

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Ivana D. Damnjanović

**BIOKOMPATIBILNOST I PONAŠANJE U
KOROZIONOJ SREDINI MATERIJALA
NA BAZI TITANA ZA IZRADU
DENTALNIH IMPLANATA**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Ivana D. Damnjanović

**BIOCOMPATIBILITY AND BEHAVIOR IN
CORROSIVE ENVIRONMENT OF
TITANIUM BASED MATERIALS FOR
DENTAL IMPLANTS APPLICATION**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentori:

Dr Branko Bugarski, redovni profesor
Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr Marko Rakin, redovni profesor
Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

Dr Ivana Cvijović-Alagić, naučni saradnik
Institut za nuklearne nauke „Vinča“ Univerziteta u Beogradu

Dr Jelena Bajat, redovni profesor
Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr Đorđe Veljović, docent
Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu

Doktorand:

Ivana Damnjanović, istraživač-saradnik
Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Izjave zahvalnosti

Najpre bih želela da se zahvalim mentoru, prof. dr Marku Rakinu, sa kojim sam započela svoj naučno-istraživački rad na osnovnim studijama tokom izrade diplomskog rada, a potom ga, na svoje veliko zadovoljstvo, uspešno nastavila tokom izrade doktorske disertacije. Zahvaljujem mu se kao osobi koja je inicijalno prepoznala potencijal i pružila mi priliku da budem deo njegovog tima, omogućila povezivanje sa kolegama u inostranstvu i obezbedila uslove za izradu doktorske disertacije. Hvala na velikoj podršci.

Zahvaljujem se mentoru, prof. dr Branku Bugarskom, koji mi je ukazao puno poverenje i bezrezervno primio u svoj stručni tim za rad i ostvarenje ciljeva na naučno-istraživačkom projektu iz oblasti integralnih i interdisciplinarnih istraživanja.

Veliku zahvalnost za pomoć i podršku dugujem dr Ivani Cvijović-Alagić, koja mi je nesebično širom otvorila vrata čudesnog sveta materijala na bazi titana i oberučke prihvatila pozivnicu za zajedničko putovanje puno avanture pri izradi ove doktorske disertacije. Zahvaljujem joj se na stručnoj pomoći u vezi analize rezultata, korisnim savetima pri objavljivanju radova i podstrekom da pred naučno-istraživačkim izazovima dam sve od sebe, zbog čega smatram da je rad sa njom na ovoj doktorskoj disertaciji bila posebna privilegija.

Veliku zahvalnost za pomoć u eksperimentalnom radu, obradi i analizi rezultata tokom izrade ove disertacije dugujem članovima komisije, prof. dr Jeleni Bajat i doc. dr Đorđu Veljoviću, čiji su saveti bili od velike koristi.

Zahvaljujem se saradnicima Instituta za onkologiju Vojvodine, dr Vesni Kojić i dr Dimitru Jakimovu, saradnicima Vojnotehničkog instituta, mr Milutinu Nikačeviću i mr Ljubici Radović, kao i profesorima Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, dr Marici Rakin, dr Antoniju Onjia i dr Aleksandri Perić-Grujić, za svesrdnu pomoć u eksperimentalnom radu i obezbeđivanju prostora i opreme za izvođenje eksperimentalnog dela doktorske disertacije.

Zahvalnost na prijateljskom razumevanju i savetima, na brojnim diskusijama vezanim za istraživački rad i preporukama za poboljšanje kvaliteta doktorske disertacije dugujem kolegama doc. dr Bojanu Među i Nataši Obradović, dipl. inž. tehn. Zahvalnost takođe dugujem prijatelju, prof. dr Slaviši Putiću, koji me je neumorno podsećao na značaj prijateljstva i timskog rada za uspešnu realizaciju svakog započetog projekta. Zahvalnost na podršci dugujem prof. dr Đorđu Janačkoviću, koji mi je ukazao koliko je značajno biti požrtvovan i istrajan i koji me je u više navrata vraćao na pravi put u ovoj dugoj i zanimljivoj avanturi izrade doktorske disertacije.

Moja inspiracija i izvor snage je moja porodica. Zahvaljujem se suprugu Milošu, koji je strpljivo stajao uz mene proteklih godina i sinu Luki, kome je reč „doktorat“ bila među prvim izgovorenim. Hvala im što su me istrajno i svakodnevno podržavali za sve vreme trajanja ovog, meni tako važnog, projekta. Najiskrenije vas volim.

Zahvalnost i neizmernu ljubav dugujem svojim roditeljima, Vesni i Dejanu, koji su mi utabali put do mesta na kome se u ovom trenutku nalazim. Zahvaljujem im se na bezgraničnom strpljenju za sve moje životne „ludosti“, što su mi pokazali koliko su široke granice mojih mogućnosti terajući me da uvek idem, bar korak, izvan okvira koje sama postavim i što su kritički podržavali moju istraživačku maštu. Njima u čast je od srca posvećena ova disertacija.

Ključ za svaku nauku jeste znak pitanja.

Onore de Balzak

*Onaj koji pored nauke traži druga uživanja,
mora da još nije osetio pravo uživanje u njoj.*

Gothold Efraim Lesing

BIOKOMPATIBILNOST I PONAŠANJE U KOROZIONOJ SREDINI MATERIJALA NA BAZI TITANA ZA IZRADU DENTALNIH IMPLANATA

Sažetak:

Osnovna težnja razvoja biokompatibilnih metalnih materijala je poboljšanje karakteristika implanata sa ciljem obezbeđenja funkcionisanja implanata u ljudskom organizmu bez štetnih efekata, produženje radnog veka implanata bez potrebe za revizionom hirurškom intervencijom i poboljšanje kvaliteta života pacijenata. Stoga je cilj ove doktorske disertacije bio da se sa multidisciplinarnog stanovišta sagleda biokompatibilnost i koroziona postojanost materijala na bazi titana dobijenih konvencionalnim postupcima izrade u uslovima koji simuliraju uslove u oralnoj sredini, kao i razvoj nove serije biokompatibilnih materijala na bazi titana poboljšanih karakteristika za primenu u oralnoj implantologiji.

U okviru doktorske disertacije je ispitana mogućnost izrade sitnozrnih metalnih materijala na bazi titana primenom savremenog postupka uvijanja pod visokim pritiskom (HPT) i definisani su optimalni procesni parametri. Opsežna ispitivanja krupnozrnih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade (komercijalno čist titan (CPTi), Ti-6Al-4V (mas.%) legura, Ti-13Nb-13Zr legura i Co-Cr-Mo legura komercijalnog naziva *Wironit*®) i sitnozrnih materijala dobijenih HPT postupkom (UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura) su izvedena sa ciljem uspostavljanja složene međuzavisnosti hemijskog sastava, mikrostrukturnih karakteristika i ponašanja materijala u uslovima koji simuliraju uslove u ljudskom organizmu.

Karakterizacija svih navedenih materijala, kako onih dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, tako i materijala dobijenih savremenim HPT postupkom, je izvršena primenom svetlosne mikroskopije (SM), skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) i skenirajuće transmisionne elektronske mikroskopije (STEM). Homogenost materijala podvrgnutih HPT postupku je procenjena određivanjem mikrotvrdoće i analizom profila mikrotvrdoće duž prečnika uzoraka oblika diska. Sa ciljem definisanja zavisnosti između otpuštanja jona, sastava i pH vrednosti medijuma i dužine izlaganja materijala medijumu koji simulira uslove u oralnoj sredini, materijali su izloženi rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti na temperaturi od 37°C tokom 1, 3 i 6 nedelja i koncentracija otpuštenih jona je određena primenom induktivno spregnute plazme sa masenom spektrometrijom (ICP-MS). Otpornost prema koroziji obe grupe materijala je ispitana primenom potenciodinamičke metode i metode spektroskopije elektrohemijske impedancije (EIS), pri čemu su određeni elektrohemijski parametri, priroda i karakteristike oksidnih slojeva prisutnih na korodiranoj površini ispitivanih materijala. Polazeći od hipoteze da prevođenje krupnozrnog u sitnozrni metalni materijal treba da uslovi poboljšanje bioloških karakteristika metalnog materijala, ispitan je uticaj HPT postupka na biokompatibilnost i citotoksičnost materijala na bazi titana. Ocena citotoksičnosti metalnih materijala je izvršena primenom testa odbacivanja boje (DET), agar difuzionog testa (ADT) i kolorimetrijskog testa sa tetrazolijum solima (MTT) korišćenjem animalnih i

humanih fibroblastnih ćelijskih linija (L-929 i MRC-5). Morfologija i adhezija ćelija na površini metalnih materijala su ispitane primenom SEM.

Mikrostrukturnom karakterizacijom je utvrđeno da je CPTi jednofazni materijal čija se mikrostruktura na sobnoj temperaturi sastoji iz ravnoosnih zrna α faze, dok u mikrostrukтури Ti-13Nb-13Zr legure, koja se sastoji iz α i β faze, preovlađuje α faza acikularne morfologije. Mikrostruktura Ti-6Al-4V legure se sastoji iz zaobljenih zrna α faze u osnovi β faze, dok je komercijalna legura *Wironit*® dendritne mikrostrukture. Rezultati pokazuju da primena HPT postupka dovodi do promene mikrostrukture CPTi na taj način što visoki pritisak bez uvijanja dovodi do izduženja α zrna, dok primena visokog pritiska u kombinaciji sa uvijanjem dovodi do formiranja ultrafinih globularnih α zrna. Primena HPT postupka kod Ti-13Nb-13Zr legure dovodi do transformacije acikularnih u globularna α zrna, čije granice imaju zamućen izgled usled pojave visokog unutrašnjeg naprezanja.

Primenjeni HPT postupak dovodi do usitnjavanja mikrostrukture, pri čemu se kod UFG CPTi veličina zrna smanjuje od centra ka ivici uzorka, dok su kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure zrna krupnija na ivici u poređenju sa središnjim delom uzorka. Povećanje broja obrtaja primenjenog HPT postupka do 5 dovodi do smanjenja veličine zrna, dok povećanje broja obrtaja iznad 5 ne dovodi do daljeg usitnjavanja mikrostrukture. Navedeni rezultati jasno pokazuju da je 5 optimalan broj obrtaja HPT postupka koji dovodi do zasićenja mikrostrukture. Sa povećanjem broja obrtaja primenjenog HPT postupka dolazi do povećanja mikrotvrdoće do dostizanja ravnotežne vrednosti, koja je u vezi sa formiranjem zasićene mikrostrukture. Najuniformnija raspodela mikrotvrdoće duž prečnika uzoraka je dobijena za UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr leguru podvrgnutih HPT postupku na 5 obrtaja, što potvrđuje visok stepen homogenosti HPT deformisanih materijala.

Rezultati ispitivanja otpuštanja jona su omogućila definisanje zavisnosti između koncentracije otpuštenih jona, pH vrednosti medijuma i dužine potapanja implantnih materijala u medijumu. Naime, kod materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, sa povećanjem vremena potapanja i smanjenjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona. Osim toga, rezultati pokazuju da koncentracija otpuštenih jona nije u linearnoj zavisnosti sa udelom elementa u leguri. Sitnozrni materijali otpuštaju jone u manjem stepenu od krupnozrnih materijala, pa je koncentracija otpuštenih jona iz UFG CPTi 100 puta manja od koncentracije otpuštenih jona iz CPTi, dok se iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure otpušta 32 puta manja koncentracija jona u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom. Prema opadajućem stepenu otpuštanja jona ispitivani materijali mogu da se rasporede u sledeći niz: CPTi>Ti-13Nb-13Zr>UFG Ti-13Nb-13Zr>UFG CPTi. Analiza otpuštene količine pojedinačnih jona nakon 7 dana je pokazala da je količina otpuštenih jona iz svih ispitivanih materijala manja od dozvoljene količine prema ISO 22674 standardu. Sprovedena ispitivanja uticaja fluorida, koji su prisutni u velikom broju tečnosti za ispiranje usta i sredstava za oralnu higijenu, na stepen otpuštanja jona su pokazala da prisustvo fluorida u rastvoru veštačke pljuvačke značajno povećava koncentraciju otpuštenih jona u poređenju sa rastvorom bez prisustva fluorida.

Elektrohemijska ispitivanja su pokazala da se CPTi i UFG CPTi odlikuju sličnim elektrohemijskim ponašanjem u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke, dok se UFG Ti-13Nb-13Zr legura odlikuje većom korozionom otpornošću od Ti-13Nb-

13Zr legure u inicijalnom stanju. Razlog korozione postojanosti svih ispitivanih materijala na bazi titana je formiranje dvoslojnog oksidnog filma na površini. UFG CPTi pokazuje najveći stepen korozione otpornosti u rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti, što je u skladu sa rezultatima statičkog testa potapanja prema kome se iz UFG CPTi otpušta najmanja koncentracija jona.

Rezultati sprovedenih DET, ADT i MTT testova su pokazali da materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade i materijali dobijeni HPT postupkom nisu citotoksični. Srednja vrednost vijabilnosti L-929 i MRC-5 ćelija u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima je veća od srednje vrednosti vijabilnosti ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom. MRC-5 ćelije na površini svih ispitivanih materijala su pravilnog trouglastog, izduženog vretenastog i zvezdastog oblika sa izraženim citoplazmatičnim nastavcima. Dobijeni rezultati su eksplicitno istakli da su obe ispitivane grupe materijala adekvatne biokompatibilnosti i da su bezbedne za primenu u ljudskom organizmu.

Ključne reči: materijali na bazi titana, Ti-13Nb-13Zr legura, HPT proces, veštačka pljuvačka, otpuštanje jona, koroziona otpornost, biokompatibilnost

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uže naučne oblasti: Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija i Inženjerstvo materijala

BIOCOMPATIBILITY AND BEHAVIOR IN CORROSIVE ENVIRONMENT OF TITANIUM BASED MATERIALS FOR DENTAL IMPLANTS APPLICATION

Abstract:

The main goal of biocompatible metallic materials development is improvement of implants' characteristics in order to obtain functioning of implants in human body without harmful effects, prolongation of implants' working life with no needs for surgical revision and improvement of patients' life quality. Having that in mind, the purpose of this doctoral dissertation was to review, by multidisciplinary approach, biocompatibility and corrosion resistance of titanium based materials obtained by conventional processing methods in conditions that simulate oral environment, as well as development of new series of biocompatible titanium based materials enhanced characteristics for application in oral implantology.

In the framework of this doctoral dissertation, the possibility of ultrafine grained (UFG) titanium based materials production using contemporary high pressure torsion (HPT) process was studied and the optimal process parameters were defined. Extensive examinations of coarse grained (CG) materials obtained by conventional processing methods (commercially pure titanium (CPTi), Ti-6Al-4V (mass %) alloy, Ti-13Nb-13Zr alloy and Co-Cr-Mo alloy commercially named *Wironit*®) and UFG materials obtained by HPT (UFG CPTi and UFG Ti-13Nb-13Zr alloy) were performed in order to establish complex dependences between chemical composition, microstructural characteristics and materials behavior in simulated human body conditions.

