

QUANTIFICAÇÃO DIGITAL DE ALUMINA EM SUPERFÍCIES DE TITÂNIO RUGOSAS VARIANDO O TAMANHO DE DETECÇÃO DOS OBJETOS

Digital quantification of alumina on rough titanium surfaces varying the detection size of the objects

Antonio Carlos Canabarro Andrade Junior¹, Walter Augusto Soares Machado², Ricardo Guimarães Fischer³

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi quantificar resíduos de alumina presentes em superfícies de titânio (Ti) rugosas, variando o tamanho de detecção dos objetos. Chapas de Ti grau II foram jateadas com alumina (65 µm de tamanho médio) por um minuto. Foram analisadas três amostras distintas. Dez imagens das superfícies foram obtidas de cada amostra, em microscópio eletrônico de varredura (MEV). O alumínio (Al) foi visualizado nas imagens em MEV (modo BSE). A análise semiquantitativa realizada por espectroscopia por dispersão de energia confirmou a presença do Al. Após o processamento das imagens utilizando o programa KS400 (ZEISS, Oberkochen, Alemanha), foram feitas avaliações incluindo objetos de dois tamanhos distintos, escolhidos aleatoriamente: acima de 15 (A15) e acima de 20 (A20) pixels. O percentual médio de alumina encontrado nas imagens foi 9.72% (±0.50) para o A15 e 5.73% (±0.37) para o A20. Estes valores foram submetidos ao teste "t" para amostras independentes e mostraram uma diferença significativa ($p < 0.0001$). Estes resultados indicam que a mesma imagem pode ter quantidades significativamente diferentes de contaminantes dependendo dos parâmetros escolhidos. Portanto, a forma como os dados digitais são coletados pode afetar significativamente os resultados do estudo.

UNITERMOS: Titânio; implantes dentários; processamento de imagem assistida por computador. R Periodontia 2006; 17:00-00.

INTRODUÇÃO

O implante dentário é aceito amplamente, e está consolidado como um recurso precioso na reabilitação oral. A chave para o sucesso dos implantes dentários é a osseointegração, fenômeno que acontece em mais de 90% dos casos (ELLINGSEN, 1998). Sabe-se que o contato entre a camada superficial bioativa do implante e o osso não é estático, pois superfícies de titânio distintas modificam o comportamento celular. Por isso, a busca por uma rugosidade ideal tem sido intensa, pois o índice de sucesso em algumas situações (tipo de osso do local desfavorável, aplicação precoce de cargas mastigatórias e alvéolos de dentes recém-extraídos) tem sido aquém ao esperado (ROSA & BELOTI, 2003).

Várias técnicas têm sido empregadas para aumentar a rugosidade do Ti. Porém, algumas, como o jateamento com óxido de alumínio, podem alterar a composição química superficial do implante. Como as trocas iônicas podem interferir na osseointegração, o estudo da composição química da superfície tem sido estimulado (DARVELL *et al*, 1995; ESPOSITO *et al*, 1998).

Para quantificação de elementos na área da saúde tem sido usado o processamento e a análise digital de imagens, com programas de computador específicos (MIRACCO *et al*, 2002; SANTINELLI *et al*, 2002; SCHSTER *et al*, 2006; ZIPPEL *et al*, 2006). Estes programas podem ser utilizados como técnica de

¹ Professor adjunto de periodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e Universidade Veiga de Almeida (UVA)

² Professor adjunto, coordenador da disciplina de periodontia, UVA, RJ

³ Professor titular de periodontia, Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

caracterização de materiais, após a obtenção das imagens na forma digital para a extração de informações e atributos (DINIZ *et al*, 2005).

A imagem digital é uma matriz onde cada elemento (pixel) possui uma posição no espaço e um valor relacionado ao seu brilho (intensidade de luz: 0 – preto e 256 - branco). Inicialmente, a imagem é preparada (processada) para ser analisada pelo próprio computador. Depois, são extraídas informações quantitativas (análises) de maneira automática, o que torna o processo muito mais rápido e preciso (CARUNTU, 2002). Porém, apesar do processamento e análise digital de imagens ter se tornado uma ferramenta valiosa em várias formas de pesquisa, a possibilidade de erro existe, pois o estabelecimento de alguns parâmetros é sujeito a vieses.

