (PERREN *et al.*, 1990).

No desenvolvimento de novos materiais para aplicativos de ortopedia seria de grande interesse quantificar a resposta inflamatória derivada dos produtos de degradação usando um modelo *in vivo*.

## 1.2- BIOCMPATIBILIDADE

A biocompatibilidade de um biomaterial é determinada pela sua reação tecidual ao ambiente biológico. O corpo humano é tão sensível e hostil que as propriedades do biomaterial devem ser compatíveis o suficiente para não alterar as várias funções do corpo humano. Os biomateriais devem ser química e biologicamente inertes em relação às células vizinhas e aos fluidos corporais. Também deve ser duro e resistente ao desgaste, além disso, deve ser resistente à corrosão, e não deve liberar elementos tóxicos e cancerígenos (ROY E LEE, 2007).

### 1.2.1-MATERIAIS USADOS COMO MEIOS DE FIXAÇÃO

#### 1.2.1.1- DIAMOND LIKE- CARBON (DLC)

Materiais feitos a base de compostos de carbono (Diamond like-carbon- DLC) têm como principais características a inércia química, alta resistência a corrosão e ao desgaste, parece ser um material ideal para fins de implantes ortopédicos e seu uso tem sido sugerido como muito útil quando utilizado como revestimento de materiais de fixação, já no início dos anos 90(JACOBS *et al.*,1995 ;BUTTER E LETTINGTON, 1995).

Além da prevenção ou redução da corrosão ao desgaste, estes revestimentos também fornecem uma interação controlada com o ambiente. No caso dos implantes nas articulações,

a inserção dos osteoblastos (células formadoras de osso) é desejável para uma melhor integração do implante com o osso. Em outros casos, por exemplo, nos stents, o revestimento deve impedir a interação com o fluxo de sangue para evitar a ocorrência de trombose (GRILL, 2003).

Os filmes de DLC são conhecidos por sua inércia química, ainda que o primeiro aspecto a ser investigado quando se considera o seu uso em um ambiente biológico é a interação entre o DLC e o próprio meio. A maioria dos estudos de biocompatibilidade de filmes de DLC foram realizados *in vitro*, expondo materiais revestidos com DLC em uma variedade de ambientes que simula o ambiente do corpo humano. Esses ambientes incluem macrófagos, fibroblastos e osteoblastos (células formadoras de osso) (GRILL, 2003).

A bioinércia do DLC foi confirmada em diferentes estudos (CUI E LI, 2000; GUTENSONH *et al.*, 2000; LI, ZHANG, NIU, 2001; ALLEN,MYER, RUSHTON, 2001; LINDER, PINKOWSKI, AEPFELBACHER, 2002). Por exemplo, em um estudo *in vitro*, foi observado que a interação dos macrófagos com o revestimento de DLC não induziu reações inflamatórias celulares. Estudos sobre o efeito dos revestimentos de DLC em células derivadas de tecidos que rodeiam a substituição total das articulações (macrófagos, fibroblastos e osteoblastos) não mostraram nenhuma evidência de que estes revestimentos de DLC são causadores da citotoxicidade, mesmo que em pequenas proporções(CUI E LI,2000).

O número de trabalhos publicados com testes *in vivo* é significativamente menor do que estudos *in vitro*. Dowling e colaboradores, (1997), realizaram um teste *in vivo*, em ovelhas, através da inserção de parafusos cilíndricos de aço inoxidável revestidos com DLC hidrogenados na cortical óssea e na região muscular do fêmur com tamanho de 12 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro. Vários implantes foram avaliados após 4 semanas, outros

após 12 semanas, e verificou-se que os revestimentos DLC não tiveram efeitos adversos sobre o tecido ósseo ou muscular.

### 1.2.2- AÇO INOXIDÁVEL

O aço inoxidável foi descoberto em 1904 por *Leon Guillet*. O uso deste material em aplicações cirúrgicas começou em 1926, quando *Strauss* patenteou o aço inoxidável 18Cr-8Ni contendo 2-4% de molibdênio e com um baixo percentual de carbono, com resistência à corrosão suficiente para implante no corpo humano. O uso do aço inoxidável em cirurgia ortopédica abriu um amplo leque de novas possibilidades para o tratamento de fraturas ósseas. Hoje, o aço inoxidável é o mais freqüente material utilizado para a fixação interna. Sua biocompatibilidade na ortopedia foi comprovada ser bem sucedida ao longo de décadas. Além disso, o material de implante de aço inoxidável demonstra uma boa combinação de resistência mecânica, ductilidade e relação custo/benefício (DIGESI, 1998).

Novas composições de aço inoxidável com níquel livre têm sido desenvolvidas principalmente para abordar a questão da sensibilidade ao níquel. Estes aços inoxidáveis contendo níquel têm propriedades mecânicas superiores e são mais resistentes à corrosão. As composições de Níquel livre parecem possuir uma extraordinária combinação de atributos que irão ajudar em várias aplicações destes implantes no futuro (DIGESI, 1998).

### 1.2.3- MINIPLACAS E PARAFUSOS DE TITÂNIO

Titânio e as ligas de titânio (Ti-6Al-4V) são considerados os materiais mais biocompatíveis e em conformidade com as propriedades mecânicas necessárias, tendo sido considerado o material de escolha em traumatologia maxilo-facial e cirurgia ortopédica nas últimas décadas, sendo amplamente utilizado, por causa de suas ótimas propriedades

mecânicas, alta biocompatibilidade, resistência a corrosão e compatibilidade com procedimentos como a ressonância magnética(SERHAM *et al.*, 2004).

As placas e parafusos de titânio são materiais resistentes à corrosão devido à formação de uma película superficial de óxido, sendo esse óxido inofensivo e, portanto, a remoção desse material de fixação não se torna obrigatória após o seu uso (ROSENBERG *et al.*, 1993).





## **2. OBJETIVOS**

### 2.1. OBJETIVOS GERAIS

Avaliar as alterações histológicas após a inserção de miniplacas e parafusos com diferentes composições.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

#### Artigo 1

- Observar se ocorre o aparecimento de células inflamatórias na superfície óssea em contato com a miniplaca e com o parafuso;

- Avaliar e quantificar a presença de áreas de osteólise (Lacunas de Howship) na interface entre a placa e o parafuso, entre os grupos estudados (Titânio-titânio *versus* Titânio-Aço)

#### Artigo 2

- Observar se ocorre o aparecimento de células inflamatórias na superfície óssea em contato com a miniplaca e com o parafuso;

- Avaliar e quantificar a presença de áreas de osteólise (Lacunas de Howship) na interface entre a placa e o parafuso, entre os grupos estudados.

### **3. DESENVOLVIMENTO**

#### 3.1. Artigo 1:

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA INTERFACE ÓSSEA APÓS A COLOCAÇÃO DE MINIPLACAS E PARAFUSOS DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES METÁLICAS: UM ESTUDO *IN VIVO*

## RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar as alterações histológicas na interface óssea após a inserção de miniplacas, e parafusos de titânio e compará-los quando usado o parafuso de aço inoxidável.

**MATERIAL E METODOS:** Doze ratos, da linhagem Wistar, foram utilizados. Uma miniplaca e dois parafusos foram inseridos na superfície externa do fêmur esquerdo de cada animal. Todos os parafusos foram de 05 milímetros de comprimento e foram inseridos até as pontas serem projetada pelo lado endosteal. Os animais foram divididos em dois grupos com seis animais cada. Após 30 dias da realização do procedimento cirúrgico, as miniplacas e os parafusos foram retirados e foram feitas avaliações histológicas na interface placa parafuso no defeito ósseo, em uma extensão de 0,5 cm<sup>2</sup>. O Grupo 1 era representado por miniplaca e parafusos de liga de Titânio e o Grupo 2, apresentava placas de titânio e parafusos de aço inoxidável.

**RESULTADOS:** Na avaliação histológica observou-se um maior processo inflamatório no grupo com diferentes composições metálicas (Grupo 2), como também uma maior presença de lacunas de Howship ( $p=0,002$ ) que indicam uma possível osteólise em decorrência de um início de corrosão galvânica entre o titânio e o aço inoxidável.

**CONCLUSÕES:** Os resultados deste estudo indicam que, quando as miniplacas de titânio são usadas em associação com os parafusos de aço inoxidável, se têm uma maior suscetibilidade à ocorrência de osteólise óssea, do que quando não fazemos uso de materiais com diferentes composições metálicas.

**Descritores:** Corrosão; Fixação interna rígida; Parafusos de fixação

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** The aim of the present study was to assess histological alterations following the placement of titanium miniplates and screws compared to the use of stainless steel screws.

**MATERIALS AND METHODS:** Twelve Wistar rats were divided into two groups of six animals. A miniplate and two screws were inserted on the external surface of the left femur of each animal. Group 1 received a titanium plate and screws and Group 2 received a titanium plate and stainless steel screws. The screws were five mm in length and inserted until the tips projected through the endosteal side. After 30 days, the miniplates and screws were removed and histological analysis was performed on the 0.5-cm<sup>2</sup> interface between the plate, screw and bone defect.

**RESULTS:** A greater inflammatory process occurred in the group with different metal compositions (Group 2) ( $p=0,204$ ). In this same group, there was a greater presence of Howship lacunae, indicating possible osteolysis stemming from the onset of galvanic corrosion between the titanium and stainless steel ( $p=0,002$ ).

**CONCLUSIONS:** When using materials with different metal compositions in blood, the combination of stainless steel and titanium implants leads to a greater possibility of galvanic corrosion than when using titanium alone as the fixation material.

**Keywords:** Corrosion; Internal rigid fixation; Screws.

## INTRODUÇÃO

Titânio e suas ligas são considerados como materiais altamente biocompatíveis e estão se tornando cada vez mais populares em aplicações de implantes na coluna espinhal. O uso de ligas de titânio para implantes espinhais aumentou por causa das suas vantajosas propriedades mecânicas, como biocompatibilidade, alta resistência a corrosão e compatibilidade com os procedimentos de ressonância magnética(1).

Atualmente, pelo grande número de materiais usados, ocorre o risco de se misturar inadvertidamente componentes de aço inoxidável de sistemas compatíveis. Além disso, os cirurgiões podem querer alternar componentes de materiais diferentes, a fim de usar as melhores propriedades(2-4).

A principal preocupação com a mistura de titânio e aço inoxidável é o receio da corrosão galvânica, um processo que ocorre quando os materiais de potencial eletroquímico diferentes são colocados em estreita proximidade em um ambiente eletrolítico. O potencial galvânico resultante da mistura dos metais pode influenciar negativamente nos implantes acelerando a sua corrosão, resultando em um ciclo vicioso que pode levar a complicações graves, como infecções e afrouxamento asséptico do implante (3,4).

A corrosão também pode reduzir o desempenho com relação à fadiga dos implantes, levando à falha mecânica como descrito anteriormente (4). Além disso, a liberação de subprodutos de corrosão pode provocar reações biológicas adversas no tecido que recebeu o implante (1, 4).

Diversos autores têm relatado o aumento da concentração de traços de metais, tanto em níveis locais como em níveis sistêmicos (5,6). Finalmente, o aparecimento tardio de infecções no local da instrumentação da coluna é de uma grande preocupação e pode ser exacerbado pela corrosão (1,3). Este tipo de infecção é tratada com a utilização de antibióticos, com o fechamento primário da pele, e até mesmo com a remoção do dispositivo. As infecções afetam primeiramente os tecidos moles, por conseguinte, envolvem o tecido ósseo, e as maiores áreas de concentração de destroços dos metais são nas regiões de interface entre os mesmos (2,3).

Os materiais metálicos, quando em associação, sofrem corrosão de várias formas, principalmente da forma localizada. Vários estudos foram realizados para compreender as formas dominantes de corrosão que os biomateriais sofrem e as suas implicações com relação às funções biológicas e mecânicas do corpo humano. No entanto, observou-se que a que mais comumente acontece é o desgaste eletroquímico, acontecendo, por conseguinte, a fadiga, a formação de fendas e a corrosão galvânica (7).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a alteração histológica na interface óssea com a utilização de miniplacas de titânio com relação a parafusos de titânio *versus* aço inoxidável em fêmur de ratos, avaliando a presença de osteólise óssea e o processo inflamatório envolvido.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para composição da amostra foram utilizados 12 ratos albinos, da espécie *Rattus norvegicus*, machos, com idade de 90 a 120 dias, peso variando de 250 a 350 gramas e

cl clinicamente sadios. Os animais selecionados foram divididos aleatoriamente em dois grupos distintos, de forma que cada grupo foi formado por seis animais. Em todos os grupos, o período de observação foi de 30 dias após o procedimento cirúrgico.

Em cada grupo de seis animais foi realizada a colocação de uma placa com dois parafusos do material em questão (Tabela 1).

Foram utilizados placas e parafusos para fixação interna rígida, do sistema de 2.0 mm (Neoface – NeoOrtho - Curitiba, Paraná, Brasil). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório de Farmacologia Aplicada, da Faculdade de Farmácia da PUCRS. Os animais foram submetidos à anestesia geral através da injeção intraperitoneal, contendo 0,025 ml/100g de peso corpóreo do animal do sedativo, analgésico e relaxante muscular Cloridrato de Xilazina 2% e 0,05 ml/100g de peso corpóreo do animal do anestésico geral Cloridrato de Ketamina 10%. Após atingir o estado anestésico, cada animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo sobre uma prancha cirúrgica e imobilizado. Realizou-se a tricotomia da região coxofemoral direita, com depilador apropriado para ratos.

Com o animal posicionado em decúbito lateral esquerdo, o acesso cirúrgico à região lateral do fêmur direito foi obtido por meio de uma incisão contínua longitudinal na pele e tecido subcutâneo de aproximadamente dois cm de extensão.

Após a exposição da diáfise, o fêmur foi delimitado em três porções (superior, mediana e inferior), com o objetivo de padronizar a área a ser manipulada, sendo a região superior e mediana, o local de eleição para a realização do experimento.