Characterization of materials produced by conventional processing methods, as well as materials produced by modern HPT process, was conducted using light optical microscopy (LOM), scanning electron microscopy (SEM) and scanning transmission electron microscopy (STEM). The homogeneity of materials subjected to HPT process was assessed by microhardness testing and analyzing microhardness profile along the diameter of the disc-shaped samples. In order to define dependence between metallic ion release, composition and pH value of medium, and immersion time in medium which simulates the conditions in the oral environment, materials were exposed to artificial saliva solution of different pH values at temperature of 37°C during 1, 3 and 6 weeks and the concentrations of released ions were determined by inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP-MS). The corrosion resistance of both groups of materials was evaluated using potentiodynamic polarization tests and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Electrochemical parameters, nature and characteristics of the oxide layers present on the metallic materials corroded surface were determined. Starting from the hypothesis that conversion of CG to UFG metallic material should improve biological characteristics of metallic material, the influence of HPT process on titanium based materials biocompatibility and cytotoxicity was examined. Cytotoxicity assessment of metallic materials was conducted by dye exclusion test (DET), agar diffusion test (ADT) and colorimetric assay with tetrazolium salt (MTT) using animal and human fibroblast cell lines (L-929 and MRC-5). The

morphology and cell adhesion on metallic materials surface were examined using SEM.

Microstructural characterization revealed that CPTi is a single-phase material whose microstructure at room temperature consists of equiaxed α grains, while microstructure of Ti-13Nb-13Zr alloy consists of two phases: α and β , whereby acicular α phase prevails in microstructure. Microstructure of Ti-6Al-4V alloy consists of globular α phase in β phase matrix, while microstructure of commercial alloy *Wironit*® is dendritic. The results showed that HPT process leads to microstructure changes in such a way that high pressure without torsion leads to α grains elongation, while high pressure in combination with torsion leads to formation of ultrafine globular α grains. Applying HPT process to Ti-13Nb-13Zr alloy leads to transformation of acicular to globular α grains, whose boundaries were blurry due to high internal stress appearance.

The applied HPT process leads to the microstructure refinement, whereby in the case of UFG CPTi, grain size decreasing from the center to the sample edge, while in the case of Ti-13Nb-13Zr alloy, grains are larger at the edge compared to the center of the sample. With increasing the number of rotation up to 5, the grain size decreases, while increasing the number of rotation above 5 does not lead to further microstructure refinement. These results clearly show that 5 is optimal number of rotation of the HPT process which leads to the microstructure saturation. Furthermore, with increasing the number of rotation, microhardness increases to the equilibrium value associated with the formation of saturated microstructure. The most uniform microhardness distribution along the sample diameter was obtained for UFG CPTi and UFG Ti-13Nb-13Zr alloy produced by HPT at 5 rotations, which confirms high degree of homogeneity of HPT deformed materials.

The results of ion release testing enabled the determination of the dependence between the concentration of released ions, pH value of medium and the length of implant material immersion in the medium. Namely, in the case of materials obtained by conventional processing methods, with increasing immersion time and decreasing pH value of the artificial saliva solution, the concentration of released ions increases. In addition, the results show that the concentration of released element is not linearly dependent on its weight content in the alloy. UFG materials release the lower level of ions in compare to CG materials, so concentration of released ions from UFG CPTi are 100 times smaller than concentration of released ions from CPTi, while UFG Ti-13Nb-13Zr alloy releases 32 times lower ion concentration compared to Ti-13Nb-13Zr alloy. According to the decreasing level of ion release, the examined materials can be arranged in the following series: CPTi>Ti-13Nb-13Zr>UFG Ti-13Nb-13Zr>UFG CPTi. An analysis of the released quantity of individual ions after 7 days showed that the quantity of released ions from all tested materials is less than the permitted quantity according to ISO 22674 standard. The conducted examinations about effect of fluoride ions, which are mainly present in mouthwash and oral hygiene products, have shown that the presence of fluoride in artificial saliva solution significantly increases the concentration of released ions in comparison with the artificial saliva solution without fluoride.

Electrochemical studies have shown that CPTi and UFG CPTi are characterized by similar electrochemical behavior in neutral artificial saliva solution, while UFG Ti-13Nb-13Zr alloy has a greater corrosion resistance than Ti-13Nb-13Zr alloy in the initial state. The reason for the corrosion resistance of all tested titanium-based materials is the formation of a two-layer oxide film on the surface. The UGG CPTi shows the highest degree of corrosion resistance in artificial saliva solution of different pH values, which is in accordance with the results of static immersion tests by which UFG CPTi is released the smallest concentration of ions.

The results of the conducted DET, ADT and MTT tests showed that materials obtained by conventional processing methods, as well as materials obtained by the HPT process are not cytotoxic. The viability of the L-929 and MRC-5 cells in contact with all the examined materials is higher than the viability of the cells in contact with the control material. The MRC-5 cells on the surface of the all tested materials are regular triangular, elongated spindle and star shaped form with pronounced cytoplasm extensions. The obtained results explicitly indicated that both tested groups of materials show adequate biocompatibility and they are safe for application in the human body.

Key words: titanium-based materials, Ti-13Nb-13Zr alloy, HPT process, artificial saliva, ion release, corrosion resistance, biocompatibility

Scientific field: Technological engineering

Scientific subfield: Biochemical engineering and biotechnology and Materials engineering

Lista skraćenica i oznaka korišćenih u doktorskoj disertaciji

| | |
|-----------|---|
| A | - površina uzorka koji je izložen medijumu [cm ²] |
| ADT | - agar difuzioni test |
| A_k | - apsorbanca kontrolnih uzoraka |
| ARB | - kumulativno valjanje (Accumulative Roll-Bonding) |
| As | - apsorbanca uzoraka sa ispitivanim materijalom |
| ASTM | - American Society for Testing and Materials |
| bcc | - zapreminski centrirana kubna rešetka (body-centered cubic) |
| BME | - bazalni medijum (Basal Medium Eagle's) |
| BSE | - elektroni povrtanog raspršenja (Back-Scattered Electrons) |
| C | - koncentracija jona [g·l ⁻¹] |
| CAROL | - kalibracijsko valjanje (caliber rolling) |
| Cb | - kapacitivnost barijernog sloja [F·m ⁻²] |
| CCDF | - ciklično kovanje u zatvorenom kalupu (Cyclic Closed-Die Forging) |
| CE znak | - oznaka usaglašenosti kvaliteta sa evropskom normom |
| CEC | - ciklično kompresivno izvlačenje (Cyclic Extrusion Compression) |
| CG | - krupnozrni (Coarse Grained) |
| CI | - citotoksičnost |
| Cp | - kapacitivnost poroznog sloja [F·m ⁻²] |
| CPAl | - komercijalno čist aluminijum (Commercially Pure Aluminium) |
| CPE | - element sa konstantnim faznim uglom |
| CPNb | - komercijalno čist niobijum (Commercially Pure Niobium) |
| CPTa | - komercijalno čist tantal (Commercially Pure Tantalum) |
| CPTi | - komercijalno čist titan (Commercially Pure Titanium) |
| CV | - indeks ćelijske vijabilnosti (Cell Viability) |
| d | - prečnik zrna [m] |
| DET | - test odbacivanja boje (Dye Exclusion test) |
| DI | - indeks obezbojavanja (Decolorization Index) |
| E | - modul elastičnosti [GPa] |
| E_0 | - standardni elektrodni potencijal [V] |
| ECAP | - jednakokanalno ugaono presovanje (Equal Channel Angular Pressing) |
| EEK | - ekvivalentno električno kolo |
| EIS | - spektroskopija elektrohemijske impedancije (Electrochemical Impedance Spectroscopy) |
| E_{kor} | - korozioni potencijal [V] |
| ELI | - materijal sa malo intersticijala (Extra-Low Interstitial) |
| E_{ok} | - potencijal otvorenog kola [V] (Open Circuit Potential, OCP) |
| E_p | - elektrodni potencijal [V] |
| F | - Faradejeva konstanta [96485,34 C·mol ⁻¹] |
| FBS | - serum od embrionalnih ćelija govečeta (Fetal Bovine Serum) |
| fcc | - površinski centrirana kubna rešetka (face-centered cubic) |

Lista skraćenica i oznaka

| | |
|------------|--|
| h | - debljina uzorka [m] |
| HAP | - hidroksiapatit |
| hcp | - heksagonalna gusto pakovana rešetka (hexagonal close-packed) |
| HEPES | - 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonska kiselina |
| HPT | - uvijanje (torzija) pod visokim pritiskom (High Pressure Torsion) |
| HV | - tvrdoća po Vickersu (Vickers Hardness) |
| ICP-MS | - induktivno spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrophotometry) |
| IEP | - izoelektrična tačka (isoelectric point), point of zero charge, pzs |
| ISO | - International Organisation for Standardisation |
| JIS | - Japanese Industrial Standards |
| j_{kor} | - gustina struje korozije [$A \cdot m^{-2}$] |
| K | - frakcija preživelih ćelija [%] |
| k_y | - konstanta koja zavisi od materijala u Hall-Petch-ovoj jednačini [$Pa \cdot m^{1/2}$] |
| L-929 | - animalne fibroblastne ćelije |
| LI | - indeks liziranja (Lysis Index) |
| lp | - longitudinalni pravac |
| M | - koncentracija jona [$mol \cdot l^{-1}$] |
| MDD | - direktiva za opšta medicinska sredstva (Medical Devices Directive) |
| MDF | - višeosno sabijanje (Multi-Directional Forging) |
| MEM | - medijum rastvor ćelijskih kultura (Minimum Essential Medium) |
| MRC-5 | - humane fibroblastne ćelije |
| MTT | - 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid |
| n | - broj obrtaja rotirajućeg alata u HPT postupku |
| N | - koordinatni broj - broj najbližih okolnih atoma |
| NIH | - nacionalni institut za zdravlje SAD (National Institute of Health, USA) |
| N_k | - broj ćelija kontrolnih uzoraka |
| NR | - neutral crveno (Neutral Red) |
| NS | - nanočestični (Nano Structured) |
| N_s | - broj ćelija uzoraka sa ispitivanim materijalom |
| PBS | - fosfatni puferski slani rastvor (Phosphate Buffered Saline) |
| ph | - negativan logaritam koncentracije vodonikovih jona u rastvoru |
| PMMA | - polimetilmetakrilat |
| PTFE | - politetrafluoroetilen |
| r | - poluprečnik uzorka [m] ili rastojanje od centra uzorka [m] |
| R | - univerzalna gasna konstanta [$8,3145 J \cdot mol^{-1} K^{-1}$] |
| R_b | - otpornost barijernog sloja [$\Omega \cdot cm^2$] |
| RCS | - naizmenično savijanje i ispravljanje (Repetitive Corrugation and Straightening) |
| R_p | - otpornost poroznog sloja [$\Omega \cdot cm^2$] |
| R_{pros} | - prosečan stepen otpuštanja [$\mu g \cdot dan^{-1} \cdot cm^{-2}$] |
| R_s | - otpornost elektrolita [$\Omega \cdot cm^2$] |
| R_t | - stepen otpuštanja po danu [$\mu g \cdot cm^{-2}$] |
| SA(E)D | - elektronska difrakcija odabranog područja (Selected Area (Electron) |

| | | |
|--------------------|---|---|
| | - | Diffraction) |
| SAD | - | Sjedinjene Američke Države |
| SBF | - | rastvor koji simulira biofluide (Simulated Body Fluid) |
| SD | - | standardna devijacija |
| SE | - | sekundarni elektroni (Secondary Electrons) |
| SEM | - | skenirajuća elektronska mikroskopija (Scanning Electron Microscopy) |
| STEM | - | skenirajuća transmisiona elektronska mikroskopija (Scanning Transmission Electron Microscopy) |
| SiC | - | silicijumkarbid |
| SM | - | svetlosna mikroskopija (Light Optical Microscopy, LOM) |
| SPD | - | intenzivna plastična deformacija (Severe Plastic Deformation) |
| ST | - | sobna temperatura [°C] |
| T | - | apsolutna temperatura [K] |
| t | - | debljina uzorka nakon ARB procesa [m] |
| t | - | vreme [dan] |
| t ₀ | - | početna debljina uzorka [m] |
| TB | - | tripan plavo (Trypan Blue) |
| TE | - | istiskivanje sa uvijanjem (Twist Extrusion) |
| TNZ | - | Ti-13Nb-13Zr legura |
| tp | - | transverzalni pravac |
| UFG | - | sitnozrni (Ultrafine Grained) |
| V | - | zapremina medijuma [l] |
| VZ _{pros} | - | prosečna veličina zrna [nm] |
| X | - | broj ćelija u 1 ml suspenzije |
| x | - | broj ćelija u 16 kvadrata komorice za brojanje |
| ZKE | - | Zasićena Kalomelova elektroda |
| γ_e | - | smičuća efektivna deformacija |
| ϵ_e | - | normalna efektivna plastična deformacija |
| ϵ_{izd} | - | procentualno izduženje pri deformaciji epruvete [%] |
| ϵ_{red} | - | procentualna redukcija pri deformaciji epruvete [%] |
| σ_0 | - | napon trenja rešetke [Pa] |
| $\sigma_{0,2\%}$ | - | napon tečenja [Pa] |
| σ_m | - | zatezna čvrstoća [Pa] |
| Φ | - | ugao između kanala u kalupu ECAP alata |



SADRŽAJ

| | | |
|----------|--|----|
| 1. | UVOD..... | 1 |
| 2. | BIOMATERIJALI..... | 4 |
| 2.1. | DEFINICIJA BIOMATERIJALA..... | 4 |
| 2.2. | METALNI BIOMATERIJALI..... | 6 |
| 2.2.1. | Legure na bazi kobalta..... | 11 |
| 2.2.2. | Biomaterijali na bazi titana..... | 13 |
| 2.2.2.1. | <i>Komercijalno čist titan</i> | 14 |
| 2.2.2.2. | <i>Legure titana</i> | 15 |
| 2.2.2.3. | <i>Izbor legirajućih elemenata i razvoj biomedicinskih legura titana</i> | 18 |
| 2.2.2.4. | <i>Obrazovanje površinskih oksidnih slojeva na titanu</i> | 22 |
| 2.3. | ZAHTEVI KOJE TREBA DA ISPUNE IMPLANTNI MATERIJALI..... | 27 |
| 2.4. | PRIMENA METALNIH BIOMATERIJALA..... | 29 |
| 2.4.1. | Primena legura na bazi kobalta u biomedicini..... | 29 |
| 2.4.2. | Primena titana i njegovih legura u biomedicini..... | 30 |
| 3. | IMPLANTI U STOMATOLOŠKOJ PRAKSI..... | 32 |
| 3.1. | STRUKTURA I KARAKTERISTIKE VILICE..... | 32 |
| 3.2. | DENTALNI IMPLANTI..... | 35 |
| 3.3. | VRSTE DENTALNIH IMPLANATA..... | 36 |
| 3.4. | INDIKACIJE ZA UGRADNJU IMPLANATA..... | 40 |
| 3.5. | RAZLOZI ZA ODBACIVANJE IMPLANATA..... | 41 |
| 4. | LJUDSKI ORGANIZAM KAO BIOLOŠKA SREDINA ZA BIOMATERIJALE..... | 42 |
| 4.1. | ODGOVOR DOMAĆINA NA IMPLANT..... | 42 |
| 4.1.1. | Oseointegracija – ključ za uspeh implantacije..... | 45 |
| 4.1.2. | Faktori neophodni za oseointegraciju i uspešnu implantaciju..... | 48 |
| 4.2. | PONAŠANJE IMPLANTA U ORGANIZMU DOMAĆINA..... | 51 |
| 5. | KOROZIJA METALNIH IMPLANTNIH MATERIJALA..... | 53 |
| 5.1. | KOROZIJA DENTALNIH IMPLANATA..... | 54 |
| 5.2. | STEPEN KOROZIJE I POLARIZACIONE KRIVE..... | 58 |
| 5.3. | OTPUŠTANJE JONA IZ IMPLANTNIH MATERIJALA..... | 58 |
| 5.4. | ISPITIVANJE KOROZIJE..... | 61 |
| 5.4.1. | Testovi potapanja..... | 62 |
| 5.4.1.1. | <i>Sastav i koncentracija medijuma</i> | 62 |
| 5.4.1.2. | <i>pH vrednost medijuma</i> | 65 |