Portanto, o objetivo do presente trabalho é quantificar digitalmente resíduos de alumina em amostras de titânio rugosas (jateadas com óxido de alumínio), variando o tamanho de detecção dos objetos.

MATERIAL E MÉTODOS

As superfícies de titânio (Ti) foram preparadas no Laboratório de Engenharia Mecânica da UERJ. Uma chapa de Ti (Ti Brasil, São Paulo, Brasil) foi jateada com alumina (grãos de 65 μm , pressão 414 kPa (indireta), por um minuto, e, posteriormente, foi cortada em amostras de 9 x 9 mm. Todas as amostras eram então submetidas a processo padrão de limpeza metalográfica (seqüência de banhos de 15 minutos cada com acetona, álcool 70% e água destilada) em ultra-som e autoclavadas (a 120° C por 20 minutos).

Caracterização das superfícies de titânio

Imagens foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV - Jeol JSM 6301F, MA, USA), modo elétrons retroespalhados (BSE), para verificar a presença de elementos contaminantes na superfície.

A composição química superficial foi estudada pelo EDS (X-ray energy dispersive spectroscopy, Voyager XRMA System, WI, USA).

Quantificação da alumina

Foram analisadas três amostras distintas da superfície jateada. Dez imagens aleatórias foram obtidas de cada amostra, em MEV (arquivos em formato TIF com 512 x 480 pixels), totalizando 30 imagens.

A análise digital foi realizada no programa KS400, por apenas um examinador cego, para a obtenção de parâmetros digitais e quantificação dos “objetos”. Foram escolhidos aleatoriamente dois tamanhos para detecção dos objetos: acima de 15 (A15) e

acima de 20 (A20) pixels de tamanho em cada imagem de cada amostra.

Análise estatística

Os valores resultantes das duas avaliações realizadas (A15 e A20) no KS400 foram comparados utilizando-se o teste t para amostras independentes. Foi estabelecido o valor de p em 0.05.

RESULTADOS

Caracterização das superfícies de titânio

Regiões mais escuras foram verificadas nas imagens em MEV, o que sugeria a contaminação por alumínio (**figura 1A**), pois este elemento possui menor número atômico em relação ao Ti, e por isso apresenta-se mais escuro em MEV (modo BSE).

O EDS confirmou a presença do contaminante (alumina) (**figura 1B**).

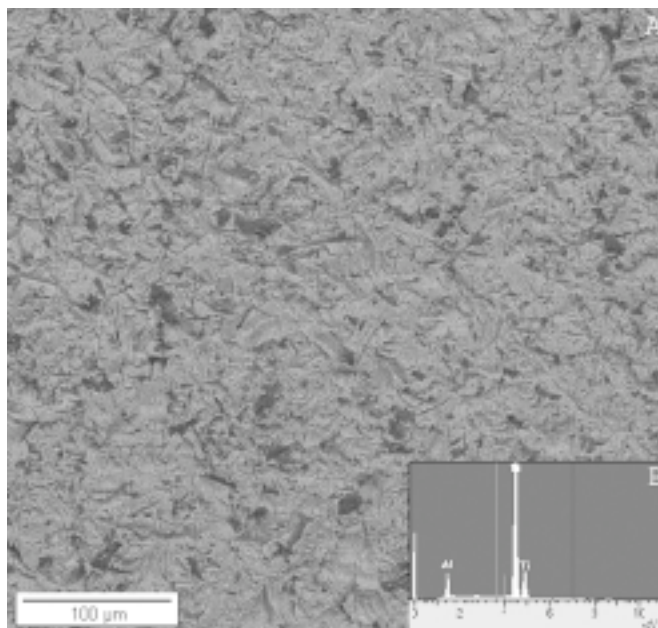


Figura 1. Fotomicrografia de superfície jateada com alumina (modo BSE). Aumento original 200 X. Em (A) pode-se notar muitas regiões escuras (contaminantes). B. Espectro de EDS - nota-se a presença do Al, além do Ti, na superfície.