Na porção superior da face lateral do fêmur, próximo à junção coxofemural, foi realizado a primeira perfuração óssea, com uma broca de diâmetro 1,6 mm pertencente ao

Sistema de fixação Neoface (NeoOrtho-Curitiba, Paraná, Brasil), montada no motor cirúrgico elétrico Surgic XT (Marca NSK), em 1200 RPM e irrigação constante com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%. Em seguida foi realizada a colocação da placa do sistema 2.0 mm de titânio do material do grupo em questão, ao qual foi fixado um parafuso, monocortical, pertencente ao sistema 2.0 de miniplacas e parafusos e medindo cinco mm de comprimento, em seguida, foi realizada a colocação do segundo parafuso (Figura 1). Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pelo mesmo operador, em tempos distintos.

Durante o pós-operatório imediato, nas primeiras 24 horas, foi administrado, intraperitoneal o analgésico Tylenol® 200mg/mL, na dose de 50mg/Kg de peso corporal, de seis em seis horas durante os três dias seguintes de pós-operatório.

#### PREPARO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

No intervalo de tempo proposto (30 dias) foi realizada a eutanásia dos animais. Após a constatação do óbito, foi realizada uma incisão longitudinal acompanhando a cicatriz cutânea existente e remoção do fêmur operado. Em seguida foi realizada a remoção da placa e uma secção transversal no fêmur do animal, uma peça foi enviada para processamento histológico onde foi fixada em formol 10% (Figura 2).

#### PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da PUCRS, seguindo a rotina laboratorial padronizada.

Após o período de fixação, os espécimes foram descalcificados com uma solução de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) a 5%, trocado diariamente, por cinco a sete dias, de acordo com a espessura óssea. Após a descalcificação, o material foi submetido ao processo de



desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Os espécimes foram então emblocados em parafina e submetidos a cortes de  $6\mu\text{m}$  no Micrótomo. As lâminas foram então coradas com HE. A análise histológica, descritiva comparativa, das lâminas foi realizada no laboratório de farmacologia da Faculdade de Odontologia da PUCRS, sendo todas as amostras fotografadas.

## ANÁLISE HISTOLÓGICA

O estudo das lâminas foi realizado com o emprego da microscopia óptica, visando o estudo do processo de dano ósseo, e reabsorção óssea através da análise descritiva. Para tal, foram utilizados os aumentos microscópicos de 4X, 10X e 40X. As zonas avaliadas formavam uma região de  $0,5\text{cm}^2$ , na região de contato entre a placa e o parafuso (Figura 3).

Os aspectos histológicos das peças ósseas submetidas ao procedimento descrito foram descritas levando-se em consideração a resposta inflamatória e a reabsorção óssea (através das lacunas de Howship). Todas as lâminas foram codificadas, impossibilitando desta forma, a identificação a qual grupo de estudo pertenceria cada lâmina analisada.

As análises das lâminas foram realizadas por dois examinadores diferentes, em momentos diferentes, calibrados, e com datas alternadas. Os critérios utilizados para avaliação foram: Presença de zonas de osteólise na região de interface entre a placa e o parafuso, avaliado quantitativamente como ausente ou presente; se presente avaliar e quantificar o número de lacunas de Howship em  $0,5\text{ cm}^2$ , na região adjacente à colocação do parafuso (Figura 3).

A resposta inflamatória também foi avaliada segundo os critérios de ausente ou presente. Todos os critérios utilizados para avaliação da resposta inflamatória foram

evidenciados através das lâminas coradas pela técnica de coloração histológica HE nas objetivas de 4 X, 10X e 40X.

## RESULTADOS

Durante o período de observação, os animais permaneceram saudáveis, com cicatrização normal no local operado, sem evidência de infecção ou deiscência de sutura.

### RESULTADOS DESCRITIVOS DO EXAME MICROSCÓPICO

Os resultados obtidos através da microscopia óptica para os grupos experimentais e controle estão de acordo com as estruturas avaliadas (trabeculado ósseo cortical e medular presente, presença de defeito ósseo na região do parafuso), em todas as lâminas (12 lâminas para a técnica de coloração HE) foram os seguintes:

#### Grupo 1 (Grupo Titânio-Titânio)

Na objetiva de 4X, visualizaram-se soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados. O defeito ósseo experimental apresentou-se parcialmente preenchido por tecido medular em meio ao qual foram observadas delicadas esquirolas ósseas e tecido adiposo (Figura 4). Observou-se, ainda, presença de cortical óssea bem evidente. Não foi evidenciado um infiltrado inflamatório na abertura da cavidade com 30 dias da realização do experimento, em nenhum grupo estudado. Ao término do período de observação, o interior da cavidade ainda apresentou predomínio de tecido medular. Ao nível da cortical rompida, verificou-se que o processo de reparo ósseo estava presente, sem sinais de osteólise. Nos campos estudados, não foram observados episódios de necrose, com aparecimento de lacunas de Howship em apenas uma lâmina das seis avaliadas. Não foi observada reabsorção óssea inflamatória, e nem de invaginação de tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo

(10X). As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo corticalizados, contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior (40x) (Figura 5 e 6).

#### Grupo 2 (Grupo Titânio-Aço)

Em uma objetiva de 4X (Figura7), visualizaram-se soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados. O defeito ósseo experimental apresentou-se parcialmente preenchido por tecido medular em meio ao qual foi observado pouco tecido medular (Figura 6). Foi evidenciado um discreto infiltrado inflamatório na abertura da cavidade com 30 dias da realização do experimento, em duas das seis lâminas. Ao término do período de observação, o interior da cavidade ainda apresentou predomínio de tecido medular. Ao nível da cortical rompida, verificou-se que o processo de reparo ósseo estava presente, com sinais de osteólise e com algumas lacunas de Howship presentes na interface do local aonde foram colocados as placas e parafusos (Objetiva - 40 X). Nos campos estudados, havia uma pequena reabsorção óssea inflamatória, sem invaginação de tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo (10X). As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo corticalizados, contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior (40x) (Figura 8 e 9)

### ANÁLISE, SEMIQUANTITATIVA E DESCRITIVA DO EXAME MICROSCÓPICO

#### Comparação entre os grupos

O infiltrado inflamatório foi analisado sob os parâmetros de ausente ou presente; se presente, avaliado sobre os parâmetros de leve, moderado, alto e intenso dentre os grupos. Observaram-se padrões variando de ausente a moderado no grupo 2 que possuía diferentes

constituintes metálicos, com evidenciação de um menor infiltrado inflamatório no grupo Titânio-titânio (Tabela 2).

#### Análise Estatística

As áreas de inflamação, com coloração HE e áreas de osteólise foram avaliadas através do programa *Image-Pro Plus 6.0*. A análise estatística dos dados resultantes da avaliação histológica foi realizada com o objetivo de avaliar as variações dos dois grupos em relação ao tempo de 30 dias. A análise estatística deste trabalho foi realizada através de tabelas, gráficos e estatísticas descritivas e pelo Teste Exato de Fisher e Teste não-paramétrico Kruskal-Wallis.

Os resultados foram considerados significativos a um nível de significância máximo de 5% ( $p \leq 0,05$ ) e para o processamento e análise destes dados foi utilizado o software estatístico SPSS versão 17.0. Através dos resultados do Teste Exato de Fisher verifica-se que não existe associação significativa entre a presença de Infiltrado Inflamatório entre os grupos do estudo ( $p=0,204$ ).

Através dos resultados do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis verifica-se que existe diferença significativa para o número de lacunas de Howship quando comparado entre os grupos. Observa-se que o grupo Titânio aço apresenta valores significativamente superiores ao outro grupo ( $p=0,002$ ).

## DISCUSSÃO

O propósito deste estudo foi determinar a presença de osteólise como um dos sinais iniciais de uma possível corrosão galvânica na área de contato entre a cabeça do parafuso e a placa de osteossíntese. A combinação galvânica de titânio e aço inoxidável versus combinações puras de titânios foram estudadas por diversos autores(4,8,9).

Alguns estudos *In vitro* utilizando diferentes meios estudaram a corrosão metálica existente quando se combinam diferentes materiais, concluindo que os parafusos e placas de titânio apresentam uma maior taxa de osteólise no soro humano do que em soro fisiológico, enquanto que se observava o contrário quando se utilizava a mistura de materiais, como com a combinação de placa de titânio e parafuso de aço inoxidável (Grupo 2). Os experimentos com soro humano podem ser considerados como estando mais próximos do ambiente clínico, que é o que buscamos encontrar no presente trabalho(1, 4, 8).

No presente estudo, foi avaliado histologicamente a partir da presença ou ausência de lacunas de Howship, uma possível perda óssea ao redor dos materiais de fixação. Alguns estudos que utilizaram a combinação de implantes de titânio e aço fizeram uso da perda de peso dos materiais metálicos para avaliar a possível liberação iônica no meio. Estes estudos concluíram que houve uma perda de aproximadamente o mesmo peso e lançamento de metais com as combinações de materiais, o que foi confirmado pela análise de componentes principais, que mostraram que as combinações com metais dissimilares não desviaram das combinações com materiais similares. Os achados deste estudo são apoiados por outros estudos *in vitro* que não conseguiram demonstrar um excesso de perda óssea entre o titânio e aço inoxidável, quando usados em conjunto (1,10). No presente trabalho, com avaliação histológica pôde-se avaliar uma diferença na interface entre os grupos estudados,

principalmente pelas áreas sugestivas de osteólise óssea com a presença de infiltrado inflamatório, como com a presença de lacunas de Howship o que sugere, que a nível microscópico ocorreu um dano à interface placa parafuso quando se utilizam diferentes constituintes metálicos.

Cirurgiões geralmente hesitam em misturar os componentes feitos de metais diferentes, devido ao potencial de corrosão galvânica. No entanto, em 1975, *Ruedi e Perren* sugeriram combinar placas de titânio com parafusos de aço inoxidável, tornando seu uso menos rígido, pela maior flexibilidade dos parafusos de aço, por proporcionar uma menor chance de fratura do parafuso (10,11). Uma vantagem adicional é que eles encontraram menos desgaste de titânio ao redor dos tecidos quando se usava parafusos de aço com placas de titânio, do que quando se usava somente materiais de titânio. Os autores estavam conscientes de que o aço inoxidável aumentou a corrosão em comparação com combinações de titânio puro, mas eles consideraram como seguro e nem pior do que uma combinação consistindo em parafusos de aço com miniplacas de titânio.

No presente trabalho, o uso destes materiais no soro dos animais estudados mostrou alterar e proporcionou uma osteólise com possível corrosão galvânica acentuada nos materiais utilizados, discordando desta forma, dos estudos feitos por *Ruedi e Perren* (1975). No caso da utilização do aço inoxidável, as proteínas do soro podem exercer um efeito lubrificante que reduz o desgaste entre os metais, produzindo menos osteólise. Outro efeito das proteínas do soro são que elas têm uma seleção por determinados metais. Sugere-se que produtos de degradação dos implantes metálicos, ou seja, produtos da corrosão galvânica não existam isolados e sim associados às proteínas (8,12). As proteínas são conhecidas por se comportarem de maneira diferente com metais diferentes, assim, seu papel em um ambiente corrosivo é regido por vários fatores, como a química da superfície do metal, as características

de absorção de proteínas e a interação de moléculas das proteínas com outros íons presentes na solução eletrolítica e o pH(2, 5, 8, 9).

Desta forma, as proteínas podem formar camadas na superfície do metal, que também o protegem contra a corrosão. Nossos resultados não indicam um mecanismo desse tipo, porque a possível união galvânica de titânio e implantes de aço causaram uma maior área de osteólise do que quando não se fez a mistura dos metais.

## CONCLUSÃO

O principal achado neste trabalho é que quando usamos diferentes matérias de fixação, ocorre maiores níveis de osteólise, não se sabendo até que ponto esta osteólise pode danificar a função do material, promovendo a perda do implante. Pôde-se concluir que estudos *in vivo* deste tipo de estudo são mais confiáveis, pela presença de proteínas plasmáticas, pois as mesmas podem interferir no desgaste entre os metais.

## REFERENCES

1. Serhan H, Slivka M, Albert T, Kwak SD Is galvanic corrosion between titanium alloy and stainless steel spinal implants a clinical concern? Spine J 2004 Jul;4(4):379-87.
2. Bidez MW, Lucas LC, Lemons JE, Ward JJ, Nasca RJ Biodegradation phenomena observed in vivo and in vitro spinal instrumentation systems. Spine (Phila Pa 1976 ) 1987 Jul;12(6):605-8.

3. Clark CE, Shufflebarger HL Late-developing infection in instrumented idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)* 1999 Sep 15;24(18):1909-12.
4. Jacobs JJ, Gilbert JL, Urban RM Corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am* 1998 Feb;80(2):268-82.
5. Pazzaglia UE, Ceciliani L, Wilkinson MJ, Dell'Orbo C Involvement of metal particles in loosening of metal-plastic total hip prostheses. *Arch Orthop Trauma Surg* 1985;104(3):164-74.
6. Dorr LD, Bloebaum R, Emmanual J, Meldrum R Histologic, biochemical, and ion analysis of tissue and fluids retrieved during total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1990 Dec;(261):82-95.
7. Singh R, Dahotre NB Corrosion degradation and prevention by surface modification of biometallic materials. *J Mater Sci Mater Med* 2007 May;18(5):725-51.
8. Hol PJ, Molster A, Gjerdet NR Should the galvanic combination of titanium and stainless steel surgical implants be avoided? *Injury* 2008 Feb;39(2):161-9.
9. McGuire RA, St John KR, Agnew SG Analysis of the torque applied to bone screws by trauma surgeons. Comparisons based on years of experience and material of implant construction. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)* 1995 Mar;24(3):254-6.
10. Venugopalan R, Lucas LC Evaluation of restorative and implant alloys galvanically coupled to titanium. *Dent Mater* 1998 Jun;14(3):165-72.
11. Ruedi T, Perren SM, Pohler O, Riede U [Titanium, steel and their combination in bone surgery]. *Langenbecks Arch Chir* 1975;Suppl:395-8.