| | | |
|----------|---|-----|
| 5.4.1.3. | <i>Vreme potapanja</i> | 67 |
| 5.4.2. | Elektrohemijska ispitivanja | 68 |
| 6. | BIOKOMPATIBILNOST METALNIH MATERIJALA | 71 |
| 6.1. | PODELA MATERIJALA ZA IMPLANTE PREMA BIOKOMPATIBILNOSTI | 71 |
| 6.2. | ISPITIVANJE BIOKOMPATIBILNOSTI | 73 |
| 6.2.1. | Ćelijske kulture | 77 |
| 6.2.2. | Kontakt između ćelija i materijala | 78 |
| 6.2.3. | Direktni kontaktni citotoksični test | 79 |
| 6.2.4. | Indirektni kontaktni citotoksični test | 80 |
| 6.2.4.1. | <i>Agar difuzioni test</i> | 80 |
| 6.2.4.2. | <i>Filter difuzioni test</i> | 81 |
| 6.2.5. | MTT test | 81 |
| 6.2.6. | Test odbacivanja boje (DET) | 83 |
| 7. | SAVREMENI ASPEKTI RAZVOJA METALNIH MATERIJALA | 84 |
| 7.1. | SPD POSTUPCI PRERADE METALNIH MATERIJALA | 85 |
| 7.1.1. | Vrste SPD postupaka | 86 |
| 7.1.2. | HPT postupak | 88 |
| 7.1.3. | Karakteristike materijala podvrgnutih HPT postupku | 90 |
| 7.2. | MOGUĆNOST INDUSTRIJSKE PRIMENE SPD PROCESA OBRADE MATERIJALA | 91 |
| 8. | EKSPERIMENTALNI POSTUPAK | 93 |
| 8.1. | MATERIJALI I IZRADA | 93 |
| 8.1.1. | Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade | 93 |
| 8.1.2. | Materijali dobijeni HPT postupkom | 94 |
| 8.2. | MIKROSTRUKTURNA ISPITIVANJA | 95 |
| 8.3. | ISPITIVANJE TVRDOĆE | 96 |
| 8.4. | KOROZIONA ISPITIVANJA | 97 |
| 8.4.1. | Ispitivanje otpuštanja jona – statički test potapanja | 97 |
| 8.4.2. | Elektrohemijska ispitivanja | 99 |
| 8.5. | ISPITIVANJA BIOKOMPATIBILNOSTI | 102 |
| 8.5.1. | Ćelijske linije | 102 |
| 8.5.2. | Kolorimetrijski test sa tetrazolijum solima (MTT) | 102 |
| 8.5.3. | Test odbacivanja boje (DET) | 103 |
| 8.5.4. | Agar difuzioni test (ADT) | 104 |
| 8.5.5. | Morfologija ćelija | 105 |
| 9. | REZULTATI | 106 |



| | | |
|----------|--|-----|
| 9.1. | MATERIJALI DOBIJENI KONVENCIONALNIM POSTUPCIMA IZRADE | 106 |
| 9.1.1. | Mikrostrukturne karakteristike | 106 |
| 9.1.2. | Tvrdoća | 110 |
| 9.2. | MATERIJALI DOBIJENI HPT POSTUPKOM..... | 111 |
| 9.2.1. | Mikrostrukturne karakteristike | 111 |
| 9.2.2. | Tvrdoća | 121 |
| 9.3. | OTPUŠTANJE JONA | 123 |
| 9.3.1. | Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade..... | 123 |
| 9.3.1.1. | <i>Uticao pH vrednosti i vremena potapanja na otpuštanje jona...</i> | 123 |
| 9.3.1.2. | <i>Uticao fluorida na otpuštanje jona</i> | 130 |
| 9.3.1.3. | <i>Uticao sastava medijuma na otpuštanje jona</i> | 133 |
| 9.3.2. | Materijali dobijeni HPT postupkom..... | 136 |
| 9.4. | ELEKTROHEMIJSKA ISPITIVANJA | 138 |
| 9.5. | BIOKOMPATIBILNOST | 146 |
| 9.5.1. | Testovi citotoksičnosti..... | 146 |
| 9.5.1.1. | <i>Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade</i> | 146 |
| 9.5.1.2. | <i>Materijali dobijeni HPT postupkom</i> | 149 |
| 9.5.2. | Morfologija ćelija..... | 151 |
| 9.5.2.1. | <i>Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade</i> | 151 |
| 9.5.2.2. | <i>Materijali dobijeni HPT postupkom</i> | 156 |
| 10. | DISKUSIJA..... | 159 |
| 10.1. | Izrada materijala na bazi titana sitnozrne mikrostrukture | 159 |
| 10.2. | Otpuštanje jona iz metalnih materijala | 171 |
| 10.2.1. | Uticao pH vrednosti i vremena potapanja na otpuštanje jona | 172 |
| 10.2.2. | Uticao fluorida na otpuštanje jona | 177 |
| 10.2.3. | Uticao sastava medijuma na otpuštanje jona | 179 |
| 10.2.4. | Uporedna analiza količine otpuštenih jona iz materijala dobijenih konvencionalnim i HPT postupcima izrade..... | 180 |
| 10.3. | Elektrohemijsko ponašanje materijala | 187 |
| 10.4. | Biokompatibilnost materijala | 196 |
| 11. | ZAKLJUČAK..... | 202 |
| 12. | LITERATURA..... | 209 |



1. UVOD

Metalni materijali se koriste za fiksiranje ili zamenu oštećenih čvrstih tkiva ljudskog organizma i imaju široku primenu u medicini i stomatologiji za izradu implanata, vezivnih elemenata, fiksnih nadoknada i skeleta parcijalnih proteza zbog odličnih mehaničkih karakteristika [1, 2]. Obimna istraživanja sprovedena u poslednjem periodu pokazuju da ne postoje drugi gradivni materijali koji bi mogli zameniti metale kada su u pitanju složene konstrukcije i nadoknade, koje su u ljudskom organizmu izložene agresivnoj korozionoj sredini i velikim opterećenjima [3]. Odlične mehaničke karakteristike, među kojima se ističu visoka čvrstoća, žilavost i otpornost na habanje, su osnovne prednosti metala u poređenju sa drugim materijalima i čine ih nezamenjivim kada je u pitanju biomedicinsko inženjerstvo. Međutim, iako se intenzivno koriste u biomedicini, metalni materijali imaju i određene nedostatke. Glavni nedostaci metala, kao implantnih materijala, su neusklađenost modula elastičnosti metala i čvrstih ljudskih tkiva, njihova podložnost koroziji u kontaktu sa biofluidima i otpuštanje metalnih jona sa potencijalnim citotoksičnim efektom, što može uticati na pojavu neuroloških poremećaja i/ili drugih ozbiljnih zdravstvenih problema [4]. Pored toga, za primenu u stomatologiji, nepoželjne karakteristike metala su veliki koeficijent toplotne provodljivosti, velika gustina koja rezultuje izradom nadoknada koje su preteške, mala estetska vrednost i teška obradivost. Osnovna težnja razvoja biokompatibilnih metalnih materijala je obezbeđenje funkcionisanja implanata u ljudskom organizmu bez štetnih efekata, kao i produženje životnog veka i poboljšanje kvaliteta života pacijenata.

Najčešće korišćeni metalni materijali za zamenu određenog dela ili funkcije ljudskog organizma, pre svega na fiziološki prihvatljiv, ali i ekonomičan način, su titan i legure titana koji pokazuju dobru otpornost na koroziju, odgovarajuću biokompatibilnost i malu krutost koja omogućava najbolji prenos mehaničkih naprezanja implanata na kosti, dok formiranje titan-dioksida (TiO_2) na površini koji ima bioaktivna svojstva indukuje rast nove kosti [1-3]. Dobra mehanička i biokompatibilna svojstva imaju i legure na bazi kobalta (Co-Cr-Mo), dok se primena nerđajućih čelika u poslednje vreme napušta zbog nedovoljne otpornosti



na koroziju i efekata hipersenzitivnosti organizma na nikel (Ni) koji se izdvaja iz čelika [5]. Naime, korozija implanata nastaje kada se pasivni film obrazovan na površini metalnog materijala ošteti trenjem i/ili mikropokretima, pri čemu dolazi do direktnog kontakta metalnog implanta sa biofluidima što rezultira degradacijom implantnog materijala i otpuštanjem metalnih jona [6]. Iz tog razloga je poznavanje vrste i koncentracije otpuštenih elemenata sa površine implantnih materijala veoma bitno za predviđanje i procenu njihovog lokalnog i sistemskog efekta na organizam čoveka, jer otpušteni metalni joni mogu biti toksični u određenim koncentracijama i mogu dovesti do različitih zdravstvenih problema usled difuzije jona kroz ceo organizam [7]. Prema tome, u cilju poboljšanja svojstava, kao i trajnosti implanata, neophodno je razviti materijal sa niskim modulom elastičnosti, visokom čvrstoćom i dobrom korozionom postojanošću [3, 8, 9]. S obzirom na činjenicu da se metalni biomaterijali najčešće koriste za zamenu oštećenih čvrstih tkiva u organizmu čoveka, a odgovor živog organizma na strano telo sa kojim je u kontaktu određuje mogućnost korišćenja datog materijala u medicini i stomatologiji, izuzetna pažnja prilikom ispitivanja karakteristika ove grupe materijala se mora posvetiti i njihovoj biokompatibilnosti. Shodno tome, osnovni cilj razvoja metalnih biomaterijala je, pored poboljšanja njihovih mehaničkih karakteristika, smanjenje stepena njihovog korozionog oštećenja i poboljšanje njihove biokompatibilnosti zbog čega se i javlja potreba za modifikovanjem hemijskog sastava, mikrostrukture i stanja površine metalnih materijala [10-12].

Visoka čvrstoća, nizak modul elastičnosti, dobra koroziona postojanost i biokompatibilnost su željene karakteristike implantnih materijala koje je veoma teško istovremeno ostvariti, pa je iz tog razloga razvoj materijala za dentalne implante veoma kompleksan i predstavlja pravi izazov [13-15]. Da bi se dobio materijal optimalnih karakteristika koriste se različiti tehnološki postupci (mehanički, hemijski, elektrohemijski, modifikacija površine, i dr.) kojim se željena svojstva materijala mogu poboljšati, dok se štetna svojstva mogu svesti na minimum ili potpuno ukloniti [10, 11]. U poslednje vreme, savremeni postupci intenzivnog plastičnog deformisanja se koriste za dobijanje sitnozrnih metalnih materijala koji pokazuju poboljšane mehaničke karakteristike u odnosu na



materijale dobijene konvencionalnim postupcima izrade, dok pitanje njihove korozione postojanosti i biokompatibilnosti ostaje otvoreno [16-20]. S obzirom na to da se metalni biomaterijali nalaze u dugotrajnom intimnom kontaktu sa živim tkivima, može se zaključiti da je za razvoj novih materijala za primenu u medicini izuzetno značajno poznavanje i razumevanje interakcija između površine implantnog materijala i humanih tkiva, pa netoksičnost materijala i biokompatibilnost postaju kritični faktori daljeg razvoja implantnih metalnih materijala. Usled pomenute nedovoljne istraženosti korozione postojanosti i bioloških karakteristika, predmet naučnog istraživanja obuhvaćenog ovom disertacijom je ispitivanje biokompatibilnosti metalnih materijala na bazi titana, kako materijala dobijenih konvencionalnim metodama, tako i materijala sitnozrne mikrostrukture dobijenih savremenim postupkom intenzivnog plastičnog deformisanja, i njihovog ponašanja u korozionoj sredini, izvođenjem *in vitro* testova citotoksičnosti, elektrohemijskih ispitivanja i ispitivanja otpuštanja jona.



2. BIOMATERIJALI

2.1. DEFINICIJA BIOMATERIJALA

Biomaterijal se može definisati kao materijal koji se koristi za izradu komponenata i sklopova koji se implantiraju (*lat.* implantare) odnosno ugrađuju u ljudski organizam u cilju zamene određenog dela i/ili funkcije ljudskog organizma pre svega na fiziološki prihvatljiv, ali i ekonomičan način [1]. Biomaterijali su prirodni ili sintetički materijali koji se koriste u kontaktu sa ćelijama, tkivima i/ili biofluidima bez štetnog efekta na ljudski organizam [2]. Biomaterijali predstavljaju materijale koji se koriste kao zamena delova živog sistema ili kao materijali izrađeni da bi funkcionisali u neposrednom kontaktu sa živim tkivima sa ciljem zamene ili nadogradnje strukturnih komponenata ljudskog organizma, kako bi se nadomestila izvesna oštećenja do kojih u organizmu dolazi usled starenja, bolesti ili nesrećnih slučajeva [5, 21]. Udruženje za biomaterijale Klemson Univerziteta SAD (*Clemson University, USA*) je formalno definisalo biomaterijale kao „sistemski i farmakološki inertne supstance namenjene za ugradnju u živi sistem“ [22]. Takođe, biomaterijali se definišu kao neživi materijali koji se koriste za izradu medicinskih naprava koje treba da komuniciraju sa biološkim sistemima [23]. Ostale definicije koje se mogu pronaći u literaturi ističu da su biomaterijali svi materijali koji dolaze u kontakt sa biološkim tečnostima i tkivima, a namenjeni su za protetsku, dijagnostičku i terapeutsku upotrebu bez negativnog uticaja na živi organizam i njegove komponente [24]. Nacionalni institut za zdravlje SAD (*National Institute of Health, NIH, USA*) je definisao biomaterijal kao „svaku supstancu ili kombinaciju supstanci, prirodnu ili sintetičku, koja može da se koristi neki vremenski period, kao deo ili kao sistem u celini, i koja tretira ili zamenjuje tkivo ili organ ili poboljšava neku funkciju ljudskog organizma“ [25].

Biomaterijali obuhvataju široku klasu materijala za primenu u medicini i stomatologiji: metalne, keramičke i staklaste biomaterijale, nedegradabilne sintetičke polimere, kompozitne biomaterijale, biodegradabilne polimere, bioderivativne polimere i tkiva, kao i pasivne i bioaktivne prevlake [5, 26].