Quantificação da alumina

A **figura 2B** mostra imagem feita selecionando objetos acima de 15 pixels (A15) e a **figura 2C** acima de 20 pixels (A20) de tamanho. O percentual médio de cobertura superficial pelos “objetos” (alumina) encontrados nas mesmas imagens foi: 9.72% (± 0.50) para A15 (Fig. 2D) e 5.73% (± 0.37) para A20 (**figura 2E**). O teste estatístico empregado mostrou uma diferença significativa ($p < 0.0001$) entre os dois valores.

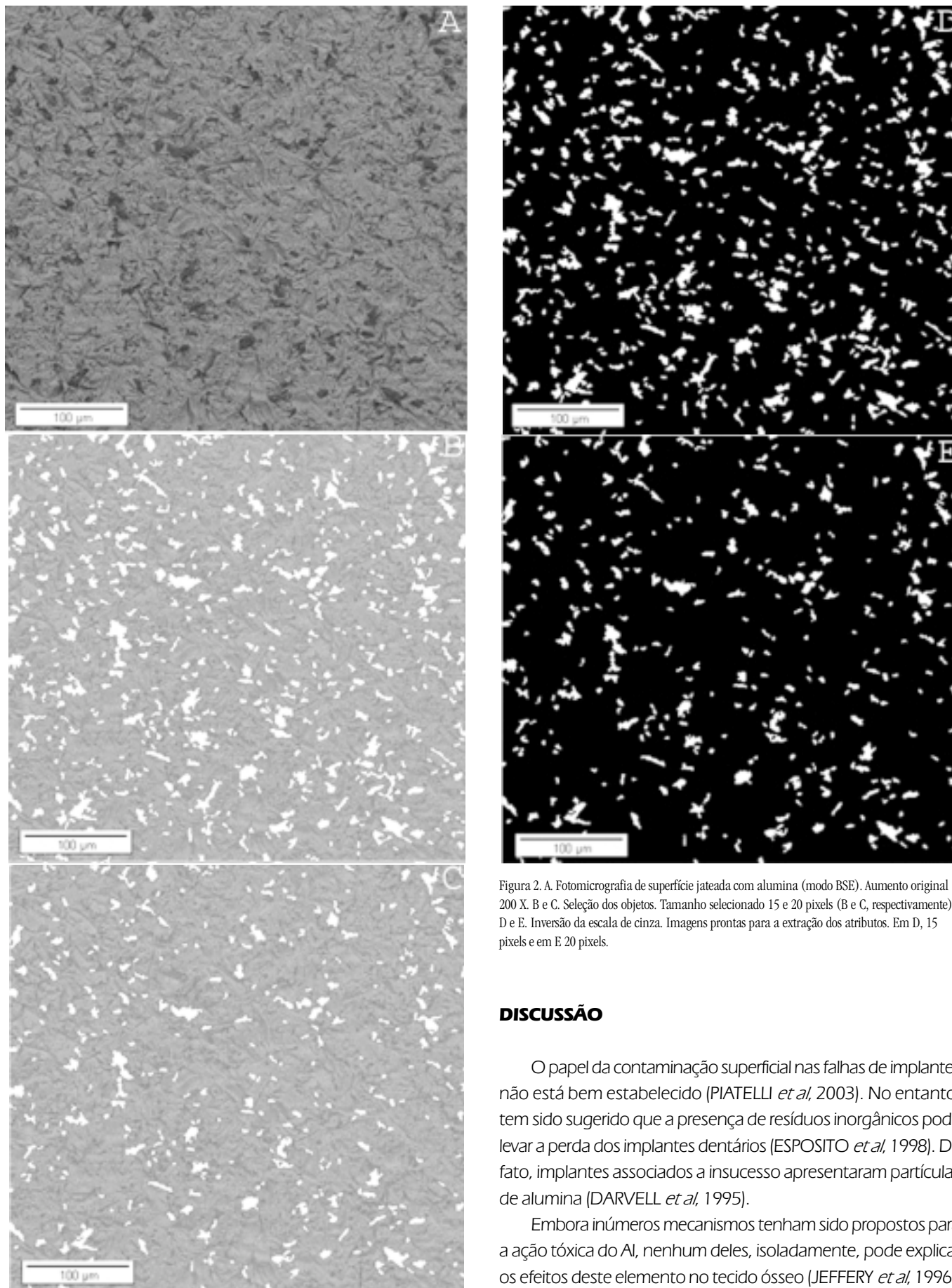


Figura 2. A. Fotomicrografia de superfície jateada com alumina (modo BSE). Aumento original 200 X. B e C. Seleção dos objetos. Tamanho selecionado 15 e 20 pixels (B e C, respectivamente). D e E. Inversão da escala de cinza. Imagens prontas para a extração dos atributos. Em D, 15 pixels e em E 20 pixels.