12. Hallab NJ, Jacobs JJ, Skipor A, Black J, Mikecz K, Galante JO Systemic metal-protein binding associated with total joint replacement arthroplasty. *J Biomed Mater Res* 2000 Mar 5;49(3):353-61.

## FIGURAS E TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos materiais

<b>Grupo</b>	<b>Material PLACA</b>	<b>Material PARAFUSO</b>
1	Liga de Titânio	Liga de Titânio
2	Liga de Titânio	Liga de aço inox

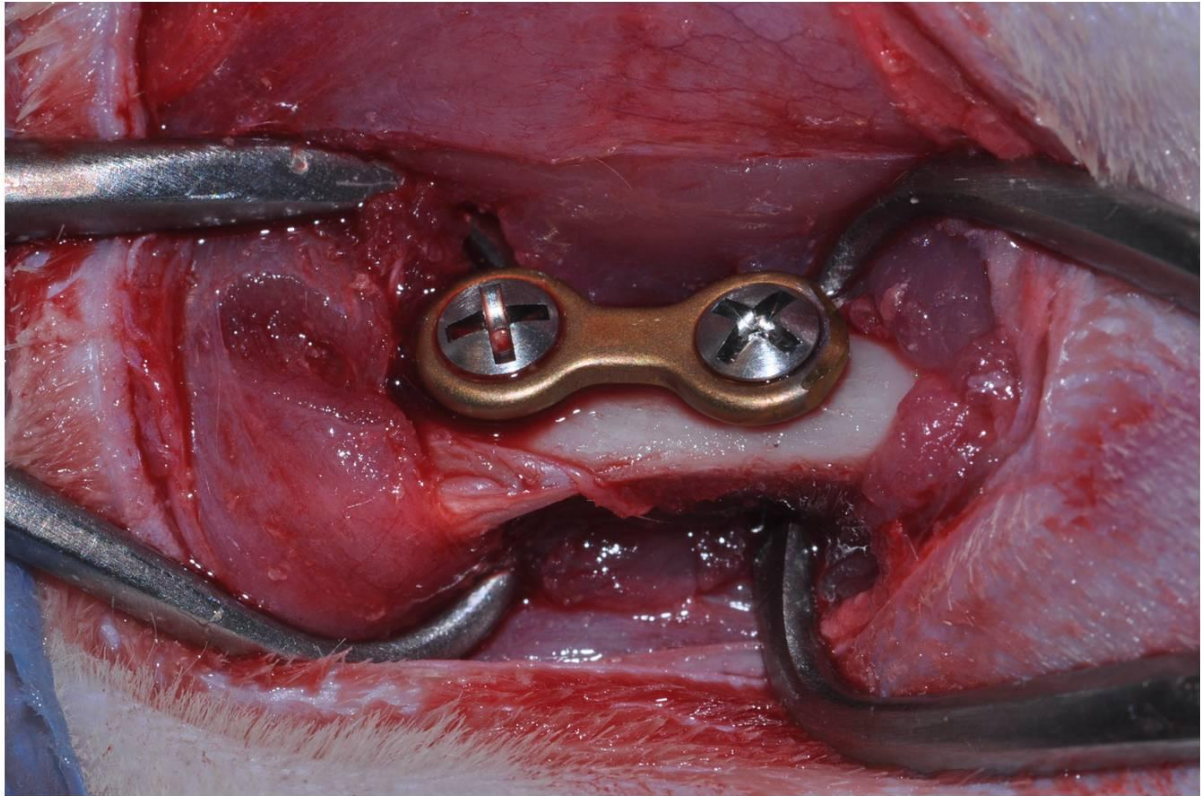
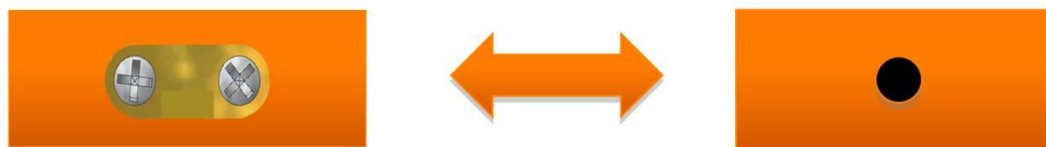


Figura 1 - Colocação da miniplaca e dois parafusos na região escolhida



Formol 10%

Figura 2- Placa removida e secção transversal do fêmur

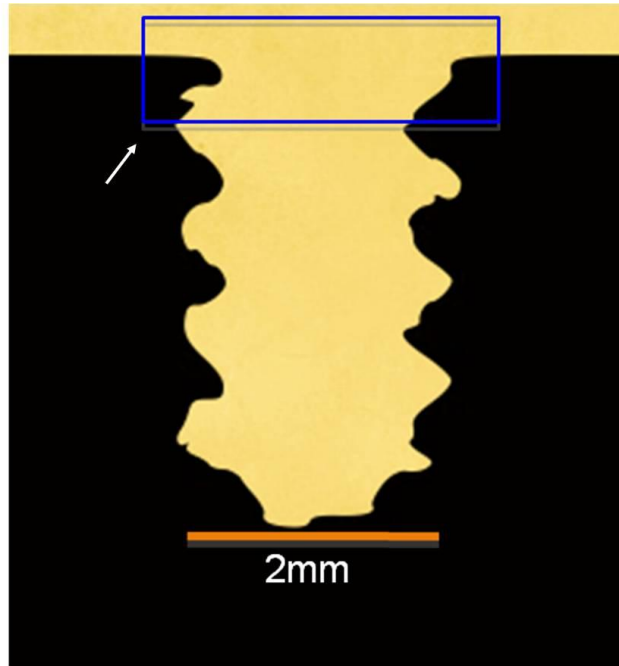


Figura 3 - Metodologia a ser usada na análise histológica, com avaliação de 0,5 cm<sup>2</sup> na região de interface placa parafuso (Seta).

**Tabela 2 - Comparação do infiltrado inflamatório presente entre os grupos**

Infiltrado Inflamatório	Grupo					
	Titânio titânio		Titânio aço		Total	
	n	%	n	%	n	%
Ausente	6	100,0	4	66,7	10	83,3
Presente	-	-	2	33,3	2	16,6
Total	6	100,0	6	100,0	6	100,0

**Tabela 3. Comparação do Numero de lacunas de Howship**

Nº lacunas de Howship	Grupo					
	Titânio titânio		Titânio aço			
	n	%	N	%	n	
0	5	83,3	-	-	6	
1	-	-	3	50,0	-	
2	1	16,7	1	16,7	-	
3	-	-	1	16,7	-	
4	-	-	1	16,7	-	

**Tabela . Comparação do Numero de lacunas de Howship**

Grupo	n	Número de lacunas de Howship				p
		Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	
Titânio titânio	6	0	2	<b>0,33</b>	0,82	0,002
Titânio aço	6	1	4	<b>2,00</b>	1,26	

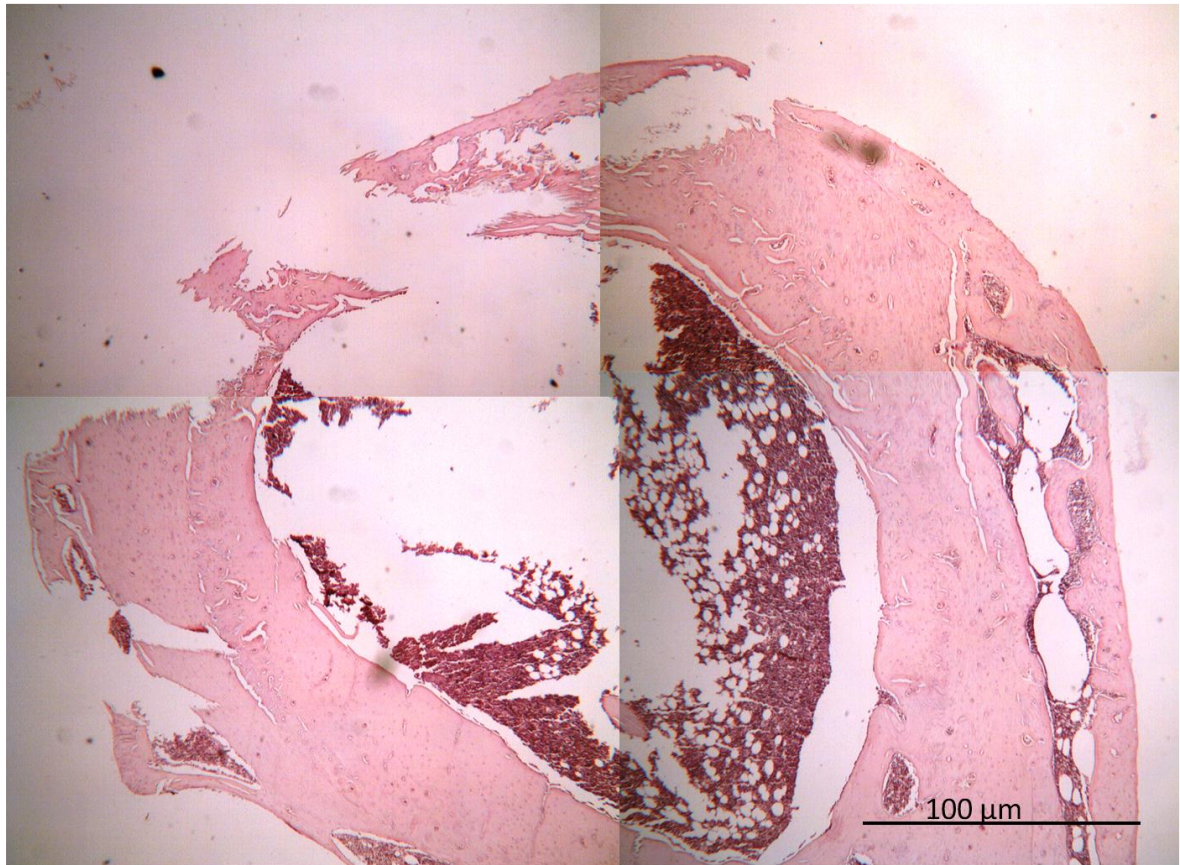


Figura 4 - Observar o defeito ósseo pelo colocação do parafuso, com a presença de tecido medular em abundância no leito receptor.

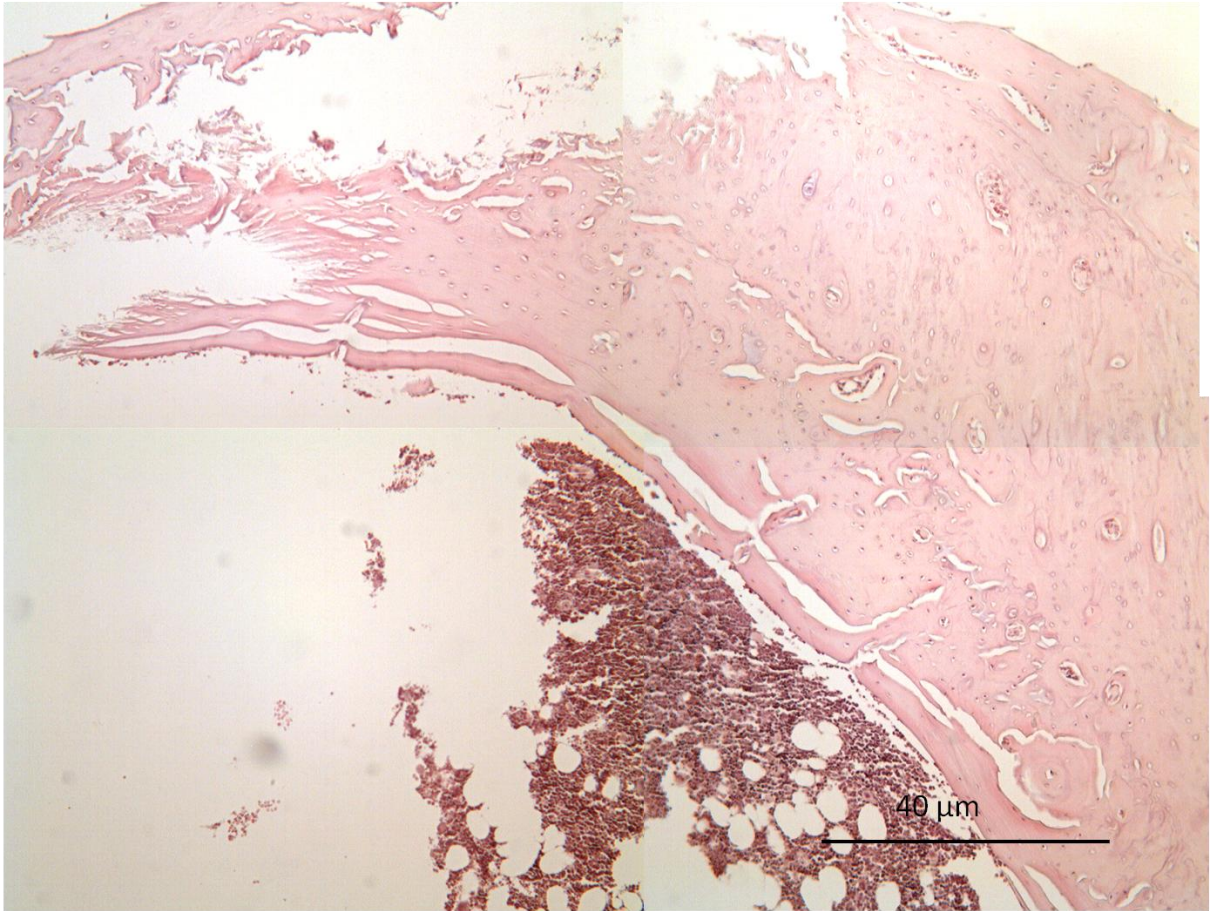


Figura 5 - Avaliar a região adjacente ao defeito ósseo, com ausência de áreas de osteólise e ausência de infiltrado inflamatório.