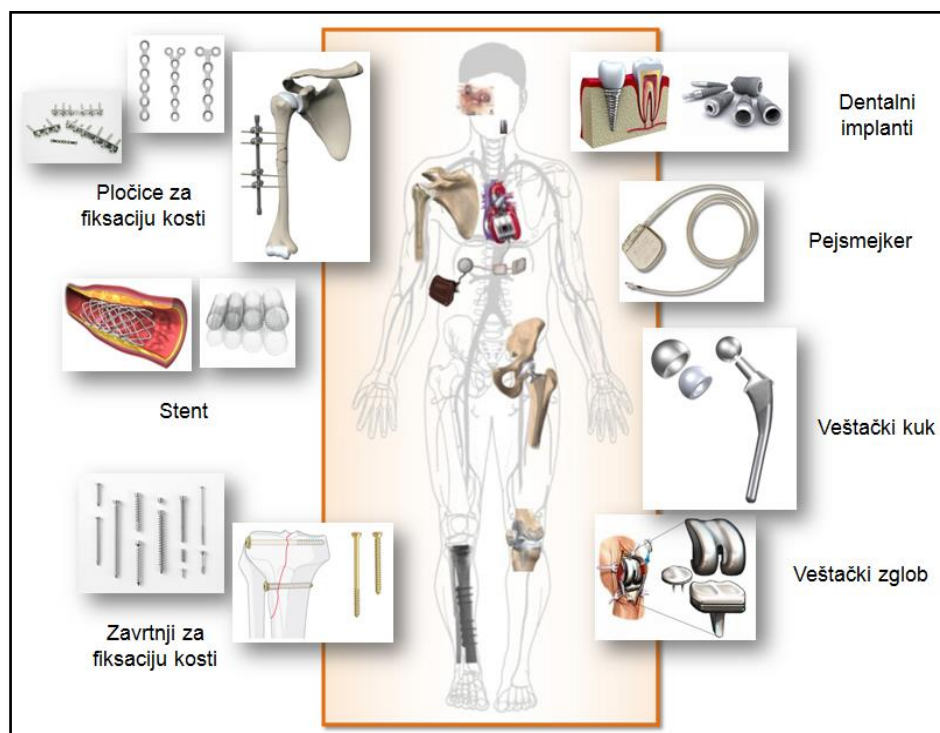


U tabeli **T.2.1** su prikazane prednosti, nedostaci i primeri primene osnovnih grupa biomaterijala, koji se koriste u stomatologiji i medicini [1, 5].

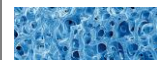
Tabela T.2.1 Biomaterijali koji se koriste u stomatologiji i medicini [1, 5].

| Materijal | Prednosti | Nedostaci | Primeri primene |
|---|--------------------------|---|--|
| POLIMERI (poliamidi (najlon), poliestri, silikon, polimetilmetakrilat (PMMA), politetrafluoroetilen (PTFE)) | Otporni, laki za izradu | Slabi, deformišu se vremenom, moguća degradacija | Hirurški konci, krvni sudovi, različita meka tkiva, uho, nos, čašica kuka, šavovi, kontaktna sočiva, rekonstruktivna hirurgija |
| METALI (nerđajući čelici, legure Co-Cr, Ti i legure Ti, Au, Ag, Ni-Ti legure) | Čvrsti, žilavi | Moguća korozija, velika gustina, teški za proizvodnju | Matrice srčanih zalistaka, veštački zglobovi, dentalni implantati, pločice za fiksaciju kosti, žice i zavrtnji za fiksaciju |
| KERAMIKA (alumina – Al ₂ O ₃ , cirkonija – ZnO ₂ , kalcijum fosfati) | Izuzetno biokompatibilni | Krti, neotporni, slabi pri kidanju | Dentalni i ortopedski implantati, ortopedske prevlake, punioci kosti |
| KOMPOZITI (hidroksiapatit-polimer, ugljenični kompoziti) | Čvrsti | Teški za izradu | Dentalni i ortopedski implantati, koštani implantati |

Na slici **2.1** dat je shematski prikaz različitih medicinskih implanata izrađenih od metalnih materijala [27-29].



Slika 2.1 Medicinski implantati izrađeni od metalnih materijala [27-29].

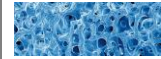


2.2. METALNI BIOMATERIJALI

Metalni biomaterijali se najčešće koriste za stabilizaciju odnosno fiksiranje ili zamenu polomljenih ili oštećenih čvrstih tkiva u ljudskom organizmu zbog odličnih mehaničkih karakteristika, kao što su velika čvrstoća, žilavost i otpornost na habanje, i to u vidu veštačkog kuka, veštačkih zglobova, pločica i zavrtnjeva, dentalnih implanata, i dr. (slika 2.1). Pored toga, metalni materijali se koriste i u kontaktu sa mekim tkivima zbog odlične električne i toplotne provodljivosti, pa tako neke legure metala imaju aktivnu ulogu u određenim biomedicinskim napravama, kao što su vaskularni stentovi, kateteri, ortodonske proteze i kohlearni implantati („bioničko uho“) [30-33].

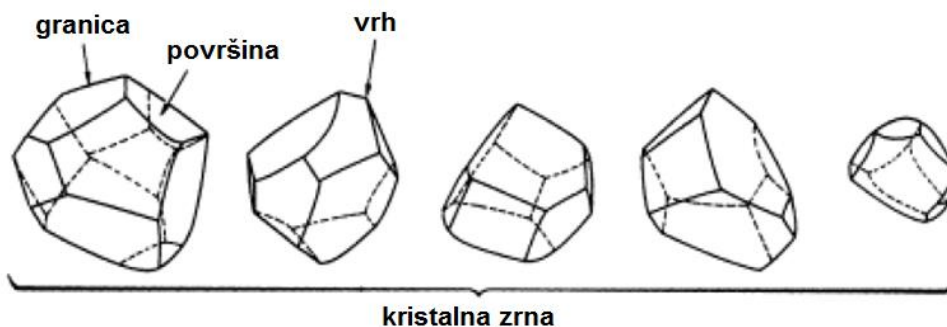
Osnovne grupe metalnih materijala koje primenu nalaze u biomedicinskom inženjerstvu su nerđajući čelici, kobalt-hrom (Co-Cr) legure, titan (Ti) i njegove legure [30, 34-38]. Sve navedene grupe metalnih materijala su razvijene za primenu u avio industriji, astronautici, brodogradnji i hemijskoj industriji, ali upravo zbog dobre kombinacije mehaničkih i fizičkih karakteristika započeto je istraživanje i razvoj ovih materijala za primenu u biomedicini. Prvi metal razvijen i korišćen u biomedicini je vanadijumski čelik, koji je ubrzo potpuno izbačen iz upotrebe i zamenjen drugim materijalima zbog nedovoljne korozijske otpornosti, dok je za primenu u stomatologiji 1943. godine razvijena legura na bazi kobalta pod nazivom *Vitallium*® [32]. Početak istraživanja titana kao materijala za izradu implanata se vezuje za 30-te godine XX veka kada je ugradnjom titana u mačiji femur otkriveno da titan može da se koristi kao implantni metalni materijal isto kao nerđajući čelik i Co-Cr legure [32-34]. Međutim, intenzivnija primena materijala na bazi titana za izradu implanata se vezuje za kasne 60-te godine XX veka [30, 33, 34].

Međuatomske veze mogu da budu jake primarne (jonska, kovalentna i metalna) i slabije sekundarne (van der Valsova i vodonična) [30]. Metali se karakterišu metalnom vezom, pri čemu zajednički valentni elektroni formiraju oblak elektrona koji ne pripada nijednom pojedinačnom atomu, već je zajednički za veći broj atoma. Ovo je posledica velikog koordinatnog broja, N (broj najbližih okolnih atoma), koji se javlja u metalima (obično 8 ili 12). Bliske pozicije okolnih atoma i

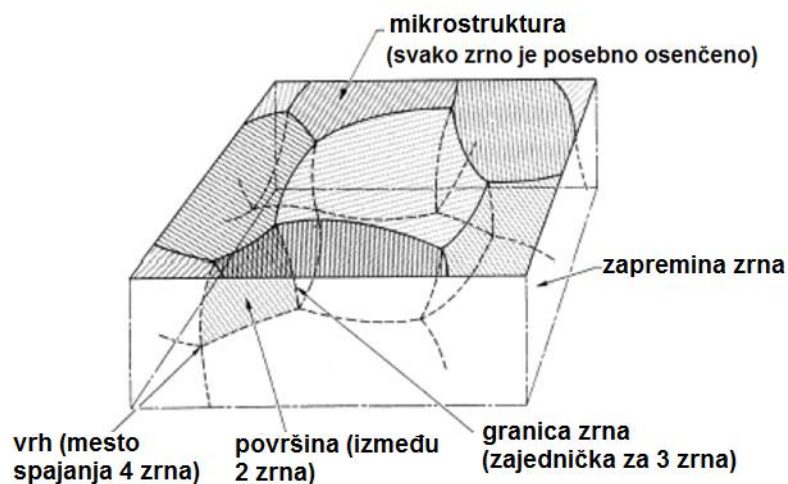


prisustvo zajedničkih valentnih elektrona rezultuju neusmerenim međuatomskim vezama i pomeranje elektrona unutar metalnog kristala je lakše nego kod materijala kod kojih se javlja jonska i kovalentna veza. Ove fundamentalne karakteristike metala su osnova za jednostavno plastično deformisanje, kao i za odličnu električnu i toplotnu provodljivost metala.

Metali pri prelasku iz rastopljenog u čvrsto stanje kristališu, a centri kristalizacije su nečistoće ili neki metali sa specifičnim delovanjima (npr. molibden u Co-Cr-Mo legurama) [39]. Rast kristala počinje iz pomenutih centara (nukleusa) i odvija se u svim pravcima. Trodimenzionalno grananje kristala (stvaranje dendrita) završava se pri kontaktu sa susednim kristalima, odnosno kristalnim zrnima, u rastu. Zbog toga kristalno zrno kod realnih kristala ne može imati neki strogo pravilan oblik (slika 2.2). Mesta dodira kristala u rastu predstavljaju međuatomske granice ili granice kristalnih zrna, kao što je shematski prikazano na slici 2.3.



Slika 2.2 Shematski prikaz izgleda kristalnih zrna [39].

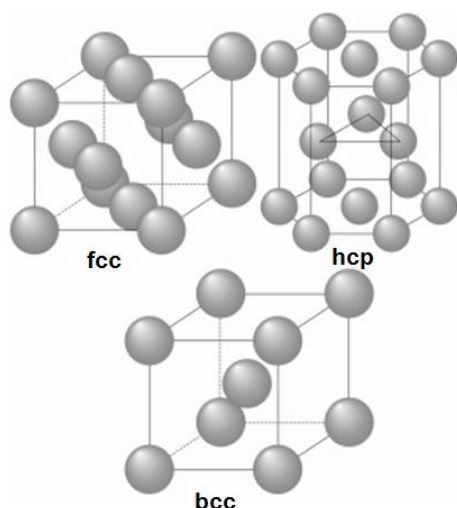


Slika 2.3 Struktura zrna [39].

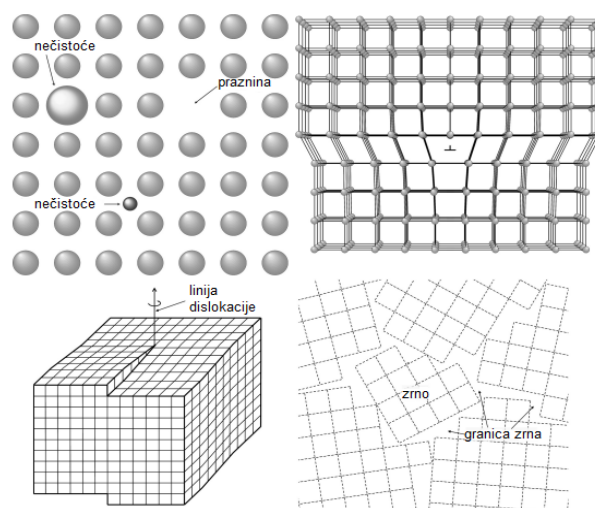


Postoje tri osnovne (tipične) kristalne rešetke metala, koje definišu pravilan/uređen raspored elementarnih čestica (atoma, molekula, jona) u jediničnom kristalu/ćeliji: (1) zapreminski centrirana kubna (*eng.* body-centered cubic, bcc), (2) površinski centrirana kubna (*eng.* face-centered cubic, fcc) i (3) heksagonalna gusto pakovana (*eng.* hexagonal close-packed, hcp), prikazane na slici 2.4 [30, 35, 38]. Većina metala koji se koriste za izradu medicinskih implanata u čvrstom stanju formira fcc ili hcp rešetku sa $N=12$ ili bcc rešetku sa $N=8$.

Realni metalni kristali, nasuprot navedenom idealnom atomskom rasporedu, sadrže određene greške (defekte), kao što su upražnjena mesta (praznine, vakancije), nečistoće, dislokacije i granice zrna, prikazane na slici 2.5 [30]. Prisustvo defekata ima značajan uticaj na mehaničke, fizičke i hemijske karakteristike metala [35]. Tako npr. povećanje gustine dislokacija dovodi do povećanja zatezne čvrstoće, ali smanjuje plastičnost i žilavost materijala. Kada se posmatraju granice zrna može se primetiti da veći broj sitnijih kristalnih zrna u okviru jednog uzorka ima veću graničnu površinu od manjeg broja krupnijih kristalnih zrna, a veličina pomenute granične površine određuje pre svega mehaničke karakteristike materijala. Naime, na sobnoj temperaturi metali sa krupnim kristalnim zrnima obično imaju manju čvrstoću i tvrdoću u poređenju sa sitnozrnim metalima. Pored toga, jedinjenja metala sa nemetalima iz sastava legura i različite nečistoće koncentrišu se najviše na granicama kristalnih zrna.



Slika 2.4 Shematski prikaz osnovnih kristalnih rešetki metala [30].



Slika 2.5 Greške u kristalnoj strukturi [30].



Svaka kristalna struktura pokazuje različite karakteristike i ponaša se na drugačiji način pod dejstvom opterećenja. Naime, pod uticajem spoljašnjeg opterećenja kristali podležu elastičnim deformacijama i nakon uklanjanja opterećenja kristali se vraćaju u prvobitno stanje. Međutim, ukoliko se metali podvrgnu opterećenju iznad granice elastičnosti dolazi do plastične ili permanentne deformacije zbog koje materijal ne može da se vrati u prvobitno stanje čak ni nakon prestanka dejstva opterećenja. Smatra se da granice kristalnih zrna predstavljaju prepreku deformacijama, pa su tako materijali sitnozrne mikrostrukture mehanički otporniji od materijala sa krupnim kristalnim zrnima, jer se kretanjima atoma suprotstavlja veliki broj granica. Oдавde proizilazi da je svaki pokušaj da se dobije fina, sitnozrna mikrostruktura vredan pažnje i to je jedan od ciljeva ove doktorske disertacije.

Najčešće primenjivani metalni materijali u biomedicini su nerđajući čelici (316L nerđajući čelik), legure na bazi kobalta (Co-Cr-Mo legura F75), titan i njegove legure [30-38]. Usporedni prikaz odabranih mehaničkih svojstava (zatezna čvrstoća, σ_m , napon tečenja, $\sigma_{0,2\%}$, procentualno izduženje, ϵ_{izd} , i procentualna redukcija, ϵ_{red} , pri deformaciji epruvete) i gustine navedenih metalnih biomaterijala date su u tabelama **T.2.2** i **T.2.3**, respektivno.

Tabela T.2.2 Mehanička svojstva metalnih biomaterijala [32].

| MATERIJAL | | σ_m [MPa] | $\sigma_{0,2\%}$ [MPa] | ϵ_{izd} [%] | ϵ_{red} [%] |
|----------------------|---------------------|------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| Nerđajući čelik 316L | u kaljenom stanju | 485 | 172 | 40 | / |
| | nakon hladne obrade | 860 | 690 | 12 | / |
| Co-Cr-Mo legura F75 | | 655 | 450 | 8 | 8 |
| Ti stepena čistoće 1 | | 240 | 170 | 24 | 30 |
| Ti stepena čistoće 2 | | 345 | 275 | 20 | 30 |
| Ti stepena čistoće 3 | | 450 | 380 | 18 | 30 |
| Ti stepena čistoće 4 | | 550 | 485 | 15 | 25 |
| Legura Ti-6Al-4V | | 860 | 795 | 10 | 25 |
| Legura Ti-13Nb-13Zr | | 1030 | 900 | 15 | / |

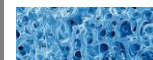


Tabela T.2.3 Gustina metalnih biomaterijala [37].

| MATERIJAL | Titan i legure | Nerđajući čelik 316L | Co-Cr-Mo legura | Co-Ni-Cr-Mo legura |
|-------------------------------|----------------|----------------------|-----------------|--------------------|
| Gustina [gcm^{-3}] | 4,5 | 7,9 | 8,3 | 9,2 |

Osnovni nedostaci metala kao biomaterijala ogledaju se u neusklađenosti modula elastičnosti metala i živih tkiva i velikoj gustini, što često rezultira izradom preteških implanata podložnih koroziji u kontaktu sa biofluidima, pri čemu se oslobađaju metalni joni sa potencijalnim toksičnim efektom [3, 28, 31-34, 40].