DISCUSSÃO

O papel da contaminação superficial nas falhas de implantes não está bem estabelecido (PIATELLI *et al*, 2003). No entanto, tem sido sugerido que a presença de resíduos inorgânicos pode levar a perda dos implantes dentários (ESPOSITO *et al*, 1998). De fato, implantes associados a insucesso apresentaram partículas de alumina (DARVELL *et al*, 1995).

Embora inúmeros mecanismos tenham sido propostos para a ação tóxica do Al, nenhum deles, isoladamente, pode explicar os efeitos deste elemento no tecido ósseo (JEFFERY *et al*, 1996).

Tratamentos químicos têm sido usados para remover contaminantes oriundos dos procedimentos de tratamento de superfície. Soluções com ácido fluorídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, entre outras, têm sido usadas para este fim (KAWAHARA, 1995). Especificamente o HF tem mostrado bons resultados na remoção completa da alumina, dependendo da concentração e do tempo de aplicação (DINIZ *et al*, 2002; DINIZ *et al*, 2005).

Embora estudos *in vivo* não tenham dado suporte a hipótese de que a presença de alumina possa prejudicar a osseointegração (ESPOSITO *et al*, 1998, PIATELLI *et al*, 2003), o contínuo controle do processo de fabricação dos implantes pode ser uma boa medida de precaução (DINIZ *et al*, 2005).

No presente trabalho, foi avaliada a capacidade do programa de computador KS400 em quantificar resíduos de alumina sobre amostras de titânio rugosas (jateadas com óxido de alumínio), variando o tamanho de detecção dos objetos. Verificou-se que a mesma imagem pode ter diferentes quantidades superficiais de resíduos, dependendo de pequenas variações nos parâmetros usados para quantificação.

É importante destacar que dentre os métodos possíveis de análise numérica (quantificação), destaca-se o uso de ferramentas digitais. A utilização de programas de processamento e análise digital de imagens baseia-se na verificação do número de pixels dentro de cada objeto (MALKUSCH, 2000). Como o pixel é a unidade elementar de cada imagem digital, sua detecção, em imagens binárias, possibilita a extração de dados geométricos dos objetos (como forma, diâmetro, etc) e a quantificação da área de cobertura dos mesmos, somando-se todos os pixels "brancos" sobre o fundo "preto" (MALKUSCH, 2000). Uma vez que os parâmetros tenham sido definidos no processamento das imagens, uma seqüência de análises padronizadas pode ser realizada em todas elas, em poucos segundos (DINIZ *et al*, 2005). Porém, conforme demonstrado no presente trabalho, estes programas são altamente dependentes da definição dos parâmetros pelo avaliador. Portanto, pode ser uma medida importante o cuidado constante no controle dos vieses (principalmente o de aferição) na utilização do KS400, pois uma pequena variação de 5 pixels provocou uma diferença altamente significativa na quantificação da alumina nas superfícies das amostras de Ti.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho indicaram que a mesma imagem pode apresentar quantidades significativamente diferentes de contaminantes superficiais dependendo dos parâmetros escolhidos pelo avaliador.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Professora Doutora Marília Garcia Diniz (Departamento de Engenharia Mecânica, UERJ, RJ) pela ajuda no preparo das amostras de titânio e ao professor doutor Sidnei Paciornik (Laboratório de Análise e Processamento Digital de Imagens, DCMM, PUC/RJ, RJ) pela utilização do programa de computador KS400.