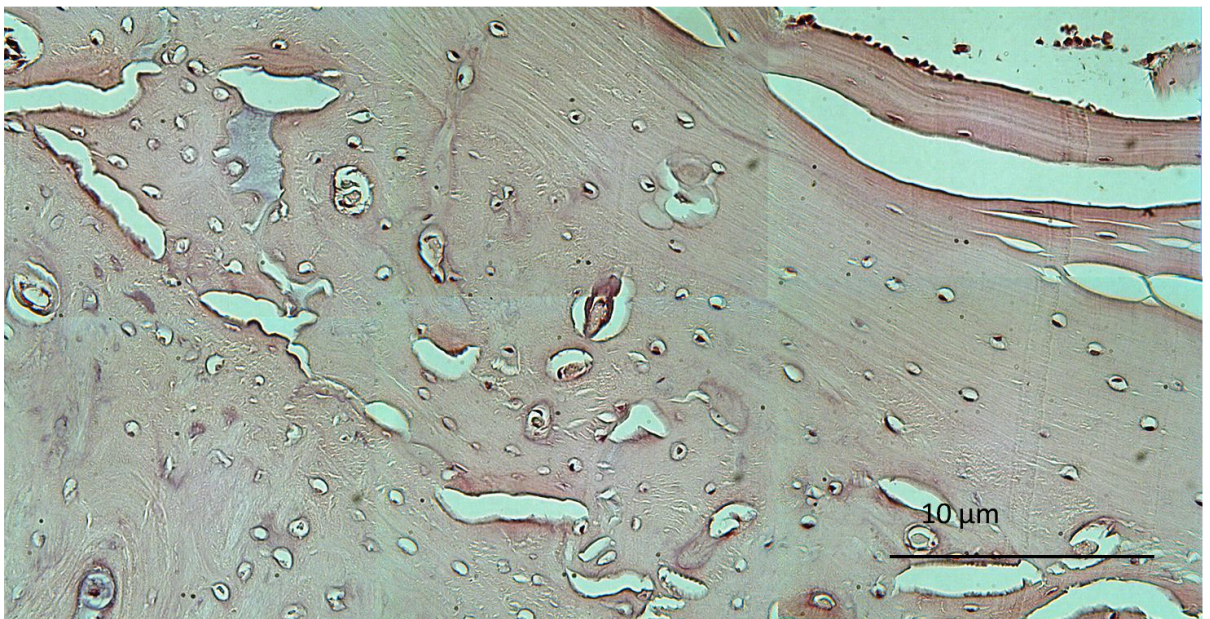


Figura 6 – Avaliar a região de cortical óssea com ausência de áreas de osteólise.

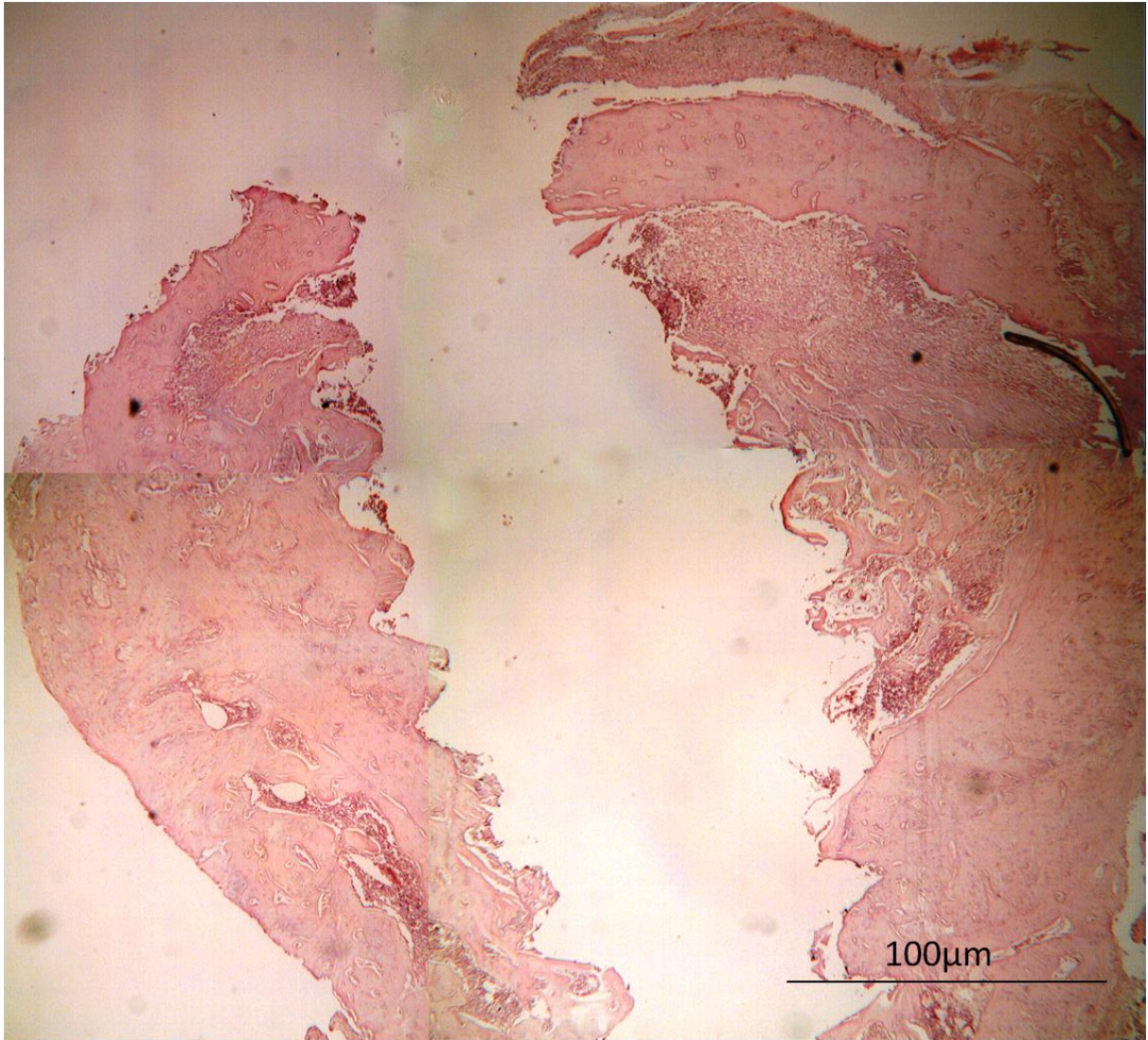


Figura 7- Observar a presença do defeito ósseo provocado pelo parafuso, observando a manutenção da cortical óssea, na região de interface placa parafuso (Objetiva -4x)



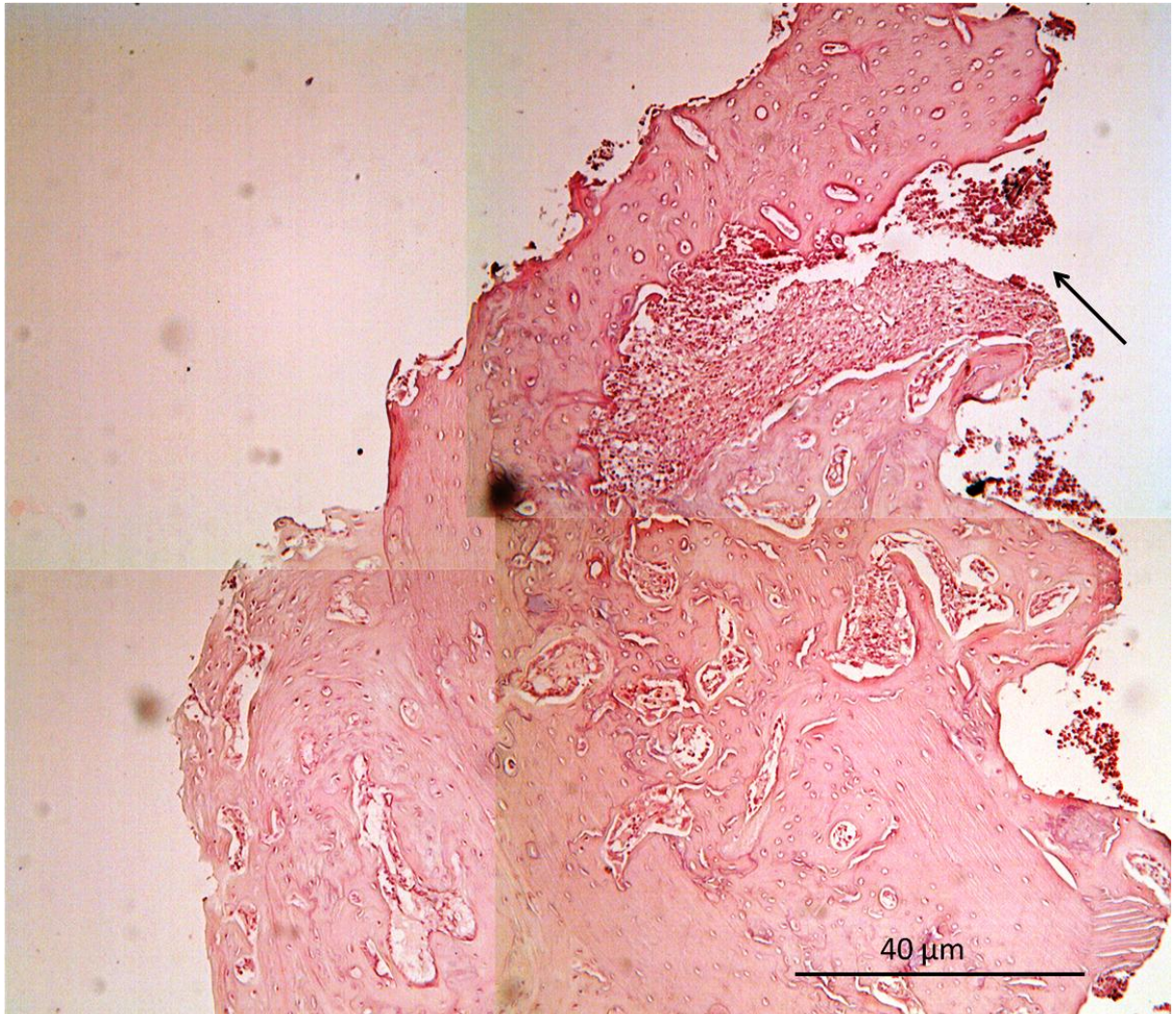


Figura 8 – Avaliar a região adjacente ao defeito ósseo; Observa-se a região cortical repleta de osteócitos, com uma cavidade presente entre a região cortical e medular subjacente. (Objetiva 10 X - Seta)



Figura 9 – Observar a presença de lacunas de Howship.  
(Objetiva 40x - Seta)

3.2. Artigo 2:

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA NA INTERFACE ÓSSEA QUANDO UTILIZAMOS  
MINIPLACAS E PARAFUSOS REVESTIDOS COM DIAMOND-LIKE CARBON  
VERSUS TITÂNIO PURO: UM ESTUDO DESCRITIVO

## RESUMO

**OBJETIVO:** Determinar se os materiais revestidos com Diamond-Like Carbon (DLC) apresentam menor desgaste e menor osteólise na interface placa parafuso, com relação ao titânio.

**MATERIAL E METODOS:** Doze ratos, da linhagem Wistar, foram utilizados. Estes animais foram divididos em dois grupos, no Grupo 1 foi usado somente miniplacas e parafusos de titânio do sistema 2.0mm, e no outro grupo somente DLC( Sistema 1.5mm). Uma miniplaca e dois parafusos foram inseridos na superfície externa do fêmur direito de cada animal. Todos os parafusos foram de 05 mm de comprimento e foram inseridos até as pontas serem projetada pelo lado endosteal. Após 30 dias da realização do procedimento cirúrgico, as miniplacas e os parafusos foram retirados e foram feitas avaliações histológicas na interface placa parafuso no defeito ósseo, em uma extensão de 0,5 cm<sup>2</sup>. **RESULTADOS:** Na avaliação histológica observou-se uma ausência de processo inflamatório em ambos os grupos. Obervou-se a presença de lacunas de Howship que indicam uma possível osteólise em decorrência de um maior dano ósseo, quando se usam ligas de titânio do que quando se usam materiais revestidos com DLC, esta diferença se mostrou muito pequena, só encontrado em uma lâmina.

**CONCLUSÕES:** Os resultados deste estudo indicam que os materiais revestidos com DLC e os de liga de titânio, se mostraram bem parecidos, quando avaliamos presença de infiltrado inflamatório e presença de osteólise.

**Descritores:** Corrosão; Fixação interna rígida; parafuso de fixação

**OBJECTIVE:** The aim of the present study was to determine whether materials coated with diamond-like carbon (DLC) exhibit less wear and lead to less osteolysis in the plate-screw-bone interface in comparison to other materials.

**MATERIALS AND METHODS:** Twelve Wistar rats were divided into two groups of six animals. A miniplate and two screws were inserted on the external surface of the left femur of each animal. Group 1 received a plate and screws made from titanium alloy (2.0-mm system) and Group 2 received a plate and screws coated with DLC (1.5-mm system). The screws were five mm in length and inserted until the tips projected through the endosteal side. After 30 days, the miniplates and screws were removed and histological analysis was performed on the 0.5-cm<sup>2</sup> interface between the plate, screw and bone defect.

**RESULTS:** There was an absence of inflammatory process in both groups. The greater presence of Howship lacunae in Group 1 indicated possible osteolysis stemming from greater bone damage when using the titanium alloy in comparison to materials coated with DLC. However, this difference was very small and was only found on one slide.

**CONCLUSIONS:** Materials made with DLC and titanium alloy perform similarly, especially when used for orthopedic, cardiovascular and dental purposes. It is not certain whether the small difference observed in the present study was due to the short period of time studied or the differences between the materials.