Velika razlika u modulu elastičnosti kostiju, odnosno živog tkiva i metalnih implantnih materijala je često ograničavajući faktor za primenu određenih metalnih materijala u medicini. Naime, prilikom raspodele opterećenja između kosti i implanta, veličina prouzrokovanog napona u njima direktno je povezana sa njihovom čvrstoćom, odnosno što je veći stepen razmimoilaženja čvrstoća tkiva i implanta to je veće razmimoilaženje u naprezanjima tkiva i implanta [32]. Ovaj fenomen, poznat kao "stress shielding", dovodi do resorpcije kosti (u stručnoj literaturi poznato i kao atrofija kosti) i/ili odbacivanja implanta, pa samim tim negativno utiče na proces ozdravljenja kosti. U praksi je pokazano da se upotrebom implanta sa sličnim modulom elastičnosti koju ima i tkivo-domaćin izbegava opasnost od ove pojave i na taj način se oporavak pacijenta nesmetano odvija. U tabeli T.2.4 je dat uporedni prikaz mehaničkih karakteristika nekih prirodnih materijala u ljudskom organizmu i metalnih materijala koji se koriste za izradu implanata [1, 36]. Upoređivanjem vrednosti navedenih mehaničkih karakteristika jasno se dolazi do zaključka da je za izradu implanata, koji zamenjuju čvrsta tkiva, poželjno korišćenje materijala sa manjim modulom elastičnosti i manjom čvrstoćom. Međutim, mala vrednost čvrstoće u kombinaciji sa malim modulom elastičnosti dovodi u pitanje osnovnu funkciju implanata odnosno potpurnu funkciju [28]. Iz tog razloga, razvoj metalnih materijala za primenu u medicini je usmeren upravo na smanjenje modula elastičnosti pri čemu se zadržava dovoljno visoka vrednost čvrstoće, kako bi metalni implanti bili kompatibilni sa čvrstim tkivima sa jedne strane, i kako bi mogli da podnesu velika opterećenja kojima su izloženi u ljudskom organizmu sa druge strane.



Tabela T.2.4 Mehaničke karakteristike tkiva i metalnih implantnih materijala [1, 36].

| Materijal | Čvrsta tkiva | | | | Metalni implantni materijali | | | |
|------------------------------------|-----------------------|------------------------|------|------|------------------------------|--------------|---------|------------------|
| | Kortikalna kost - lp* | Kortikalna kost - tp** | Gleđ | Zubi | Nerđajući čelik | Co-Cr legure | Titan | Legura Ti-6Al-4V |
| Modul elastičnosti, E [GPa] | 17,7 | 12,8 | 84,3 | 11,0 | 190 | 210-253 | 110 | 116 |
| Zatezna čvrstoća, σ_m [MPa] | 133 | 52 | 10 | 39,3 | 586-1351 | 655-1896 | 240-550 | 965-1103 |

*lp-longitudinalni pravac; **tp-transverzalni pravac

Pored neusklađenosti modula elastičnosti metala i čvrstih ljudskih tkiva, prilikom primene metala kao biomaterijala nailazi se na još jedan bitan nedostatak metala, a to je podložnost koroziji u kontaktu sa biofluidima i otpuštanje metalnih jona koji mogu da dovedu do neželjenih efekata u organizmu čoveka. Mnogi metali, kao što su železo, hrom, kobalt, nikl, titan, tantal, niobijum, molibden i tungsten, ljudski organizam dobro podnosi u minimalnim količinama. Šta više, interesantno je pomenuti da su određeni metali u elementarnom obliku neophodni za normalno funkcionisanje ljudskog organizma, pa je tako železo esencijalno za funkciju crvenih krvnih zrnaca, dok je kobalt neophodan za sintezu vitamina B12 [41]. Međutim, i pored pomenutih funkcija koje imaju u organizmu, ne mogu da se tolerišu veće količine ovih metala [41, 42]. Prema tome, još jedan logičan cilj razvoja metalnih materijala za primenu u biomedicini je povećanje korozione otpornosti što za posledicu ima smanjenje količine otpuštenih jona, kao i upotreba elemenata koji nemaju toksični efekat [8, 9, 34].

2.2.1. Legure na bazi kobalta

Prva superlegura na bazi kobalta, pod nazivom *Vitallium*®, je razvijena za primenu u stomatologiji. Međutim, nakon dugogodišnje primene *Vitallium*®-a kao implantnog materijala, u praksi su uočeni brojni problemi, što je i dokumentovano u radovima baziranim na iskustvima kliničke prakse [43]. Modifikovanjem *Vitallium*®-a razvijeni su različiti tipovi legura, pri čemu je njihov uobičajen naziv



kobalt-hrom (Co-Cr) legure. Prema ASTM (*eng.* American Society for Testing and Materials), postoje četiri tipa Co-Cr legura za hiruršku implantnu primenu: (1) livena Co-Cr-Mo legura (F75), (2) kovana Co-Cr-W-Ni legura (F90), (3) kovana Co-Ni-Cr-Mo legura (F562) i (4) kovana Co-Ni-Cr-Mo-W-Fe legura (F563). U biomedicini se najčešće koriste Co-Cr-Mo legura (F75) od koje se finalni proizvod dobija livenjem i Co-Ni-Cr-Mo legura (F562) od koje se finalni proizvod dobija toplim kovanjem i koja se često označava kao MP35N [32]. Hemijski sastav ovih legura prema ASTM F75-87 i ASTM F562-84 standardima prikazan je u tabeli **T.2.5**, a mehaničke karakteristike su prikazane u tabeli **T.2.6** [44, 45].

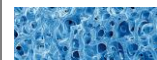
Tabela T.2.5 Hemijski sastav Co-Cr legura [mas.%] [44, 45].

| Element | Co-Cr-Mo (ASTM F75) | | Co-Ni-Cr-Mo (ASTM F562) | |
|---------|------------------------|------------|----------------------------|------------|
| | <i>min</i> | <i>max</i> | <i>min</i> | <i>max</i> |
| Cr | 27,0 | 30,0 | 19,0 | 21,0 |
| Mo | 5,0 | 7,0 | 9,0 | 10,5 |
| Ni | -- | 2,5 | 33,0 | 37,0 |
| Fe | -- | 0,75 | -- | 1,0 |
| C | -- | 0,35 | -- | 0,025 |
| Si | -- | 1,00 | -- | 0,15 |
| Mn | -- | 1,00 | -- | 0,15 |
| P | -- | -- | -- | 0,015 |
| S | -- | -- | -- | 0,010 |
| Ti | -- | -- | -- | 1,0 |
| Co | Ostatak | | | |

Tabela T.2.6 Mehanička svojstva Co-Cr legura [44, 45].

| Karakteristike | Co-Cr-Mo (ASTM F75) | Co-Ni-Cr-Mo (ASTM F562) | |
|---|------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | | Livena iz rastopa | Hladna obrada i starenje |
| Zatezna čvrstoća, σ_m [MPa] | 655 | 793-1000 | 1793 |
| Napon tečenja, $\sigma_{0,2\%}$ [MPa] | 450 | 240-655 | 1585 |
| Procentualno izduženje, ε_{izd} [%] | 8 | 50 | 8 |
| Procentualna redukcija, ε_{red} [%] | 8 | 65 | 35 |

Primena legura na bazi kobalta u biomedicini zasnovana je na njihovoj izrazitoj otpornosti na habanje. Ipak, ove legure imaju relativno veliku gustinu (8,3-9,2 gcm⁻³) i visok modul elastičnosti (210-253 GPa), što ih čini manje atraktivnim u poređenju sa legurama titana, koje imaju manju gustinu (4,5 gcm⁻³) i dvostruko nižu vrednost modula elastičnosti (110 GPa) [46].



2.2.2. Biomaterijali na bazi titana

Titan je otkrio *William Gregor* 1790. godine u Engleskoj, a naziv je dobio 1795. godine od strane *Klaproth* [47-49]. Međutim, titan je ušao u industrijsku upotrebu tek 60 godina nakon otkrića, i to u avio industriji, zahvaljujući svojoj velikoj čvrstoći i maloj gustini, što je omogućilo avio inženjerima da reše mnoge tadašnje probleme sa kojima su se susretali [48]. Osnovni problem za upotrebu titana u bilo kojoj grani industrije je bio proces dobijanja odnosno odvajanje titana od kiseonika, sve dok *Dr Wilhelm Kroll* nije razvio proces za komercijalno dobijanje titana koji se zasniva na dezoksidaciji titan-tetrahlorida kroz redukciju sa magnezijumom i natrijumom pri čemu se dobija sunderasti titan (*eng.* titanium sponge) koji može da se topi i izliva u obliku dugačkih čvrstih šipki. U stomatologiji je upravo zbog ovog pronalaska *Kroll* poznat kao “otac titanske stomatologije” [50].

Titan se javlja u dve alotropske modifikacije i to u vidu α -Ti heksagonalno gusto pakovane, hcp, strukture na temperaturama nižim od 882,5°C i β -Ti zapreminski centrirane kubne, bcc, strukture na temperaturama višim od 882,5°C. Gustina α -Ti iznosi 4,505 gcm⁻³, dok je u slučaju β -Ti vrednost gustine 4,320 gcm⁻³ [29]. Hemijski gledano, titan je jedan od prelaznih elemenata IV grupe 4. periode u Mendeljeovom periodnom sistemu elemenata. Njegov atomski broj je 22, dok je atomska težina 47,9. Kao prelazni metal, titan ima nepotpuno ispunjenu *d* ljusku u svojoj elektronskoj strukturi. U elementarnom stanju ima visoku tačku topljenja (oko 1668°C). Titan je otporan na hlorne rastvore i azotnu kiselinu, kao i na većinu organskih kiselina na sobnoj temperaturi. Pri zagrevanju se rastvara u razblaženoj hlorovodoničnoj, sumpornoj i azotnoj kiselini, dok hidrofluorne i fosforne kiseline nagrizaју titan. Titan lako oksidiše. Zapravo, pri povišenim temperaturama može doći do istovremene reakcije oksidacije i difuzije kiseonika pa je iz tog razloga upotreba titana na povišenim temperaturama ograničena reakcijom sa kiseonikom.

Mala gustina titana u poređenju sa drugim biomaterijalima i dobra mehanička i hemijska svojstva osnovni su razlozi za njegovu upotrebu u biomedicini [49]. Međutim, iako modul elastičnosti titana iznosi 110 GPa, što je dvostruko manje od modula elastičnosti nerđajućeg čelika i Co-Cr legura (vidi tabelu **T.2.4**), ova



vrednost je i dalje značajno veća u poređenju sa modulom elastičnosti ljudske kosti, koji iznosi 10-40 GPa. Pored toga, mehanička čvrstoća titana je često ispod zahtevane vrednosti za zamenu određenih čvrstih tkiva u ljudskom organizmu. S obzirom na to da su visoka vrednost čvrstoće i niska vrednost modula elastičnosti bitne karakteristike koje metalni materijal za izradu implanata sa dugotrajnom primenom u organizmu treba da poseduje, neophodno je dalje razvijati materijale na bazi titana. U cilju postizanja poboljšanja navedenih mehaničkih karakteristika primenjuju se različiti termomehanički postupci obrade ove grupe materijala [4, 51, 52]. Međutim, interesantno je pomenuti da neki od ovih postupaka dovode do povećanja kako mehaničke čvrstoće, tako i modula elastičnosti [53]. Upravo iz tog razloga, titanu se dodaju legirajući elementi za stabilizaciju β faze na sobnoj temperaturi, jer je pokazano da legure kod kojih u mikrostrukturi dominira β faza imaju manje vrednosti modula elastičnosti, što je izuzetno značajno za njihovu primenu u implantologiji [54, 55].

Titan je veoma reaktivan metal i gotovo trenutno oksidiše u prisustvu kiseonika (na vazduhu, u vodi i u telesnim tečnostima). Na površini titana spontano se formira oksidni film koji se sastoji od amornog ili niskokristalnog i nestehiometrijskog TiO_2 . Ono što je bitno za primenu titana u biomedicini je to što je na taj način obrazovani TiO_2 stabilan, otporan na koroziju, bioinertan i poseduje odlične biohemijske karakteristike koje su značajne za integraciju implanta sa okolnim koštanim tkivom [56]. Neophodno je istaći da se mehanički oštećena oksidisana površina titana veoma brzo regeneriše odnosno dolazi do ponovnog formiranja oksidnog sloja. Prema tome, jedan od glavnih razloga za korozionu postojanost implanata izrađenih od titana je spontano rapidno formiranje tankog čvrstog površinskog sloja stabilnog i inertnog oksida, što je jedini stabilni proizvod *in vivo* reakcije, koji za rezultat ima potpunu ili delimičnu pasivaciju materijala.

2.2.2.1. Komercijalno čist titan

Komercijalno čist titan (*eng.* Commercially Pure Titanium, CPTi) je 98-99,6% čisti titan. Zbog veoma malih, ali strogo definisanih razlika u sastavu, postoji četiri stepena čistoće CPTi koji se obeležavaju brojevima od 1 do 4 (tabela **T.2.7**). Četiri stepena čistoće nelegiranog CPTi, koji se koriste za izradu implanata, se zapravo



razlikuju po sadržaju nečistoća, gde se kiseonik, železo i azot moraju pažljivo kontrolisati, pri čemu kiseonik posebno ima veliki uticaj na savitljivost i čvrstoću. Veći sadržaj nečistoća u sastavu CPTi (od stepena 1 do stepena 4) uslovljava višu vrednost zatezne čvrstoće i smanjenu savitljivost (tabela **T.2.2**). Tako se npr. CPTi-1 odlikuje najvećom plastičnošću, dok su odlike CPTi-4 najveća čvrstoća i umerena deformabilnost. CPTi-2 ima veću čvrstoću od CPTi-1 uz odličnu otpornost na koroziju i spada u biokompatibilne materijale koji se veoma često koriste u slučajevima gde je potrebno ostvariti direktni kontakt između implanta i kosti. Najveći broj implanata izrađen je od CPTi-2 i CPTi-4 [57-60]. Osim CPTi široku primenu u biomedicini ima i Ti-6Al-4V legura. Hemijski sastav CPTi i Ti-6Al-4V legure prema ASTM F67-89 i ASTM F136-84 standardima prikazan je u tabeli **T.1.7** [61, 62].

Tabela T.2.7 Hemijski sastav CPTi i Ti-6Al-4V legure [mas.%] [61, 62].