ABSTRACT

The objective of the present study was to quantify residues of alumina present on rough titanium surfaces, varying the size of detection of the objects. Plates of Ti grade II were sand blasted with alumina (65 μm of average size) during 1 minute. Three distinct samples were analyzed. Ten images of the surfaces were obtained from each sample using scanning electronic microscope (SEM). The aluminum (Al) could be viewed in the images using SEM (BSE mode). The semi quantitative analysis was carried out by spectroscopic dispersion of energy and confirmed the presence of the Al. After processing the images using the KS400 software (ZEISS, Oberkochen, Germany), 2 parameters were randomly established to detect the objects: more than 15 (A15) and more than 20 (A20) pixels of size. Each image was submitted to both evaluations. Alumina was found in the images as follows: 9.72% (± 0.50) for A15 and 5.73% (± 0.37). These values were analyzed by t test for independent samples which showed a significant difference ($p < 0.0001$). These results indicate that statistically different quantities of contaminants can be detected in the same image, based on the parameters chosen. Therefore, the manner as digital data are obtained can affect significantly the results of the study.

UNITERMS: Titanium; Dental Implants; Image Processing, Computer-Assisted;.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Caruntu ID. Highly effective techniques in computerized dental tissue morphometry. *J Cell Mol Med* 2002;6:631-42.
- 2- Darvell BW, Samman N, Luk WK, Clark RKF, Tideman H. Contamination of titanium castings by aluminum oxide blasting. *J Dent* 1995;23:319-322.
- 3- Diniz MG, Pinheiro MAS, Andrade Jr ACC, Fischer RG. Characterization of titanium surfaces for dental implants with inorganic contaminant. *Braz Oral Res* 2005;19:106-11.
- 4- Diniz MG, Soares GA, Coelho MJ, Fernandes MH. Surface topography modulates the osteogenesis in human bone marrow cell cultures grown on titanium samples prepared by a combination of mechanical and acid treatments. *J Mater Sci Mater Med* 2002;13: 421-32.
- 5- Ellingsen JE. Surface configurations of dental implants. *Periodontol* 2000 1998;17:36-46.
- 6- Esposito M, Hirsch J-M, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants (II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci* 1998;106: 721-64.
- 7- Jeffery EH, Abreo K, Burgess E, Cannata J, Greger JL. Systemic aluminum toxicity: effects on bone, hematopoietic tissue and kidney. *J Toxicol Environ Health* 48: 649-65.
- 8- Kawahara H. Biomaterials for Dental Implants. In: Wise, D.L. *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1995.
- 9- Malkusch W. Fundamentals and problem-solving: sequences of quantitative image analysis. *Lab Focus* 2000;4:15-17.
- 10- Miracco C, De Santi MM, Schurfeld K, Santopietro R, Lalinga AV, Fimiani M, Biagioli M, Brogi M, De Felice C, Luzi P, Andreassi L. Quantitative in situ evaluation of telomeres in fluorescence in situ hybridization-processed sections of cutaneous melanocytic lesions and correlation with telomerase activity. *Br J Dermatol* 2002;146:399-408.
- 11- Piattelli A, Degidi M, Paolantonio M, Mangano C, Scarano A. Residual aluminum oxide on the surface of titanium implants has no effect on osseointegration. *Biomaterials* 2003;24: 4081-4089.
- 12- Rosa AL, Beloti MM. Effect of cpTi surface roughness on human bone marrow cell attachment, proliferation and differentiation. *Braz Dent J* 2003;14: 16-21.
- 13- Santinelli A, Mazzucchelli R, Colanzi P, Tinca A, Montironi R. Image processing, diagnostic information extraction and quantitative assessment in pathology. *J Cell Mol Med* 2002;6:93-106.
- 14- Schuster C, Smolle J, Aberer W, Kranke B. Vascular pattern of the palms--a clinical feature of atopic skin diathesis. *Allergy* 2006;61:1392-1396.
- 15- Zippel R, Hoene A, Walschus U, Jarchow R, Ueberrueck T, Patrzyk M, Schlosser M, Wilhelm L. Digital image analysis for morphometric evaluation of tissue response after implanting alloplastic vascular prostheses. *Microsc Microanal* 2006;12:366-75.

Endereço para correspondência:
 Antonio Carlos Canabarro Andrade Junior
 Faculdade de Odontologia. UERJ - Boulevard 28 de setembro, 157 -
 Vila Isabel CEP: 20551030 - Rio de Janeiro - RJ
 Tel/Fax: (21) 2587-6382
 E-mail: andradejr13@gmail.com
 E-mail: ajunior@uerj.br