**Keywords:** Corrosin; Internal rigid fixation; Screws

## INTRODUÇÃO

Vários metais têm sido utilizados para diferentes aplicações biomédicas, principalmente o titânio, aço inoxidável, óxido de titânio, nitreto de titânio, liga de cobalto-cromo e as mais diversas ligas entre estes materiais (1). Estes materiais sofrem desvantagens em caso de uso contínuo e, a longo prazo, por causa da citotoxicidade, liberação de íons metálicos, corrosão e o desgaste. Por exemplo, embora o aço inoxidável tenha sido utilizado com sucesso em muitas aplicações biomédicas, observou-se que este material corrói e libera íons de Cr, Mn, Ni, e Mo quando o metal é colocado em vasos coronarianos (1, 2), e em outras aplicações biomédicas.

O diamond-like carbon (DLC) emergiu como um material de grande potencial nos últimos anos devido à sua alta dureza, baixo desgaste ao atrito, elevado coeficiente de resistência à corrosão, inércia química, alta resistividade elétrica, transparência infravermelha, alto índice de refração e suavidade excelente. Todas estas propriedades combinam bem com os critérios de um biomaterial adequado para aplicações em ortopedia, stent cardiovascular de contato, ou em odontologia(3), logo, parecendo ser um material ideal para tais fins e seu uso é muito útil para proteger os implantes, tendo sido sugerido já no início dos anos 1990(4).

Os revestimentos de DLC compreendem uma mistura de carbono sp<sup>2</sup> e sp<sup>3</sup>, estando depositado em determinadas superfícies como materiais de alta energia. Estes revestimentos são produzidos por uma série de técnicas como a deposição de feixes de íons, radiofrequência de plasma de deposição de vapor químico (RF-PECVD), metalização iônica, plasma de implantação iônica por imersão e deposição, pulverização catódica, entre outros meios(3-5). O conteúdo de hidrogênio nos filmes de DLC varia até 40%. Devido à sua estrutura amorfa, filmes de DLC podem ser facilmente ligados e unidos com elementos diferentes. Isso leva a

uma vasta gama de propriedades em função de seus spins sp<sup>3</sup>, sp<sup>2</sup>, e teor de hidrogênio, juntamente com a incorporação do elemento(6).

*Debakey* foi o primeiro a utilizar os materiais à base carbono como revestimento para próteses da artéria aorta, sendo observadas as suas grandes vantagens (4). Além da prevenção ou redução da corrosão e do desgaste quando se usa o DLC como material de revestimento, estes materiais também fornecem a interação controlada com o ambiente. No caso de implantes conjuntos, a inserção de osteoblastos (células formadoras de osso) no osso é desejada para uma melhor integração do implante com o osso. Em outros casos, por exemplo, nos stents, o revestimento deve evitar a interação com o sangue fluído para prevenir a ocorrência de trombose, o que é conseguido quando se usa revestimentos de DLC(1, 5, 7).

O objetivo do presente estudo é avaliar a resposta histológica na interface óssea quando usamos miniplacas e parafusos revestidos com Diamond Like Carbon, e observar a presença de osteólise óssea ao redor do material de fixação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para composição da amostra foram utilizados doze ratos albinos, da espécie *Rattus norvegicus*, machos, com idade de 90 a 120 dias, peso variando de 250 a 350 gramas e clinicamente sadios.

Os animais selecionados foram divididos de forma aleatória em dois grupos, de forma que cada grupo foi formado por seis animais. Em todos os grupos, o período de observação foi de 30 dias após o procedimento cirúrgico.

Em cada grupo de seis animais foi realizado a colocação de uma placa com dois parafusos do material em questão (Tabela 1).

Foram utilizados placas e parafusos para fixação interna rígida, do sistema de 2.0 mm (Neoface – NeoOrtho - Curitiba, Paraná, Brasil) no grupo 1 e do Sistema 1.5 mm no Grupo 2. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório de Farmacologia Aplicada, da Faculdade de Farmácia da PUCRS. Os animais foram submetidos à anestesia geral através da injeção intraperitoneal, contendo 0,025 ml/100g de peso corpóreo do animal do sedativo, analgésico e relaxante muscular Cloridrato de Xilazina 2% e 0,05 ml/100g de peso corpóreo do animal do anestésico geral Cloridrato de Ketamina 10%. Após atingir o estado anestésico, cada animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo, sobre uma prancha cirúrgica, e imobilizado. Realizou-se a tricotomia da região coxofemoral direita, com depilador apropriado para ratos.

Com o animal posicionado em decúbito lateral esquerdo, o acesso cirúrgico à região lateral do fêmur direito foi obtido por meio de uma incisão contínua longitudinal, na pele e tecido subcutâneo de aproximadamente dois cm de extensão. Após a exposição da diáfise, o fêmur foi delimitado em três porções (superior, mediana e inferior), com o objetivo de padronizar a área a ser manipulada, sendo a região superior e mediana, o local de eleição para a realização do experimento.

Na porção superior da face lateral do fêmur, próximo à junção coxofemural, foi realizado a primeira perfuração óssea, com uma broca de diâmetro 1,6 mm pertencente ao Sistema de fixação Neoface (NeoOrtho-Curitiba, Paraná, Brasil) para o grupo 1 e uma broca de diâmetro 1.2 mm para o grupo 2, montada no motor cirúrgico elétrico Surgic XT (Marca NSK), em 1200 RPM e irrigação constante com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%. Em seguida foi realizada a colocação da placa do sistema do material do grupo em questão, ao qual foi fixado um parafuso, pertencente ao sistema 2.0 de miniplacas no Grupo 1 e 1.5 mm



no Grupo 2 , e parafusos e medindo cinco mm de comprimento, em seguida, foram realizadas a colocação do segundo parafuso, em ambos os grupos (Figura 1).

Durante o pós-operatório imediato, nas primeiras 24 horas, foi administrado, intraperitoneal, o analgésico Tylenol® 200mg/mL, na dose de 50mg/Kg de peso corporal, de seis em seis horas durante os três dias seguintes de pós-operatório.

## PREPARO E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

No intervalo de tempo proposto (30 dias) foi realizada a eutanásia dos animais. Após a constatação do óbito, foi realizada uma incisão longitudinal acompanhando a cicatriz cutânea existente e remoção do fêmur operado. Em seguida foi realizada a remoção da placa e uma secção transversal no fêmur do animal, uma peça foi enviada para processamento histológico, onde foi fixada em formol 10% (Figura 2).

## PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da PUCRS, seguindo a rotina laboratorial padronizada.

Após o período de fixação, os espécimes foram descalcificados com uma solução de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) a 5%, trocado diariamente, por cinco a sete dias, de acordo com a espessura óssea. Após a descalcificação, o material foi submetido ao processo de desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Os espécimes foram então emblocados em parafina e submetidos a cortes de 6 mm em Micrótomo. As lâminas foram então coradas com HE. A análise histológica, descritiva comparativa, das lâminas foi realizada no laboratório da Faculdade de Odontologia da PUCRS, sendo todas as amostras fotografadas.

## ANÁLISE HISTOLÓGICA

O estudo das lâminas foi realizado com o emprego da microscopia óptica, visando o estudo do processo de reparo e reabsorção óssea através da análise descritiva. Para tal, foram utilizados os aumentos microscópicos de 4X, 10X e 40X. As zonas avaliadas formavam uma região de 0,5cm<sup>2</sup>, na região de contato entre a placa e o parafuso(Figura 3).

Os aspectos histológicos das peças ósseas submetidas ao procedimento descrito, bem como das peças ósseas do grupo controle, foram descritas levando-se em consideração a resposta inflamatória e a reabsorção óssea (através das lacunas de Howship). Todas as lâminas foram codificadas, impossibilitando desta forma, a identificação a qual grupo de estudo pertenceria cada lâmina analisada.

Os critérios utilizados para avaliação foram: Presença de zonas de osteólise na região de interface entre a placa e o parafuso, avaliado quantitativamente como ausente ou presente, se presente, avaliar e quantificar o número de lacunas de Howship em 0,5 cm<sup>2</sup>, na região adjacente a colocação do parafuso (Figura 3).

A resposta inflamatória também foi avaliada segundo os critérios de ausente ou presente; se presente, avaliar se leve, moderada, alta ou intensa. Todos os critérios utilizados para avaliação da resposta inflamatória foram evidenciados através das lâminas coradas pela técnica de coloração histológica HE nas objetivas de 4 X, 10X e 40X.

## RESULTADOS

Durante o período de observação, os animais permaneceram saudáveis, com cicatrização normal no local operado, sem evidência de infecção ou deiscência de sutura.

## RESULTADOS DESCRITIVOS DO EXAME MICROSCÓPICO

Os resultados obtidos através da microscopia óptica para os grupos experimentais e controle estão de acordo com as estruturas avaliadas (trabeculado ósseo cortical e medular presente, presença de defeito ósseo na região do parafuso), em todas as lâminas (12 lâminas para a técnica de coloração HE) foram os seguintes:

#### Grupo 1 (Grupo Titânio-Titânio)

Na objetiva de 4X, visualizaram-se soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados. O defeito ósseo experimental apresentou-se quase totalmente preenchido por tecido medular em meio ao qual foram observadas delicadas esquirolas ósseas e tecido adiposo (Figura 4). Observou-se, ainda, presença de cortical óssea bem evidente. Não foi evidenciado um infiltrado inflamatório na abertura da cavidade com 30 dias da realização do experimento, em nenhum grupo estudado. Ao término do período de observação, o interior da cavidade ainda apresentou predomínio de tecido medular. Ao nível da cortical rompida, verificou-se que o processo de reparo ósseo estava presente, sem sinais de osteólise. Nos campos estudados, não foram observados episódios de necrose, com aparecimento de lacunas de Howship, em somente um animal, reabsorção óssea inflamatória e nem de invaginação de tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo (10X). As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo corticalizados, contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior (40x) (Figura 5 e 6).

#### Grupo 2 (DLC)

Em uma objetiva de 4X (Figura 7), visualizaram-se soluções de continuidade compatíveis com os defeitos ósseos confeccionados. O defeito ósseo experimental apresentou-se parcialmente preenchido por tecido medular em meio ao qual foi observado pouco tecido medular. Observou-se, ainda, um moderado processo de neoformação óssea. Não foi

evidenciado processo inflamatório na abertura da cavidade com 30 dias da realização do experimento nas seis lâminas. Ao término do período de observação, o interior da cavidade ainda apresentou predomínio de tecido medular. Ao nível da cortical rompida, verificou-se que o processo de reparo ósseo estava presente, com ausência de sinais de osteólise ou lacunas de Howship na interface do local aonde foram colocados placas e parafusos (Objetiva- 40 X- Figura 8). Nos campos estudados, não havia sinais característicos de reabsorção óssea inflamatória, sem invaginação de tecido conjuntivo para o interior do defeito ósseo (10X). As secções histológicas exibiram fragmentos de tecido ósseo corticalizados, contendo inúmeros osteócitos e delicados canais medulares dispersos pelo seu interior (40x).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA, SEMIQUANTITATIVA E DESCRITIVA DO EXAME MICROSCÓPICO

### Comparação entre os grupos

O infiltrado inflamatório foi analisado sob os parâmetros de ausente ou presente; se presente, avaliar se leve, moderado, alto ou intenso dentre os grupos. No grupo 1 houve uma presença discreta de lacunas de Howship, e uma ausência de infiltrado inflamatório. No grupo 2, foi evidenciada uma ausência característica nas seis lâminas estudadas, com ausência de lacunas de Howship ou de qualquer processo de necrose ou dano ósseo. (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

A biocompatibilidade de um material é determinada por testes *in vitro* e *in vivo*, envolvendo a interação do material biológico com o meio celular. A célula que desempenha um papel preponderante na inflamação e interação com materiais implantados é o macrófago, tornando-se muito importante para testar a biocompatibilidade de determinado material(8).

Tem sido observado que uma glicoproteína, a fibronectina, media e promove a adesão das células sobre os biomateriais(8). A linhagem monocítica geralmente são as células que interagem com os implantes revestidos com DLC, causando possíveis reações inflamatórias. Assim, através da investigação pela ativação de monócitos humanos e macrófagos ao redor dos biomateriais, ou seja, pela presença de inflamação a biocompatibilidade pode ser estimada, o que foi proposto no presente trabalho (3).

Recentemente, os materiais revestidos com DLC têm sido exaustivamente estudados com relação a sua biocompatibilidade. No início dos anos 90, algumas tentativas foram feitas para investigar a biocompatibilidade destes filmes preparados pelo método de deposição do feixe de íons de carbono amorfo hidrogenado(3, 9).

Estudos *in vitro* foram inicialmente realizados sobre a biocompatibilidade dos revestimentos de DLC produzidos através do gás butano, com uma camada intermediária de Silício. Nestes materiais cresceram macrófagos, fibroblastos humanos, e osteoblastos sobre as amostras até três dias e não foram encontrados efeitos citotóxicos após a realização destes ensaios em curtos períodos de tempo(6, 7).

Schroeder e colaboradores(6) realizaram testes de cultura na medula óssea com materiais de Titânio incorporados com filmes de carbono amorfo hidrogenado(DLC), preparados usando um processo híbrido de plasma e pulverização catódica, para observar seus efeitos sobre a reação celular, osteoblastos e atividade osteoclástica. Estes filmes mostraram um aumento da proliferação celular e minimizaram a atividade de células osteoclásticas.

Dorner-Reisel e colaboradores (10) observaram que a incorporação de óxido de Cálcio em revestimentos de DLC, formada pela decomposição de plasma de precursores de carbono gasoso melhoraram a aceitação biológica pelos fibroblastos dos ratos estudados.

Após receber uma aceitação preliminar da biocompatibilidade de filmes de DLC, através de testes *in vitro*, diversos estudos *in vivo* foram iniciados pela colocação de implantes revestidos com DLC em animais de laboratório, o que foi testado no presente estudo, através da comparação entre o titânio puro e revestimentos de DLC.