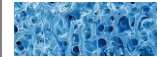
| Element | CPTi-1 | CPTi-2 | CPTi-3 | CPTi-4 | Ti-6Al-4V |
|---------|---------------|--------|--------|--------|----------------|
| | (ASTM F67-89) | | | | (ASTM F136-84) |
| N | 0,03 | 0,03 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| C | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,08 |
| H | 0,015 | 0,015 | 0,015 | 0,015 | 0,0125 |
| Fe | 0,20 | 0,30 | 0,30 | 0,50 | 0,25 |
| O | 0,18 | 0,25 | 0,35 | 0,40 | 0,13 |
| Al | - | - | - | - | 5,50 - 6,50 |
| V | - | - | - | - | 3,50 - 4,50 |
| Ti | Ostalo | Ostalo | Ostalo | Ostalo | Ostalo |

2.2.2.2. Legure titana

Legure titana se klasifikuju kao α , $\alpha+\beta$ i β legure u zavisnosti od toga koja faza dominira u mikrostrukturi legure na sobnoj temperaturi. Legirajući elementi titana se u zavisnosti od toga koju fazu stabilizuju dele u tri kategorije [49, 63-66]:

- 1) α stabilizatori (Al, Sn, O, N, C);
- 2) β stabilizatori, podeljeni u dve grupe: izomorfni (Mo, V, Nb, Ta) i eutektoidni (Fe, W, Cr, Si, Co, Mn, H);
- 3) neutralni (Zr).

Legiranjem se mogu značajno modifikovati svojstva odabranog materijala, što uz odgovarajuću termomehaničku obradu može uticati na selekciju željenih svojstava [54].



U tabeli **T.2.8** su prikazana osnovna svojstva materijala na bazi titana, koji se koriste u biomedicini, dok su u tabeli **T.2.9** data svojstva legura titana koje svoju primenu nalaze u stomatologiji [8, 33, 63].



Tabela T.2.8 Odabrana mehanička svojstva titana i legura titana za primenu u biomedicini [8, 63].

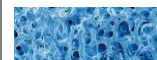
| Materijal | ASTM* | ISO** | JIS*** | Tip legure | Zatezna čvrstoća [MPa] | Napon tečenja [MPa] | Procentualno izduženje [%] | Modul elastičnosti [GPa] |
|-----------------------|-----------|---------|----------|----------------|------------------------|---------------------|----------------------------|--------------------------|
| CPTi - 1 | F 67-89 | 5832-2 | T 7401-1 | α | 240 | 170 | 24 | 102,7 |
| CPTi - 2 | F 67-89 | 5832-2 | T 7401-1 | α | 345 | 275 | 20 | 102,7 |
| CPTi - 3 | F 67-89 | 5832-2 | T 7401-1 | α | 450 | 380 | 18 | 103,4 |
| CPTi - 4 | F 67-89 | 5832-2 | T 7401-1 | α | 550 | 485 | 15 | 104,1 |
| Ti-6Al-4V ELI | F 136-84 | 5832-3 | / | $\alpha+\beta$ | 860-965 | 795-875 | 10-15 | 101-110 |
| Ti-6Al-4V | F 1472 | 5832-3 | T 7401-2 | $\alpha+\beta$ | 895-930 | 825-869 | 6-10 | 110-114 |
| Ti-5Al-2.5Fe | / | 5832-10 | / | $\alpha+\beta$ | 1020 | 895 | 15 | 112 |
| Ti-3Al-2.5V | F 2146 | / | / | $\alpha+\beta$ | / | / | / | / |
| Ti-6Al-7Nb | F 1295-92 | 5832-11 | T 7401-3 | $\alpha+\beta$ | 900-1050 | 880-950 | 8,1-15 | 114 |
| Ti-6Al-2Nb-1Ta | / | / | T 7401-4 | $\alpha+\beta$ | / | / | / | / |
| Ti-15Zr-4Nb-2Ta-0.2Pd | / | / | T 7401-5 | $\alpha+\beta$ | 1109 | 1020 | 10 | 103 |
| Ti-13Nb-13Zr | F 1713-96 | / | / | β | 973-1037 | 900 | 10-16 | 79-84 |
| Ti-12Mo-6Zr-2Fe | F 1813-97 | / | / | β | 100-1060 | / | 18-22 | 74-85 |
| Ti-15Mo | F 2066 | / | / | β | 544 | / | 21 | 78 |
| Ti-15Mo-5Zr-3Al | / | / | T 7401-6 | β | 1000-1060 | / | 18-22 | 80 |

*ASTM - American Society for Testing and Materials; **ISO - International Organisation for Standardisation; ***JIS - Japanese Industrial Standards

Tabela T.2.9 Odabrana mehanička svojstva titana i legura titana za primenu u stomatologiji [33, 63].

| Materijal | Način dobijanja | Zatezna čvrstoća [MPa] | Napon tečenja [MPa] | Procentualno izduženje [%] | Tvrdoća po Vickersu [HV] |
|---------------|-----------------|------------------------|---------------------|----------------------------|--------------------------|
| Ti-20Cr-0.2Si | Livenje | 874 | 669 | 6 | 318 |
| Ti-25Pd-5Cr | Livenje | 880 | 659 | 5 | 261 |
| Ti-13Cu-4.5Ni | Livenje | 703 | / | 2,1 | / |
| Ti-6Al-4V | Livenje | 976 | 847 | 5,1 | / |
| Ti-6Al-4V | SPD* | 954 | 729 | 10 | 346 |
| Ti-6Al-7Nb | Livenje | 933 | 817 | 7,1 | / |
| Ti-Ni | Livenje | 470 | / | 8 | 190 |

*superplastična deformacija



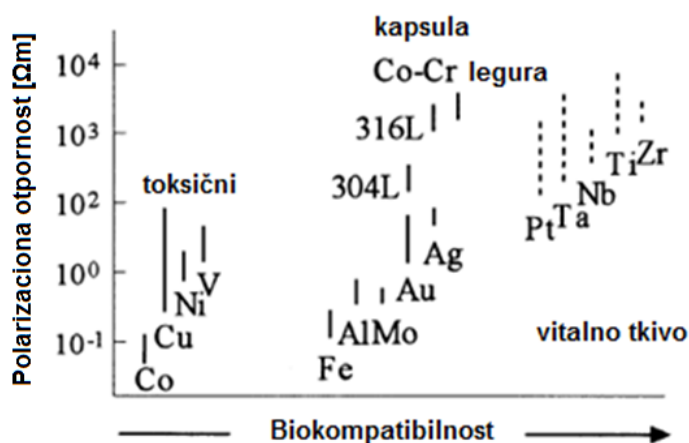
Livenje i obrada materijala na bazi titana izuzetno su složeni i zahtevaju posebne uslove i preciznost. Za razliku od termičke obrade, mehanička obrada titana (kovanje, valjanje, savijanje) jednostavnija je tehnika oblikovanja kada su u pitanju dentalni implantati. Međutim, pri izradi legura za stomatološku primenu proces livenja je dominantan, a livene legure titana se odlikuju veoma malim izduženjima i visokim vrednostima čvrstoće (vidi tabelu **T.2.9**). Osnovni problemi koji se javljaju pri izradi dentalnih implanata procesom livenja su izrazita reaktivnost legura titana i njihova visoka temperatura topljenja u poređenju sa drugim dentalnim legurama, kao što su legure zlata i srebra. Iz tog razloga, često se izbor legura titana za stomatološku primenu zasniva ne samo na njihovim svojstvima već i na vrednosti temperature topljenja, a tokom njihove izrade neophodno je korišćenje slabo reaktivnih kalupa za livenje. Najčešće primenjivani metod za izradu dentalnih implanata i naprava je precizno livenje (*eng.* precision casting).

2.2.2.3. Izbor legirajućih elemenata i razvoj biomedicinskih legura titana

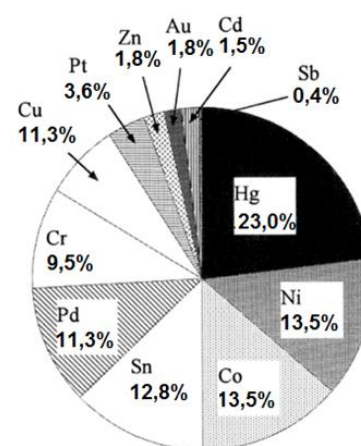
Nedostatak implantnih materijala na bazi titana je relativno slaba mehanička čvrstoća, što smanjuje mogućnost njihove primene na mestima u ljudskom organizmu koja su izložena velikom opterećenju. Pored toga, iako titan ima manji modul elastičnosti u poređenju sa nerđajućim čelikom i Co-Cr legurama, vrednost je i dalje mnogo veća u poređenju sa modulom elastičnosti kosti, pa ugradnja implanata od titana može da dovede do atrofije kosti i da uspori proces ozdravljenja. U cilju izrade implanata od titana koji će vršiti potpornu funkciju i biti kompatibilni sa humanim tkivima sa kojima su u kontaktu, titanu se dodaju legirajući elementi koji treba da povećaju čvrstoću i smanje modul elastičnosti titana, pri čemu je od esencijalnog značaja da legirajući elementi budu netoksični. Osim toga, alergijske reakcije na metalne elemente otpuštene iz metalnih implantnih materijala predstavljaju veliki problem u svim oblastima implantologije. Na slici **2.6** je prikazana koroziona postojanost i biokompatibilnost čistih metala, Co-Cr legura i nerđajućih čelika, dok je na slici **2.7** prikazan procenat alergijskih reakcija izazvan određenim metalnim elementima [33]. Kao što se može videti Zr, Ti, Nb, Ta i Pt su označeni kao metali sa najvećom biokompatibilnošću,



dok najveći procenat alergijskih reakcija izaziva Hg, Ni, Co, Sn, Pd i Cu preko 10% i Cr 9,5%. Takođe, Mikulewicz i saradnici [67] su ispitivanjem dentalnih metalnih materijala pokazali da Ni, Co i Cr ispoljavaju najveći stepen alergogenog efekta u poređenju sa drugim metalnim elementima.

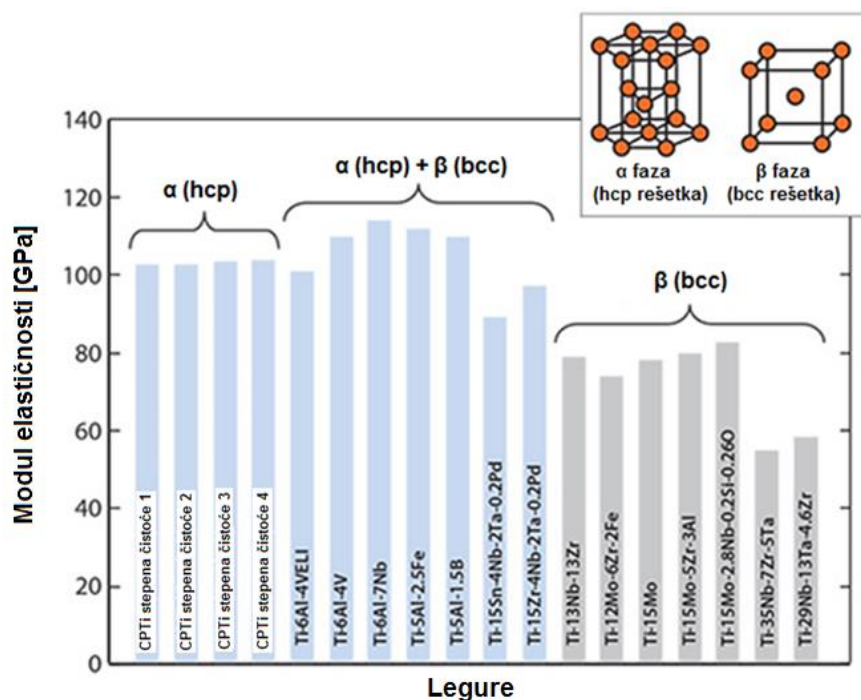


Slika 2.6 Odnos između polarizacione otpornosti i biokompatibilnosti metalnih materijala [33].



Slika 2.7 Alergijske reakcije izazvane metalima [33].

Sva dosadašnja istraživanja ukazuju na to da je titan bezbedan za primenu u ljudskom organizmu jer je biokompatibilan i ne izaziva alergijske reakcije [3, 4, 9, 15]. Osim toga, kao legirajuće elemente najoptimalnije je koristiti Ta, Nb i Zr koji su netoksični i kompatibilni sa živim tkivima, sa jedne strane, i nealergogeni, sa druge strane. Značajno je primetiti da legiranje titana neutralnim elementima (Zr) i β stabilizatorima (Mo, Ta, Nb) dovodi do smanjenja modula elastičnosti materijala čime izrađeni implant postaje mehanički kompatibilniji sa čvrstim tkivima u ljudskom organizmu što posledično smanjuje mogućnost nastanka atrofije kosti i/ili odbacivanja implanta [54, 55]. Naime, modul elastičnosti legura titana β tipa iznosi 55 do 85 GPa i te vrednosti su značajno niže od modula elastičnosti biomedicinskih legura titana α i $\alpha+\beta$ tipa, kao što je prikazano na slici 2.8, pa se u poslednje vreme legure titana β tipa intenzivno razvijaju za primenu u biomedicini [3, 8, 54, 55].



Slika 2.8 Modul elastičnosti biomedicinskih legura titana [8].

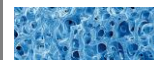
$\alpha+\beta$ Ti legure, kao što su Ti-6Al-4V (sastav legura u ovoj disertaciji dat je u mas.% osim ako to nije u tekstu drugačije naglašeno) i Ti-6Al-4V ELI (*eng.* Extra Low Interstitial, ELI) legura veće čistoće sa izuzetno malo intersticijala, prvenstveno su razvijene kao strukturni materijali za avio industriju, a kasnije su pronašle primenu i u biomedicini. Legura Ti-6Al-4V ELI je veoma slična leguri Ti-6Al-4V, sa tom razlikom što sadrži manji procenat O, C, N i H, čime se obezbeđuje veća čvrstoća, poboljšana žilavost na niskim temperaturama i veća otpornost prema širenju prsline [28, 66]. Ti-6Al-4V legura ima povoljnije mehaničke karakteristike od CPTi, odnosno odlikuje se većom čvrstoćom i otpornošću na habanje, pa je indikovana u uslovima većeg opterećenja implanata za razliku od CPTi koji se koristi na mestima gde otpornost na habanje nije od primarnog značaja [59]. Zbog navedenih mehaničkih karakteristika Ti-6Al-4V legura se često koristi i za izradu implanata u stomatologiji [39]. Međutim, brojna istraživanja sprovedena tokom protekle decenije pokazala su da je V, β stabilizirajući element Ti-6Al-4V legure, izuzetno toksičan, kako u elementarnom stanju, tako i u obliku oksida V_2O_5 prisutnog na površini Ti-6Al-4V legure, dok Al, α stabilizirajući element, dovodi do alergijskih reakcija [68, 69]. Iako se u poslednje vreme često navodi potreba za razvojem novih legura za primenu u medicini i stomatologiji jer



se prisustvo V i Al dovodi u vezu sa razvojem Alchajmerove bolesti, neuropatijom i drugim neurološkim poremećajima [50, 70], u literaturi se mogu naći rezultati ispitivanja koji dokazuju da primena različitih tehnika naknadne obrade Ti-6Al-4V legure utiče na poboljšanje njenih biokompatibilnih svojstava. Primer je i istraživanje sprovedeno od strane Velasco-Ortega i saradnika [71] koji su Ti-6Al-4V leguru, peskiranu aluminijum-oksikom i pasiviranu u prisustvu azotne kiseline, podvrgli ispitivanjima biokompatibilnosti i pokazali da navedena legura ne ispoljava ni citotoksična ni genotoksična svojstva nakon površinske obrade i da se može bezbedno koristiti u stomatologiji.

Upravo zbog potvrđenog citotoksičnog efekta V i alergogenog efekta Al, javila se potreba za razvojem novih legura titana za biomedicinsku namenu. Može se reći da primena legura titana posebno razvijenih za biomedicinu počinje uvođenjem Ti-6Al-7Nb i Ti-5Al-2.5Fe legura koje su dobijene zamenom V sa Nb i Fe, koji su mnogo bezbedniji i sigurniji za primenu u ljudskom organizmu [68-70, 72]. Pomenute legure, koje spadaju u Ti legure $\alpha+\beta$ tipa, se u poslednje vreme intenzivno koriste u biomedicinskom inženjerstvu, pri čemu je Ti-6Al-7Nb legura, razvijena u SAD, registrovana prema ISO (*eng.* International Organisation for Standardisation) i ASTM standardima, a Ti-5Al-2.5Fe legura, razvijena u Evropi, samo prema ISO standardu (tabela **T.2.8**) [63]. Na sličnom konceptu razvijene su i druge biomedicinske legure $\alpha+\beta$ tipa, kao što su Ti-6Al-2Nb-1Ta i Ti-15Al-4Nb-4Ta, u kojima je V zamenjen sa Nb i Ta. Zatim su u praksu uvedene i legure titana $\alpha+\beta$ tipa koje ne sadrže ni V ni Al, a koje sadrže Zr ili Sn, kao što su Ti-15Zr-4Nb-4Ta i Ti-15Sn-4Nb-2Ta-0.2Pd [73, 74].

Od biomedicinskih legura titana β tipa, prema ASTM standardu su registrovane legure Ti-13Nb-13Zr i Ti-12Mo-6Zr-2Fe. Legura Ti-13Nb-13Zr, razvijena u SAD, odlikuje se niskom vrednošću modula elastičnosti i čvrstoćom značajno poboljšanom u odnosu na Ti-6Al-4V leguru, zbog čega je izuzetno interesantna za primenu u implantologiji. Prisustvo Nb i Zr dovodi do formiranja pasivnog filma na površini legure koji ima izuzetna zaštitna svojstva i smanjuje degradaciju materijala u korozionim uslovima ljudskog organizma. Osim toga, istraživanja sprovedena od strane Schneider i saradnika [75] su pokazala da Ti-13Nb-13Zr legura ne ispoljava citotoksični efekat na ćelijama ovarijuma kineskog hrčka (CHO

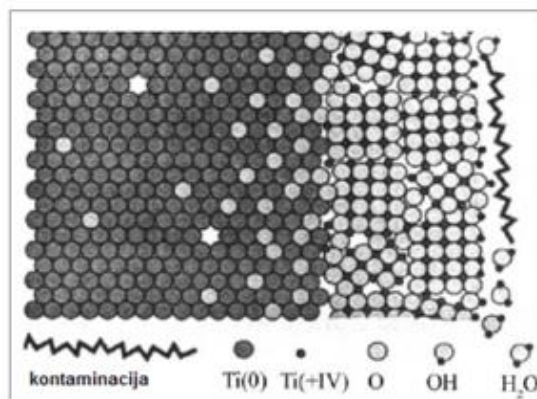


ćelije) odnosno da je bezbedna za primenu u biomedicini. Liu i saradnici [76] su izradili Ti-Zr-Nb legure različitog udela Nb (Ti-(5,10,15)Nb-9Zr) i u svojim studijama pokazali da se Ti-15Nb-9Zr legura odlikuje modulom elastičnosti od 39 GPa i zateznom čvrstoćom od 850 MPa što je čini izvanrednim materijalom za izradu implanata.

Osnovna ideja u razvoju novih legura za primenu u biomedicini je da se potencijalno toksični i alergogeni elementi zamene elementima koji su bezbedniji i sigurniji za primenu u ljudskom organizmu, kao i da se postignu niže vrednosti modula elastičnosti. Shodno tome, cilj daljeg razvoja metalnih biomaterijala je izrada novih legura koje poseduju izvanrednu hemijsku, mehaničku i biološku kompatibilnost [54, 77]. Upravo zbog toga, veliki broj legura titana koje su razvijene prethodnih godina, sadrže biokompatibilne elemente Zr, Nb, Mo i Ta, i pokazuju odlične mehaničke karakteristike uključujući nisku vrednost modula elastičnosti, visoku vrednost čvrstoće i poboljšanu žilavost [8, 9, 78-81]. Takođe, najnovije biokompatibilne legure titana koje sadrže veliki procenat Ta i Nb (npr. Ti-15Zr-4Nb-4Ta), čije su tačka topljenja i specifična težina mnogo veće u poređenju sa titanom, uslovljavaju i razvoj novih tehnologija izrade (livenja i kovanja) ovih legura [73].

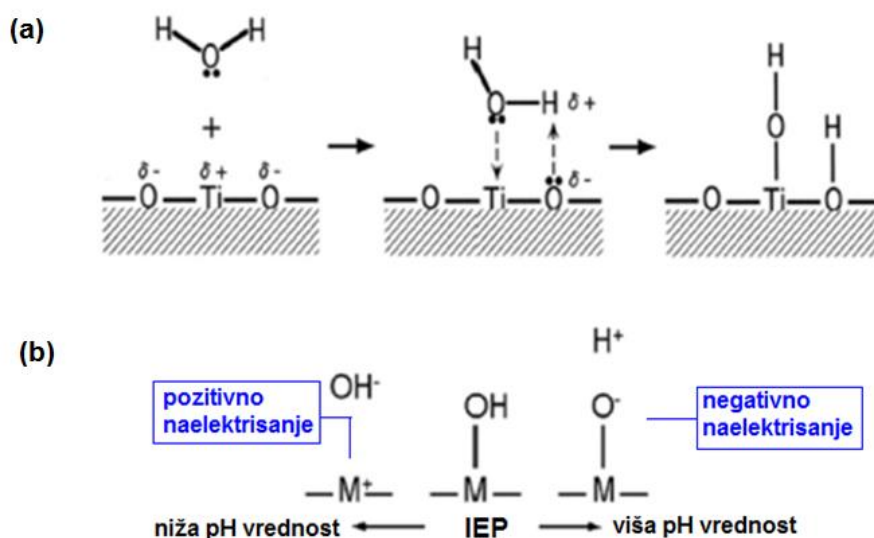
2.2.2.4. *Obrazovanje površinskih oksidnih slojeva na titanu*

Titan, kao veoma reaktivan element, koji lako ulazi u reakcije sa kiseonikom, azotom, ugljenikom i drugim elementima, reaguje sa molekulima vode u rastvoru i/ili sa vlagom iz vazduha pri čemu se formira tanak sloj oksida na njegovoj površini [56]. Zapravo, na površini titana spontano se, u toku jedne milisekunde, stvara sloj oksida debljine 1 nm, da bi u toku prvog minuta debljina oksidnog sloja iznosila 10 nm. Mnoge istraživačke grupe su se bavile ispitivanjem površinskog oksidnog sloja koji se formira na titanu korišćenjem različitih metoda i zaključeno je da površinski sloj sadrži TiO_2 , TiO , Ti_2O_3 , Ti_3O_2 i Ti_3O_5 i da je njegova debljina u opsegu 4,9-12,5 nm [50, 82, 83]. Izgled oksidnog filma obrazovanog na sobnoj temperaturi na čistom titanu shematski je prikazan na slici 2.9 [82].



Slika 2.9 Obrazovanje oksidnog filma na površini čistog titana [82].

Treba naglasiti da je i nakon formiranja zaštitnog oksidnog filma, površina i dalje reaktivna, odnosno titan nastavlja da reaguje sa vlagom iz vazduha pri čemu se formiraju hidroksilne grupe na površini za 30 ms, slika **2.10a** [83]. Hidroksilne grupe postaju jonizovane u rastvoru, slika **2.10b** i naelektrisanje površine se povećava u zavisnosti od pH vrednosti sredine. Pozitivno i negativno naelektrisanje se izjednačava na određenoj pH vrednosti tako da je ukupno naelektrisanje nula. Ova pH vrednost je poznata kao izoelektrična tačka (*eng.* isoelectric point, IEP; point of zero charge, pzc). Vrednost IEP je jedinstvena za svaki oksid, pa tako za TiO_2 rutil iznosi 5,3 a za anatas 6,2 [84]. U slučaju TiO_2 anatasa, ovo zapravo znači da će u rastvorima pH vrednosti nižim od 6,2 pozitivno naelektrisanje nadvladati negativno, dok će u rastvorima pH vrednosti višim od 6,2 negativno naelektrisanje nadvladati pozitivno. Vrednost IEP za različite okside prikazana je u tabeli **T.2.10** [83].

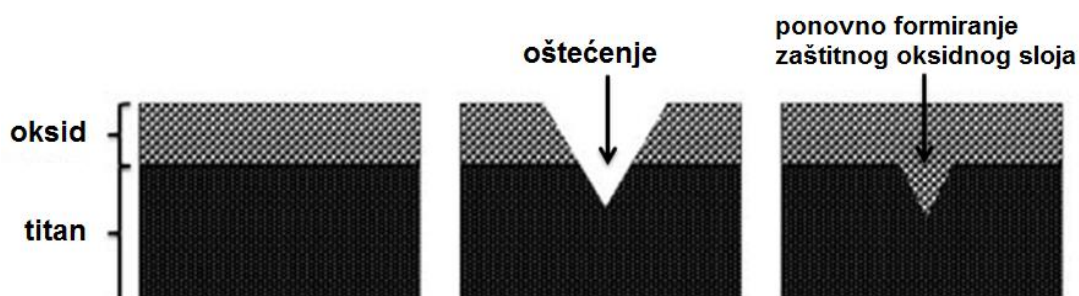


Slika 2.10 Formiranje hidrosilnih grupa na površini titan-dioksida (a); jonizacija i izoelektrična tačka (b) [83].

Tabela T.2.10 Izoelektrična tačka različitih oksida [83].

| Oksid | Izoelektrična tačka |
|--------------------------------|---------------------|
| SiO ₂ | 2,0-3,7 |
| SnO ₂ | 4,7-5,3 |
| TiO ₂ rutil | 5,3 |
| TiO ₂ anatas | 6,2 |
| Fe ₂ O ₃ | 6,6-6,7 |
| Cr ₂ O ₃ | 7,0 |
| Al ₂ O ₃ | 9,0 |

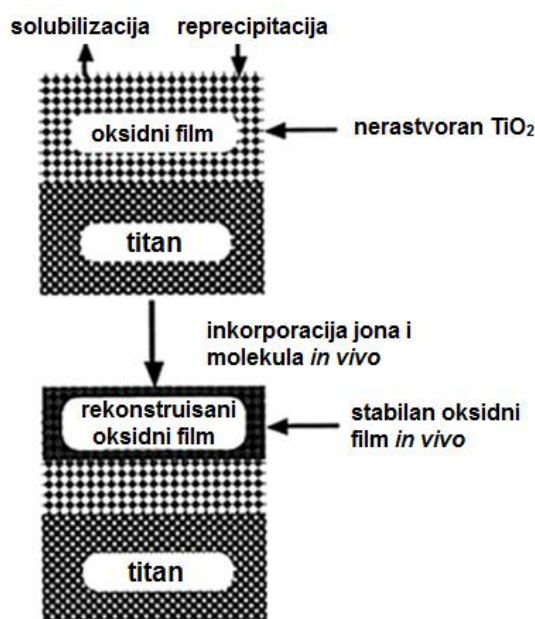
U slučaju da dođe do oštećenja površinskog oksidnog sloja, brzo dolazi do obrazovanja novog oksidnog sloja koji pokriva površinu čineći je inertnom, kao što je prikazano na slici 2.11 [83]. Jedan od razloga dobre korozivne postojanosti titana i njegovih legura je upravo sklonost titana ka repasivaciji površine do koje dolazi spontano nakon pojave oštećenja pasivirajućeg oksidnog sloja.



Slika 2.11 Repasivacija površine titana [83].

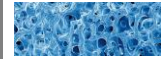


Na makroskopskom nivou pasivni oksidni film na površini titana je nerastvoran i veoma stabilan, dok se na mikroskopskom nivou mogu detektovati ponavljajući parcijalni procesi rastvaranja (solubilizacije) i ponovnog formiranja (reprecipitacije). Kada se materijali na bazi titana ugrade u ljudski organizam, dolazi do inkorporacije jona i molekula u površinski oksidni film pa se može reći da se struktura oksidnog filma konstantno menja u skladu sa biološkim okruženjem, slika 2.12.

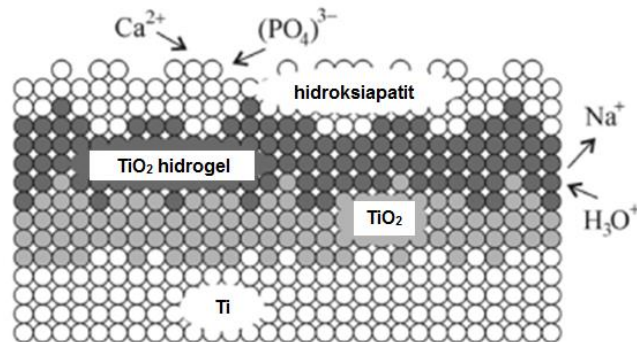


Slika 2.12 Rekonstrukcija oksidnog filma u biološkoj sredini [83].

Analiza površine hirurškim putem ugrađenih implanata izrađenih od materijala na bazi titana pokazuje da se hemijski sastav oksidnog filma menja tako što dolazi do inkorporacije Ca, P i S, a izuzetno brzo formiranje kalcijum-fosfata je razlog izrazite kompatibilnosti titana i njegovih legura sa čvrstim tkivima [85]. Simulacijom bioloških uslova *in vitro*, pokazano je da potapanjem titana i njegovih legura u Hank-ov rastvor dolazi do deponovanja kalcijum-fosfata, dok se u uslovima gde su prisutne ćelije formiraju sulfiti i sulfidi. Ove činjenice ukazuju na to da se fiziološki procesi koji se dešavaju u organizmu vrlo dobro mogu simulirati *in vitro* eksperimentima. Kalcijum-fosfat se formira i na površini nerđajućeg čelika i Co-Cr legura, međutim brzina formiranja i odnos Ca/P su mnogo veći kod titana i Ti-6Al-4V legure. Interesantno je pomenuti da se na nekim metalnim biomaterijalima kalcijum-fosfat ne formira, kao što je npr. Zr.

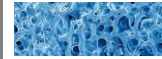


Pasivni oksidni film može spontano da se formira na površini određenih metala ili da se dobije hemijskim (npr. potapanje u nitritnu kiselinu), elektrohemijskim (anodizacija) i termičkim (oksidacija vazduhom) tretmanom u završnoj fazi izrade implanata [30]. Hemijske promene površine titana praćene termičkim tretmanom dovode do formiranja TiO_2 hidrogela na površini oksidnog sloja TiO_2 , kao što je shematski prikazano na slici 2.13 [32].



Slika 2.13 Formiranje površinskog TiO_2 hidrogela [32].