Inicialmente, o primeiro autor a estudar filmes de DLC *in vivo* tentou avaliar a resposta tecidual de filmes revestidos com DLC pela implantação das amostras no músculo esquelético de coelhos por um ano. O estudo não revelou qualquer delaminação do filme nos músculos esqueléticos, indicando sua natureza biocompatível(11).

Outro estudo comparativo foi feito através da implantação de Zircônio, Titânio, Alumínio e Zircônio revestido com DLC em tíbias de ratos durante 30 dias. Depois de investigar a interface tecido-implante, observou-se que o Zircônio e o Zircônio revestido com DLC indicaram melhor resposta tecidual do que os outros metais(5).

Em outro estudo, materiais revestidos com DLC foram implantados dentro de um osso fraturado no corpo humano por sete meses e não houve liberação de corrosão do metal, e nenhum sinal de inflamação foi observado (3, 12), o que foi constatado também em nosso trabalho, onde nos filmes de DLC, não ocorreu presença de lacunas de Howship, que são sinais significativos de osteólise, ao contrário do grupo em que foi utilizado Titânio puro.

Todos esses estudos indicam que os revestimentos de DLC são completamente biocompatíveis e não induzem qualquer reação inflamatória dentro do corpo dos animais. No entanto, mais estudos *in vivo* são necessários para avaliar o desempenho e o bom funcionamento dos implantes revestidos com DLC.

Como já descrito, vários estudos *in vitro* e *in vivo* indicam a biocompatibilidade de filmes DLC preparado por uma variedade de técnicas. No entanto, a dependência apropriada de sua biocompatibilidade em sua química de superfície, a estrutura atômica, e o seu conteúdo de Hidrogênio não é totalmente compreendida. Foi observado em alguns estudos que a proteína fibronectina rege a adesão e molhamento celular na superfície do metal. A fibronectina consiste em vários sítios específicos de ligação e é capaz de interagir com uma grande variedade de outros biomateriais, através da formação de matriz extracelular fibrilar. Assim, a superfície específica de um biomaterial desempenha um papel fundamental na adsorção de fibronectina e, portanto, podendo melhorar a proliferação celular(12).

Todas essas investigações revelaram as perspectivas do DLC como um material biocompatível, o que provocou um interesse crescente por implantes revestidos por esse material na ortopedia, cirurgia cardiovascular e odontologia.

## REFERENCIAS

1. Huang N, Yang P, Leng YX, Chen JY, Sun H, Wang J, et al. Hemocompatibility of titanium oxide films. *Biomaterials* 2003 Jun;24(13):2177-87.
2. Gutensohn K, Beythien C, Bau J, Fenner T, Grewe P, Koester R, et al. In vitro analyses of diamond-like carbon coated stents. Reduction of metal ion release, platelet activation, and thrombogenicity. *Thromb Res* 2000 Sep 15;99(6):577-85.
3. Roy RK, Lee KR Biomedical applications of diamond-like carbon coatings: a review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007 Oct;83(1):72-84.
4. DeBakey ME Development of mechanical heart devices. *Ann Thorac Surg* 2005 Jun;79(6):S2228-S2231.
5. Guglielmotti MB, Renou S, Cabrini RL Evaluation of bone tissue on metallic implants by energy-dispersive x-ray analysis: an experimental study. *Implant Dent* 1999;8(3):303-9.
6. Schroeder A, Francz G, Bruinink A, Hauert R, Mayer J, Wintermantel E Titanium containing amorphous hydrogenated carbon films (a-C: H/Ti): surface analysis and evaluation of cellular reactions using bone marrow cell cultures in vitro. *Biomaterials* 2000 Mar;21(5):449-56.
7. Mandl S, Sader R, Thorwarth G, Krause D, Zeilhofer HF, Horch HH, et al. Investigation on plasma immersion ion implantation treated medical implants. *Biomol Eng* 2002 Aug;19(2-6):129-32.



8. Culp LA, Murray BA, Rollins BJ Fibronectin and proteoglycans as determinants of cell-substratum adhesion. J Supramol Struct 1979;11(3):401-27.
9. Thomson LA, Law FC, Rushton N, Franks J Biocompatibility of diamond-like carbon coating. Biomaterials 1991 Jan;12(1):37-40.
10. Dorner-Reisel A, Schurer C, Irmer G, Simon F, Nischan C, Muller E Diamond-like carbon coatings with Ca-O-incorporation for improved biological acceptance. Anal Bioanal Chem 2002 Oct;374(4):753-5.
11. Mohanty M, Anilkumar TV, Mohanan PV, Muraleedharan CV, Bhuvaneshwar GS, Derangere F, et al. Long term tissue response to titanium coated with diamond like carbon. Biomol Eng 2002 Aug;19(2-6):125-8.
12. Niemyjski W, Zolynski K, Kafar K, Malicki C [Results of the treatment of femoral shaft fractures]. Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol 1989;54(3):228-32.

**Tabela 2 - Distribuição dos materiais**

<b>Grupo</b>	<b>Material PLACA</b>	<b>Material PARAFUSO</b>
1	Liga de titânio	Liga de titânio
2	DLC*	DLC*

\* Diamond Like Carbon

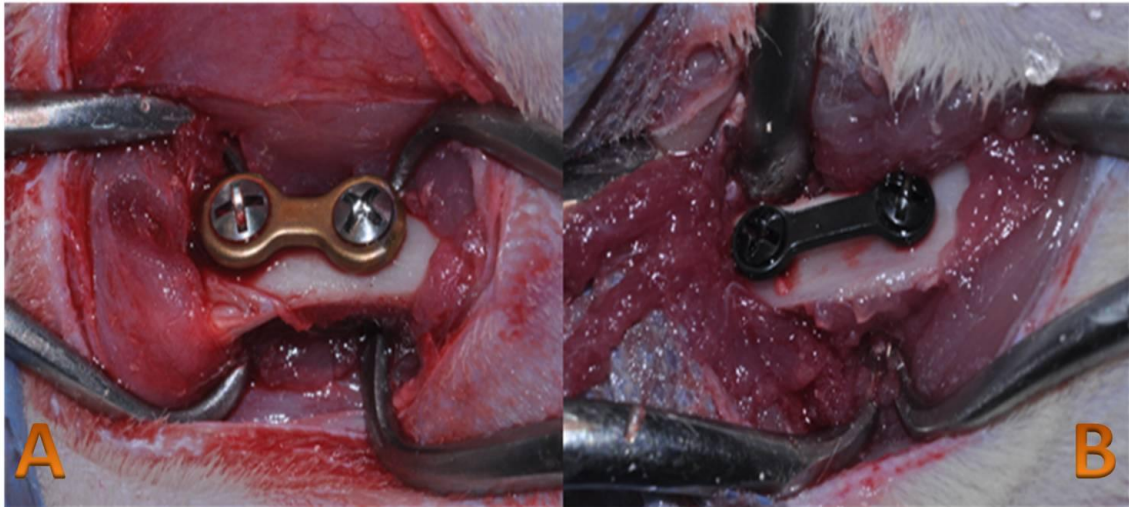


Figura 1 A – Colocação de uma miniplaca de titânio com 2 parafusos de titânio no grupo 1; Figura 1 B – Colocação do material de fixação no grupo 2



Figura 2- Placa removida e secção transversal do fêmur

Formol 10%

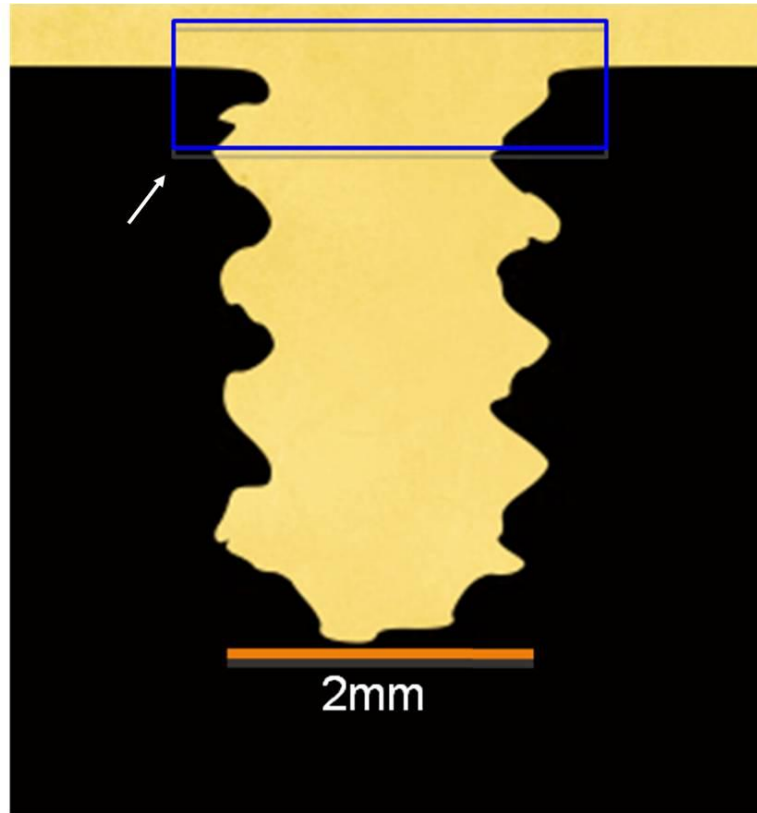


Figura 3 - Metodologia a ser usada na análise histológica, com avaliação de  $0,5 \text{ cm}^2$  na região de interface placa parafuso (Seta).

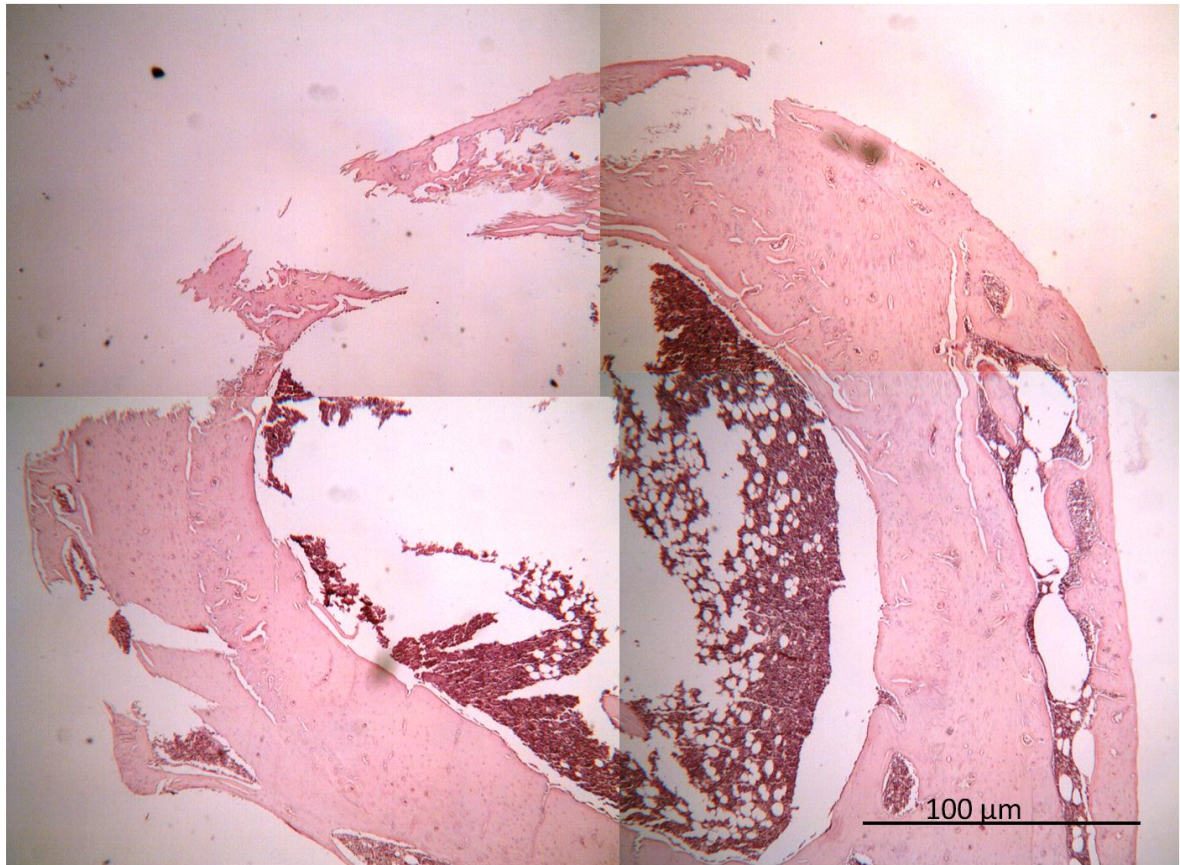


Figura 4 - Observar o defeito ósseo pelo colocação do parafuso, com a presença de tecido medular em abundância no leito receptor.

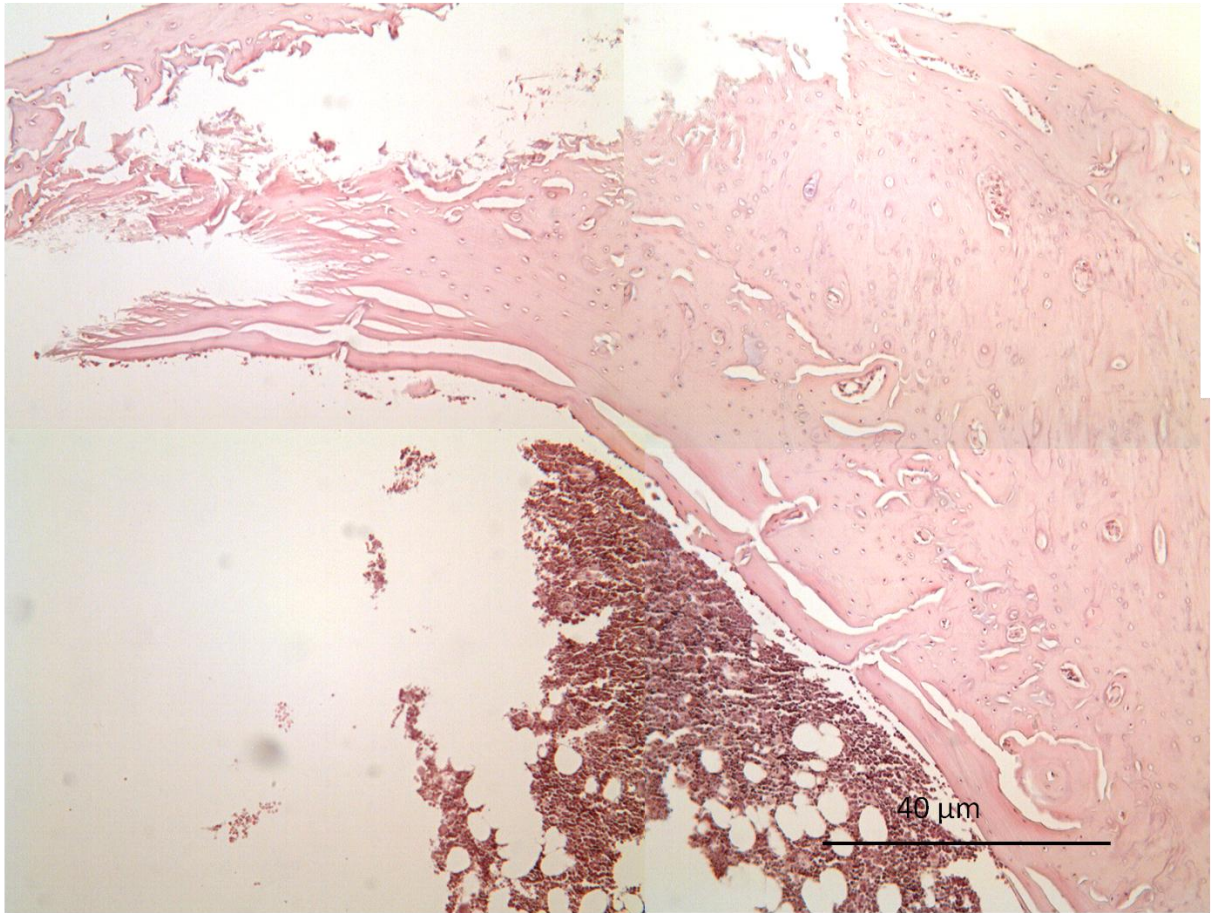


Figura 5 - Avaliar a região adjacente ao defeito ósseo, com ausência de áreas de osteólise e ausência de infiltrado inflamatório.

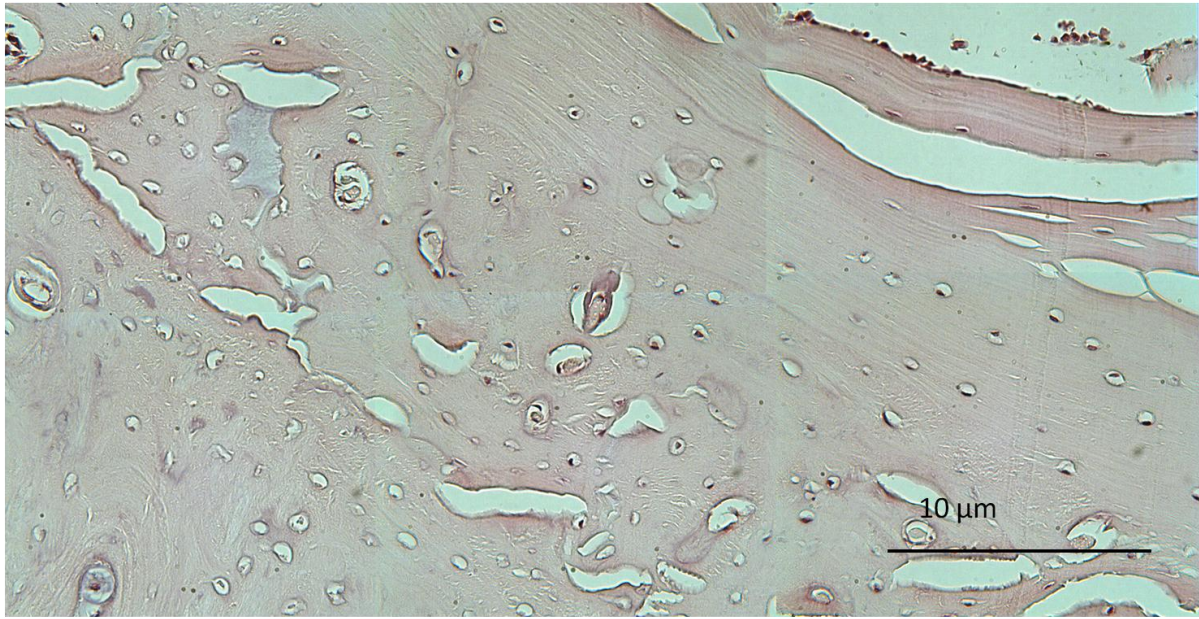


Figura 6 - Avaliar a região de cortical óssea, com ausência de áreas de osteólise, com intensa presença de canais de Havers, e intensa presença de osetócitos.

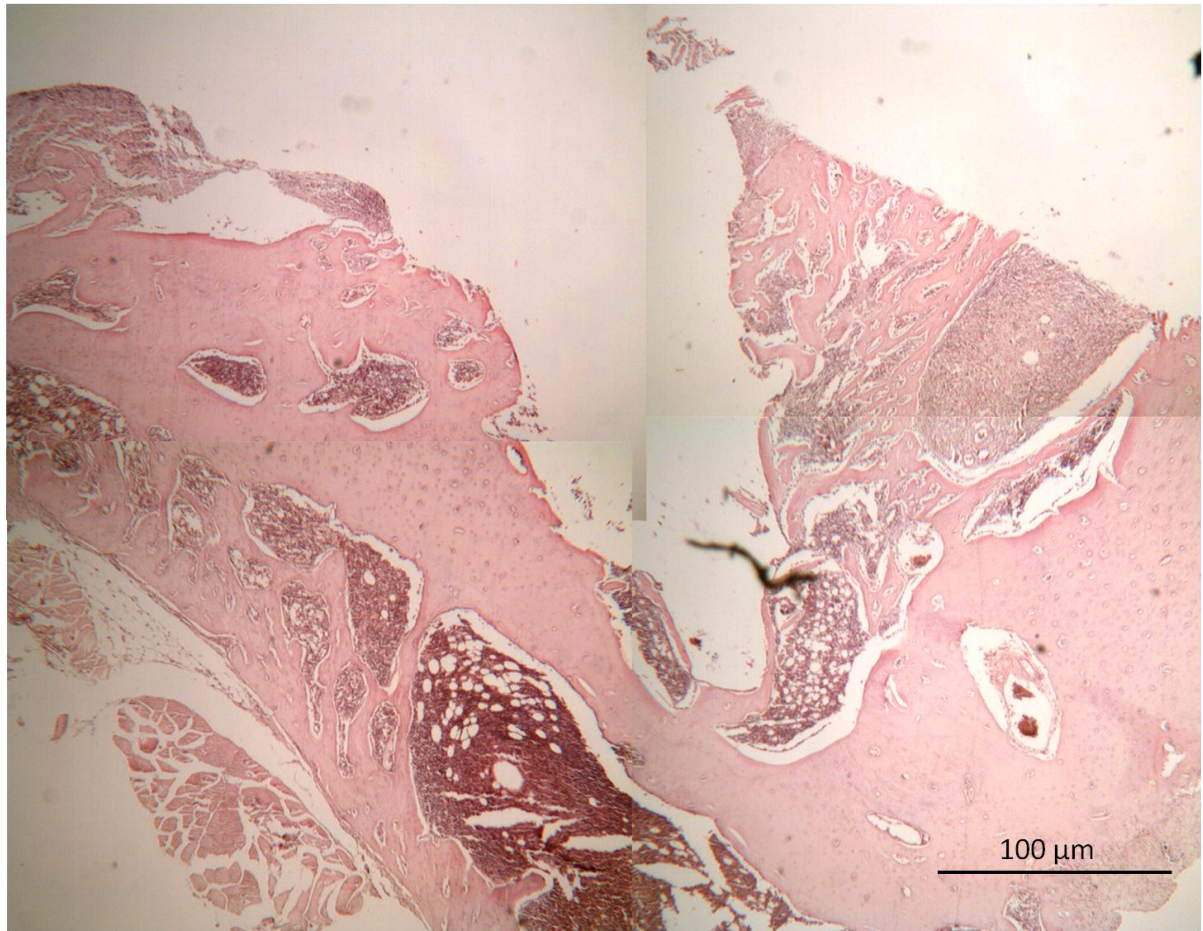


Figura 7 - Observar ausência de áreas de osteólise após a remoção do parafuso.

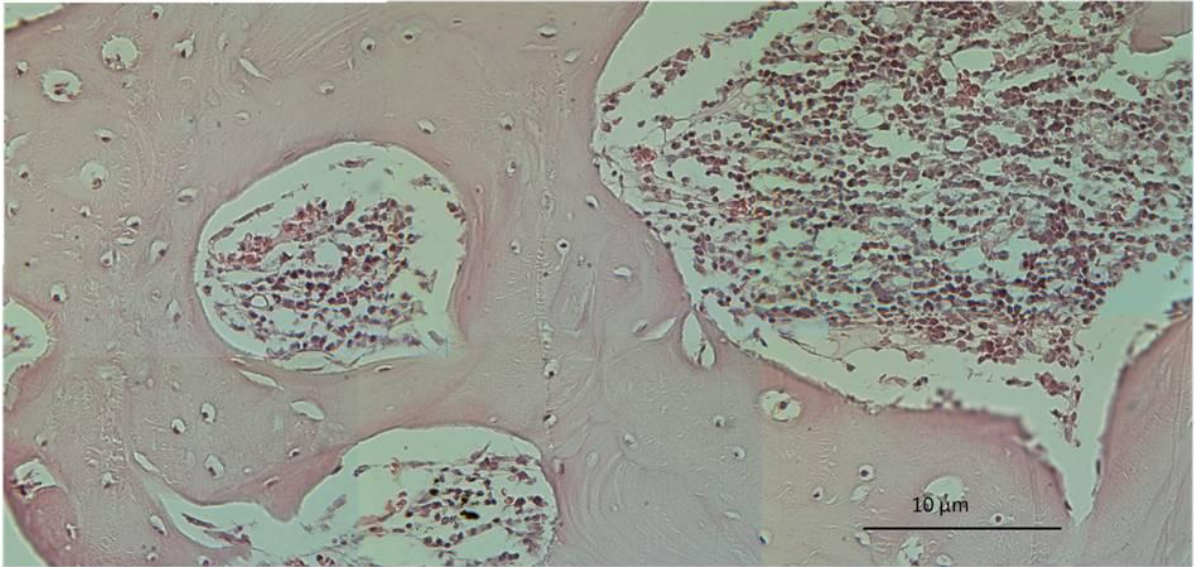


Figura 8 – Observar a ausência de osteólise e ausência de processo inflamatório

Tabela 2 - Comparação entre os grupos quando avaliado Infiltrado inflamatório e presença de lacunas de Howship

	Infiltrado Inflamatório N(%)	Lacunas de Howship N(%)
<b>Grupo 1</b> <b>Titânio-Titânio</b>	6 ausentes (100%)	1 Presente (16,6%) 2 Lacunas de Howship 5 Ausente (83,3%)
<b>Grupo 2</b> <b>DLC-DLC</b>	6 Ausentes (100%)	6 Ausentes (100%)





### 4. DISCUSSÃO GERAL:

Os resultados deste estudo indicam que, quando ocorre uma mistura de materiais associada a uma possível interface de soro sanguíneo, os componentes de implantes de aço inoxidável têm uma maior susceptibilidade à ocorrência de osteólise quando colocados em contato com o titânio. Além disso, o potencial galvânico entre ligas metálicas iguais não causa um efeito claro sobre a corrosão de qualquer um deles.

Estudos anteriores têm mostrado claramente estes efeitos. (CLARK C, SHUFFLEBARGER H, 1999, SERHAM, et al, 2004). Em estudo proposto por Serham, foi avaliada a resistência do aço, e a presença de uma possível corrosão do aço inoxidável quando usado isoladamente ou em contato com uma liga de titânio (Ti-6Al-4V), sendo observado que a corrosão torna-se mais evidente quando se usa somente materiais de aço inoxidável, mas foi demonstrado, que também ocorre uma corrosão acentuada quando se misturam materiais (GRIFFIN C, BUCHANAN R, LEMONS J, 1983), os seus achados corroboram com os resultados deste estudo, quando se utilizou o aço inoxidável e ligas de titânio. De acordo com esse autor, a maior susceptibilidade à corrosão do aço inoxidável é quando ocorre um dano à parte mecânica da camada de óxido passivo na interface entre os materiais. No presente estudo, o dano à interface não pôde ser mensurado e supõe-se que não houve dano algum, pois a região em que foi colocada a placa não havia fratura, nem dano anterior ao procedimento cirúrgico.

A ausência de osteólise ou processo inflamatório em superfícies de Ligas de Titânio-Titânio não foi surpreendente, pois se sabe da elevada resistência à corrosão de titânio. A excelente resistência a esse tipo de corrosão é imputável ao seu estado estável, impermeável, rápida formação da camada de óxido de titânio na superfície. No entanto, em ambientes, como em meio ácido ou em meio ambiente com pouco oxigênio, a camada de óxido não se forma e, portanto, o titânio se tornará mais susceptível à corrosão (DONACHIE M, 1989).

Portanto, a corrosão do aço inoxidável na interface, que poderia ser considerado um ambiente de fenda, poderia acelerar a corrosão do titânio. Além disso, o aço inox tem o dobro do módulo de elasticidade do módulo do titânio, podendo ocorrer um desgaste por contato entre o titânio e o aço, sendo mais provável ocorrer esse desgaste entre o aço e o titânio do que o titânio com titânio (SERHAM, 2004).

O número de estudos de testes *in vivo* é significativamente menor do que estudos *in vitro*. Um trabalho realizado *in vivo* feito através da inserção de 12 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro de cilindros de aço inoxidável revestido com DLC hidrogenados em osso cortical e do tecido muscular de ovelhas foi feito. Vários implantes foram avaliados após 4 semanas, outras depois de 12 semanas, e verificou-se que os revestimentos DLC não tiveram efeitos adversos sobre o tecido ósseo ou muscular. Em outro estudo *in vivo*, cilindros revestidos de DLC foram implantados em locais intramusculares em ratos e em regiões atravessando as corticais em ovinos. Os espécimes foram recuperados 90 dias após a cirurgia e sua análise histológica mostrou que os espécimes revestidos de DLC foram bem tolerados em ambas partes do corpo (ALLEN, MYER, HUSHTON, 2001).

O uso de implantes de DLC no corpo humano também há algum tempo, já tem sido relatado. Hastes de aço revestido com DLC foram implantados no corpo humano durante 7 meses para fixar o osso fraturado e verificou-se que o revestimento impedia a corrosão das barras, evitando assim, a metalose (perda de metal), e a formação de infiltrado inflamatório, permitindo, assim, a cura de uma fratura óssea. (ZOLYNSKI, 1996). No presente trabalho, o grupo de animais que usaram o DLC apresentou ausência total de infiltrado inflamatório e de presença de osteólise o que corrobora com estes estudos descritos anteriormente.

Um estudo *in vivo* comparou os implantes de zircônio, titânio, alumínio e zircônio revestido com DLC ao colocar os implantes em tíbias de ratos Wistar e que lhes permitiu permanecer no local por um período de 30 dias. A investigação na interface tecido-implante, após esse tempo, revelou que o zircônio e implantes de zircônio revestidos com DLC apresentaram melhores respostas do que os implantes de titânio, enquanto que o Alumínio produziu um efeito local Tóxico (GUGLIELMOTTI et al, 1999) .

Em estudos *in vivo* de stents coronários revestidos com nanocompósitos semelhante a diamante (DLC) apresentaram resultados semelhantes aos de estudos *in vivo* acima mencionados. Os stents foram implantados em artérias coronárias de suínos e foram investigados após 6 semanas. Os resultados indicaram que os revestimentos de DLC foram biocompatíveis e resultaram na diminuição da trombogenicidade (DeSCHEERDER, et al., 2000).

Fica notório, a partir dos resultados apresentados, que, em curto período de tempo, como o estudado neste trabalho, os implantes de DLC e os de titânio, apresentaram melhores resultados, quando comparados ao grupo em que ocorreu uma mistura de materiais, esse maior

dano aos materiais misturados foi evidente, claramente, a nível histológico, restando saber que repercussão estes resultados iriam trazer a nível macroscópico.



## CONCLUSÕES

---

- Os implantes de Diamond-like carbon apresentam, a nível histológico, menor reação tecidual, com diminuição do processo inflamatório e, conseqüentemente uma ausência substancial de lacunas de Howship.

-O grupo titânio-titânio apresentou-se com comportamento similar ao grupo DLC, quando comparados com 30 dias, necessitando de mais estudos a longo prazo.



## REFERÊNCIAS

---

Allen M, Myer B, Rushton N. In vitro and in vivo investigations into the biocompatibility of diamond-like carbon (DLC) coatings for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res*, 2001; 58 (3), 319.

Butter RS, Lettington, AH. Applications of Diamond Films and Related Materials, Third International Conference, vol. 885, NIST Special Publication, 1995, 683.

Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T, Branemark P-I. Osseointegration of titanium implants. *Acta Orthop Scand*, 1986; 57(4), 285-9.

Clark C, Shufflebarger H. Late-developing infection in instrumented idiopathic scoliosis. *Spine* 1999; 24(18), 1909–12.

Cui, FZ, Li, DJ. A review of investigations on biocompatibility of diamond-like carbon and carbon nitride films. *Surf. Coat. Technol*, 2000; 131 (1-3), 481 - 487.

Cunningham BW, Orbegoso CM, Dmitriev AE, Hallab NJ, Seftor JC, Asdourian P, McAfee PC. The effect of spinal instrumentation particulate wear debris an in vivo rabbit model and applied clinical study of retrieved instrumentation cases. *Spine*, 2003; 3(1), 19-32.

DeScheerder I, Szilard M, HuangYM, et al. Evaluation of the biocompatibility of two new diamond like stent coatings (dylyn) in a porcine coronarie stent model. *J Invasive Cardiol*, 2000; 12 (8), 389- 394.

Donachie M. Corrosion resistance. *Titanium: a technical guide*. Metals Park, OH: ASM International, 1989:207–16.

Disegi JA. AO ASIF wrought 18% chromium-14% nickel- 2.5% molybdenum stainless steel implant material. *AO ASIF Materials Technical Commission, 1st Ed*, Synthes (USA), Paoli PA, 1998.

Dowling DP, Kola PV, Donnelly K, et al. Evaluation of diamond-like carbon-coated orthopaedic implants *Diam Relat Mater*, 1997; 6 (2-4), 390 - 393.

Grill, A. Diamond-like carbon coatings as biocompatible materials—an overview. *Diamond and Related Materials*, 2003; 12, 166–170.

Griffin C, Buchanan R, Lemons J. In vitro electrochemical corrosion study of coupled surgical implant materials. *J Biomed Mater Res* 1983; 17(3): 489–500.

Guglielmotti MB, Renou S, Cabrini RL. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1999; 4(4), 565-70.

Gutensohn K, Beythien C, Koester R, et al., *Infusionstherapie und Transfusionsmedizin* 27 (2000) 200.

Hallab N, Link HD, McAfee PC. Biomaterial optimization in total disc arthroplasty. *Spine*, 2003; 28(20), S139–52.

Jacobs TL, Spence JH, Wagal SS, Oien HJ. Applications of Diamond Films and Related Materials, Third International Conference, vol. 885, NIST Special Publication, 1995, 753.

Li DJ, Zhang SJ, Niu LF. Surface Diamond Like Carbon. *Appl Surf Sci*, 2001; 180, 270.

Linder S, Pinkowski W, Aepfelbacher M, Adhesion, cytoskeletal architecture and activation status of primary human macrophages on a diamond-like carbon coated surface. *Biomaterials* 2002; 23 (3), 767.

Maloney WJ, James RE, Smith RL. Human macrophage response to retrieved titanium alloy particles in vitro. *Clin Orthop*, 1996; 322, 268–78.

Merrit K, Rodrigo JJ. Immune response to synthetic materials— sensitization of patients receiving orthopaedic implants. *Clin Orthop*, 1996; 326, 71–9.

Perren SM, Klaue K, Pohler O, Predieri M, Steinemann S, Gautier E. The limited contact dynamic compression plate (LC-DCP). *Arch Orthop Trauma Surg*, 1990; 109(6), 304-10

Pereira APA; Gondim DGA; Junior ECG; Freire-filho FG. Removal of miniplates and screw in the oral and maxillofacial region: a review of the literature. *Rev Cir Traumatol Bucomaxilfac*, 2005; 5(3), 17-26.

Roy RK, Lee K-R. Biomedical Applications of Diamond-Like Carbon Coatings: A Review *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 2007 ;83(1), 72-84.

Rosenberg A, Graetz KW, Sailer HF: Should titanium miniplates be removed after bone healing is complete. *Int J Oral Maxillofac*, 1993; 22(3):185-8.



Sauerbier S, Schön R, Otten JE, Schmelzeisen R, Gutwald R. The development of plate osteosynthesis for the treatment of fractures of the mandibular body - a literature review. *J Craniomaxillofac Surg*, 2008; 36(5), 251-59.

Serhan H, Slivka M, Albert S, Kwak SD. Is galvanic corrosion between titanium alloy and stainless steel spinal implants a clinical concern? *The Spine Journal*, 2004; 4, 379–387.


Torgersen S, Moe G, Jonsson R. Immunocompetent cells adjacent to stainless steel and titanium miniplates and screws. *Eur J Oral Sci*, 1995; 103(1), 46-54. Williams, DF. Changes in nonosseous tissue adjacent to titanium implants. *J Biomed Mater Res* 1973; 7(6):555-72.

Williams DF. Titanium and titanium alloys. In: Williams DF, editor. *Biocompatibility of clinical implant materials*. Boca Raton: CRC Press, 1981. p. 9–44.

Zolynski K, Witkowski P, Kaluzny A, Has Z, Niedzielski P, Mitura S, Chem J. The properties of carbon layers deposited onto titanium coated by r.f. dense methane plasma. *Vapor Depos*, 1996; 4, 232.

## 6. ANEXOS:

### ANEXO 1 – CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO CIENTÍFICA E DE ÉTICA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUCRS

 *Comissão Científica e de Ética  
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

---

Porto Alegre 28 de janeiro de 2010

O Projeto de: Dissertação

**Protocolado sob nº:** 0059/09

**Intitulado:** Avaliação histológica de miniplacas e parafusos com diferentes composições metálicas na superfície óssea: estudo in vivo

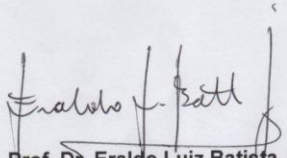
**Pesquisador Responsável:** Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira

**Pesquisadores Associados:** Rafael Linard Avelar

**Nível:** Mestrado

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 27 de janeiro de 2010.

*Este projeto deverá ser imediatamente encaminhado ao CEUA/PUCRS*



  
**Prof. Dr. Eraldo Luiz Batista Júnior**  
Presidente da Comissão Científica e de Ética da  
Faculdade de Odontologia da PUCRS

---

Av. Ipiranga, 6681, Prédio 06 sala 209  
Porto Alegre /RS – Brasil – Cx. Postal:1429  
90619-900

Fone/Fax: (51) 3320-3538  
e-mail: [odontologia-pg@pucrs.br](mailto:odontologia-pg@pucrs.br)

## ANEXO 2 – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS DA PUCRS

  Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS

Ofício 027/10 – CEUA Porto Alegre, 18 de março de 2010.

AVALIAÇÃO DE PROJETOS DE PESQUISA

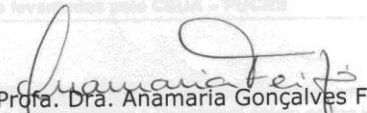
Senhor Pesquisador:

O Comitê de Ética para o Uso de Animais apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 10/00148, intitulado: **"Avaliação histológica de miniplacas e parafusos com diferentes composições metálicas na superfície óssea: Estudo *in vivo*"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data, com recomendação.

Aprovada  
 Aprovada com recomendação  
 Pendente  
 Não aprovada



Atenciosamente,

  
Prof. Dr. Anamaria Gonçalves Feijó  
Coordenadora do CEUA – PUCRS

Além disso, duas observações com vistas a futuras versões do projeto

- (1) o título pode ser complementado informando que a pesquisa será feita em ratos da linhagem Wistar;
- (2) no Material e Métodos (p. 9, segundo parágrafo) corrigir os valores das placas de 0,01 e 0,02 para 2 e 3, pois não concordam com a tabela 1;
- (3) no Orçamento corrigir o valor em reais do Isotopurgo de R\$154,00 para R\$124,00 o valor total.

Ilmo. Sr.  
Prof. Dr. Rogério Belle de Oliveira  
N/Universidade

  **Campus Central**  
Av. Ipiranga, 6690 – Prédio 60, sala 314  
CEP: 90610-000  
Fone/Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [ceua@pucrs.br](mailto:ceua@pucrs.br)  
Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [ceua@pucrs.br](mailto:ceua@pucrs.br)

**ANEXO 3 – E-MAIL DE CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DE  
TRABALHO À INTERNATIONAL JOURNAL OF ORAL AND  
MAXILLOFACIAL SURGERY**

**----- Mensagem encaminhada ----**

**De: International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery <IJOMS@elsevier.com>**

**Para: rafael.ctbmf@yahoo.com.br**

**Enviadas: Quinta-feira, 16 de Dezembro de 2010 9:46:39**

**Assunto: Submission Confirmation for Bone histological analysis at the interface with  
the use of miniplates and screws of different metallic compositions: study in vivo**

**Dear Dr. Avelar,**

**We acknowledge, with thanks, the receipt of your manuscript submitted to International  
Journal of Oral & Maxillofacial Surgery.**

**You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial  
System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/ijoms/>. Your username is Your  
username is: Rafael.**

**If you need to retrieve password details,**

**please go to: [http://ees.elsevier.com/ijoms/automail\\_query.asp](http://ees.elsevier.com/ijoms/automail_query.asp)**

**Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.  
Your paper will then be forwarded to the expert reviewers of the Editorial Board for  
review. Once the results of the reviewing process are available we will advise you.**

**Thank you for showing your interest in publishing in the International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.**

**Kind regards,**

**Jacqui Merrison**

**IJOMS Editorial Office**

**Dear Dr. Avelar,**

**The PDF for your submission, "Bone histological analysis at the interface with the use of miniplates and screws of different metallic compositions: study in vivo", is ready for viewing.**

**Please login to the Elsevier Editorial System as an Author to view and approve the PDF of your submission.**

**url: <http://ees.elsevier.com/ijoms/>**

**Username: Your username is: Rafael**

**If you need to retrieve password details,**

**please go to: [http://ees.elsevier.com/ijoms/automail\\_query.asp](http://ees.elsevier.com/ijoms/automail_query.asp)**

**Your submission must be approved in order to complete the submission process and send the manuscript to the International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery editorial office. Please view the submission before approving it, to be certain that it is free of any errors.**

**Thank you for your time and patience.**

**Kind regards,**

**Elsevier Editorial System**

**International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**