Formiranje stabilnog oksidnog filma na površini titana i njegovih legura je osnova korozione otpornosti i biokompatibilnosti ovih materijala. Naime, titan se oksidiše gradeći oksidni film koji je manje reaktivan od čistog titana, jer sadrži granice zrna i strukturne defekte, i koji štiti materijal od dalje oksidacije [86]. Osim toga, treba pomenuti da se mehanički oštećena površina titana veoma brzo regeneriše, odnosno brzo dolazi do ponovnog formiranja oksidnog sloja procesom repasivacije. Prema tome, jedan od glavnih razloga za izrazitu korozionu otpornost implanata izrađenih od materijala na bazi titana je upravo izuzetno brzo formiranje tankog čvrstog površinskog sloja stabilnog i inertnog oksida. Pored toga, za primenu titana u biomedicini, od značaja su izvanredne biohemijske karakteristike TiO_2 , kao što su sposobnost hidratacije (TiO_2 adsorbuje 2-3 molekula vode po 1 nm^2), adsorpcija neorganskih jona (Ca^{2+} , PO_4^{3-}) i organskih makromolekula (proteini, lipoproteini, peptidi) i interakcije TiO_2 koji je adsorbovao neorganske jone i organske makromolekule sa fibrinskim vlaknima i osteoblastima [56]. Navedene karakteristike oksidnog filma su od izuzetnog značaja za integraciju implanata na bazi titana sa okolnim koštanim tkivom. Takođe, Pilliar [30] je naveo da se formirani zaštitni oksidni sloj debljine 5-10 nm zadržava na površini titana i nakon *in vivo* aplikacije, što ukazuje na njegovu



postojanost i stabilnost. Zapravo, oksidni film *in vivo* pasivira materijal i obezbeđuje efektivnu barijeru za transport jona ili elektrona i na taj način smanjuje mogućnost degradacije materijala kao posledice korozije.

2.3. ZAHTEVI KOJE TREBA DA ISPUNE IMPLANTNI MATERIJALI

Materijali koji se koriste za izradu medicinskih implanata bez obzira na vrstu i prirodu implantacije moraju da zadovolje određene kriterijume i da poseduju odgovarajuća svojstva kao što su: biokompatibilnost, biadhezivnost, bioinertnost i biofunktionalnost.

1. **Biokompatibilnost** se odnosi na to da biomaterijali ne smeju ispoljiti toksično, alergogeno, kancerogeno ili radioaktivno dejstvo, niti je u interakciji implanata i periimplantnog tkiva dozvoljena destabilizacija implanata [87].

2. **Bioadhezivnost** se prvenstveno odnosi na afinitet humanih ćelija prema površini implantnih materijala. Naime, implantni materijal treba da je sposoban da okolnim tkivima i telesnim tečnostima omogući dobro kvašenje (mali kontaktni ugao) i lako prijanjanje uz njegovu površinu [29].

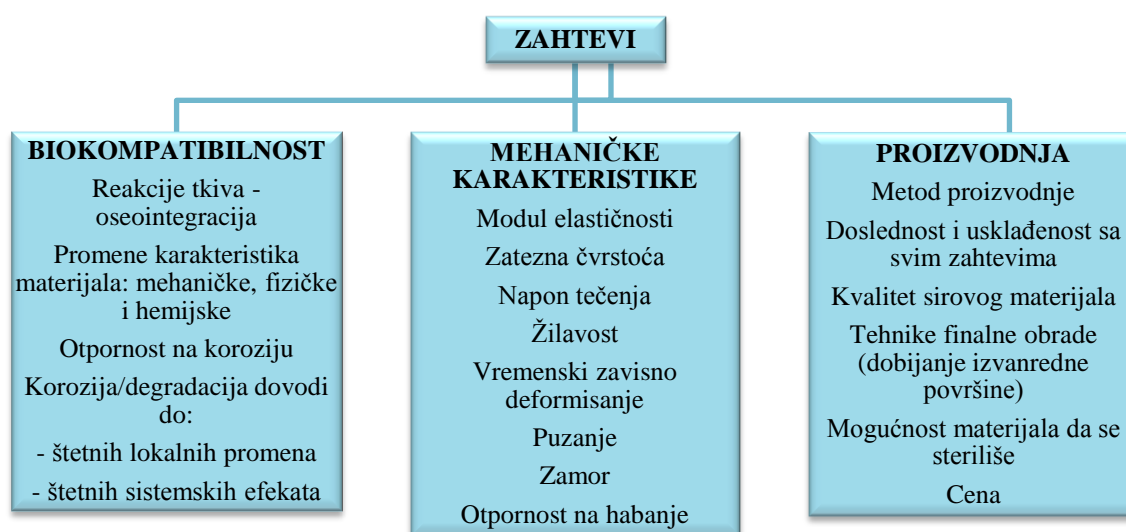
3. **Bioinertnost** se odnosi na nerastvorljivost materijala u tkivu i njegovu otpornost prema koroziji. U idealnom slučaju implantni metalni materijali ne bi trebalo uopšte da korodiraju u dodiru sa biofluidima i tkivima u ljudskom organizmu pošto je proces korozije u velikoj meri povezan sa izdržljivošću implanata i sa toksičnošću materijala, jer korozija dovodi do veće raspoloživosti jona koji mogu negativno da utiču na okolna i udaljena tkiva (pojava alergija, nekroza, zapaljenskih reakcija, deformiteta, i dr.) [47]. Materijali ugrađeni u ljudski organizam u vidu trajnih implanata treba tokom svog životnog veka da funkcionišu bez ikakvih oštećenja što je moguće ukoliko materijali poseduju izuzetnu zamornu čvrstoću pri trenju i koroziji i minimalno oslobađanje čestica prilikom pojave trenja i habanja. Zapravo, jedna od najbitnijih uloga implantnog materijala je da izdrži delovanje sile koja se stalno ponavlja u toku života [88].

4. **Biofunktionalnost** znači da materijal ima odgovarajuću čvrstoću i žilavost i da ugrađeni implanti imaju odgovarajući projektovani geometrijski oblik pri čemu su dimenzije implanata ograničene zbog ograničenog prostora u ljudskom organizmu.



Modul elastičnosti metalnih materijala je nekoliko puta veći od modula elastičnosti ljudske kosti i upravo ta neusklađenost modula elastičnosti može da dovede do značajnog opterećenja kosti što rezultuje smanjenjem gustine kostiju i pojavom atrofije. Težnja da se modul elastičnosti metalnih materijala približi modulu elastičnosti čvrstih tkiva je inicijalni pokretač daljeg razvoja metalnih implantnih materijala [89]. Prema tome, za implantne metalne materijale su od izuzetne važnosti niske vrednosti modula elastičnosti, kao i dovoljno visoke vrednosti čvrstoće i žilavosti [29]. Osim navedenih fizičko-hemijskih svojstava, za biomaterijale je bitno da mogu da se sterilišu, a kada su u pitanju određene specifične aplikacije i da su toplotni i električni izolatori [27].

Na osnovu svega navedenog može se reći da implantni materijali treba da zadovolje mnogobrojne zahteve što je shematski predstavljeno na slici 2.14 [23, 90, 91].



Slika 2.14 Zahtevi koje implantni materijali moraju ispuniti [23, 90, 91].

Pored brojnih multidisciplinarnih istraživanja sprovedenih na polju oralne implantologije, stomatologije i nauke o materijalima, do danas nije proizveden idealan dentalni implantni materijal. S obzirom na to da je istovremeno ispunjavanje svih navedenih zahteva gotovo nemoguće, većina stručnjaka se zadovoljava činjenicom da organizam toleriše ugrađeni materijal.



Interesantno je pomenuti da su materijali za implantaciju svrstani prema stepenu rizika za ljudski organizam, u IIb klasu medicinskih sredstava prema Aneksu IX Direktive za opšta medicinska sredstva Evropske zajednice (*eng.* Medical Devices Directive, MDD, 93/42/EEC), što podrazumeva povišen stepen rizika, pa je za njihovu proizvodnju, promet i primenu neophodno da ispunjavaju sve zahteve za bezbednost, da imaju odgovarajuću tehničku dokumentaciju i da usaglašenost sa zahtevima evropske direktive bude potvrđena posedovanjem CE znaka [92, 93].

2.4. PRIMENA METALNIH BIOMATERIJALA

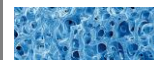
Metalni biomaterijali, zbog dobre kombinacije mehaničkih i bioloških karakteristika, i zbog toga što ispunjavaju većinu zahtevanih kriterijuma, imaju široku primenu u biomedicini. Primeri primene metalnih biomaterijala u različitim granama implantologije prikazani su u tabeli **T.2.11** [38].

Tabela T.2.11 Oblast implantologije i vrste materijala [38].

| Oblast | Primer implanta | Vrsta metala |
|-----------------|--|--|
| Kardiologija | Stent, veštački zalistak | 316L, Co-Cr-Mo, Ti, Ti-6Al-4V |
| Ortopedija | Fiksatori kosti (pločica, zavrtanj), Veštački zglob | 316L, Ti, Ti-6Al-4V Co-Cr-Mo, Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb |
| Stomatologija | Ortodontske žice, Punjenje | 316L, Co-Cr-Mo, Ti-Ni, Ti-Mo, AgSn(Cu) amalgam, Au |
| Kraniofacijalna | Pločica i zavrtanj | 316L, Co-Cr-Mo, Ti, Ti-6Al-4V |
| Otorinologija | Veštačka bubna opna | 316L |

2.4.1. Primena legura na bazi kobalta u biomedicini

Legure na bazi kobalta su široko primenjivani biomaterijali za izradu implanata zbog odličnih mehaničkih karakteristika, dobre korozivne otpornosti i zadovoljavajuće biokompatibilnosti [94]. Glavni legirajući element legura na bazi kobalta, Cr, je odgovoran za formiranje pasivnog oksidnog filma na površini materijala i na taj način doprinosi otpornosti ovih materijala na koroziju. Takođe, dodatak Mo smanjuje mogućnost nastanka tačkaste korozije ili korozije u pukotini. Sadržaj Cr i Mo u komercijalnim legurama je u opsegu 11-25 mas.% i



dokumentovano je da su legure sa manjim sadržajem navedenih elemenata podložnije koroziji [95, 96]. Iako se smatra da Co-Cr legure imaju dobru otpornost na koroziju, brojne objavljene studije su pokazale da se metalni joni otpuštaju iz ovih legura u okolna tkiva [97, 98]. Takođe, *in vitro* studije su pokazale da su čestice Co toksične za humane osteoblaste, dok čestice Cr ćelije dobro podnose bez efekata toksičnosti [87]. Bitno je navesti da legure Co-Cr-Mo kost dobro prihvata, ali se između njih interponira fibrozno tkivo što je poznato kao “udaljena osteogeneza”, dok titan ostvaruje značajan kontakt implanata sa kosti što se naziva “kontaktna osteogeneza”, o čemu će biti više reči u poglavlju 3.1.

Co-Cr-Mo legura za oblikovanje korišćena je mnogo decenija u stomatologiji i, od nedavno, u izradi veštačkih spojeva, dok je kovana Co-Ni-Cr-Mo legura relativno nova i koristi se za izradu osovina zglobnih proteza za teško opterećene spojeve, kao što su koleno i bedro [99-101]. Pored toga, Co-Cr legure imaju široku primenu kada su u pitanju implantati za veštačke spojeve kod kojih dolazi do međusobnog kontakta dva metalna dela. Prema tome, kovanjem izrađene Co-Cr legure, za razliku od livenih Co-Cr, se koriste za izradu implanata koji imaju veće zahteve u pogledu čvrstoće. Međutim, kovane Co-Cr legure sadrže veliki procenat Ni, koji je veoma rizičan element u pogledu alergijskih reakcija, pa se postavlja pitanje bezbednosti njihove primene [67]. Specijalnom termomehaničkom obradom livene Co-Cr-Mo legure (ASTM F75) dobijena je Co-28Cr-6Mo legura (ASTM F799) koja ne sadrži Ni i koja se koristi za izradu hirurških implanata [102].

2.4.2. Primena titana i njegovih legura u biomedicini

CPTi i legure titana su široko primenjivani materijali u avio industriji, energetici, hemijskoj i automobilskoj industriji. Pored toga, CPTi i legure titana su izvanredni materijali za primenu u biomedicini, sa akcentom na ortopediju i stomatologiju, upravo zbog toga što materijali na bazi titana poseduju najveći broj zahtevanih karakteristika za primenu u biomedicini u poređenju sa drugim metalnim materijalima.

Interesantno je pomenuti da su prvobitno kao materijali za dentalne implante korišćeni zlato, srebro, platina i njihove legure, jer se očekivalo da će ih tkivo, s obzirom da je reč o plemenitim metalima, dobro podnositi. Međutim, njihova



ugradnja u živa tkiva nije dala očekivane rezultate, jer ovi materijali jonizuju živo tkivo u kontaktu sa njima, što rezultuje neuspehom izvedenog hirurškog postupka [13, 38]. Pored toga korišćenje plemenitih metala za izradu dentalnih implanata nije uvek finansijski opravdano. U prvoj polovini XX veka *Vitallium®* je u stomatologiji zamenio plemenite metale kao legura za izradu dentalnih proteza, a u drugoj polovini XX veka, su to bile legure titana. Karakteristike od interesa za primenu u biomedicini su niska vrednost modula elastičnosti, visoka čvrstoća, mala gustina, otpornost na koroziju, biokompatibilnost i bioadhezivnost. Pored toga, u praksi je od izuzetnog značaja i dobra obradivost, odnosno procesibilnost i ekonomska isplativost (CPTi ima višu cenu od Co-Cr legura, ali nižu u poređenju sa komercijalno čistim niobijumom (*eng.* Commercially Pure Niobium, CPNb) i komercijalno čistim tantalom (*eng.* Commercially Pure Tantalum, CPTa)).

CPTi i legure Ti se koriste za izradu različitih medicinskih uređaja, kao što su: matrice srčanih zalistaka, veštački zglobovi, dentalni implantati, pločice za fiksaciju kosti, žice i zavrtnji za fiksaciju, i dr. [4, 34]. U današnje vreme CPTi, Ti-6Al-4V i Ti-6Al-7Nb legure su najzastupljeniji materijali u praktičnoj primeni u stomatologiji i medicini. CPTi tipične jednofazne α mikrostrukture se koristi za izradu stomatoloških implanata, dok se Ti-6Al-4V legura dvofazne $\alpha+\beta$ mikrostrukture koristi za izradu ortopedskih implanata zbog veće vrednosti čvrstoće koja se zahteva za izradu implanata koji su izloženi velikim opterećenjima u ljudskom organizmu. Bez obzira na dugogodišnja klinička ispitivanja koja su pokazala odličnu biokompatibilnost CPTi i legura titana, još uvek postoji bojazan od oslobađanja toksičnih i alergogenih elemenata, kao što su V i Al, zbog čega se za biomedicinsku primenu razvijaju nove legure u kojima su navedeni elementi zamenjeni inertnijim elementima, kao što su Nb i Zr. Upravo iz tog razloga u središtu pažnje je Ti-13Nb-13Zr legura. U poslednje vreme se za primenu u stomatologiji razvija veliki broj legura od kojih treba pomenuti Ti-Ag, Ti-Cr i Ti-Zr-Sn legure. Pored njih, značajnu primenu imaju i Ti-15Zr-4Nb-4Ta i Ti-15Zr-4Nb-2Ta-0.2Pd legure koje sadrže netoksične i nealergogene elemente, a koje su prvenstveno razvijene za ortopedsku primenu nakon čega je počela i njihova primena u stomatologiji za izradu dentalnih implanata preciznim livenjem [65, 78].



3. IMPLANTI U STOMATOLOŠKOJ PRAKSI

Implantacija označava proces unošenja veštačkih gradivnih materijala u ljudski organizam [92]. Korišćenje različitih materijala, kao što su drvo, guma, kamen i metal da se nadomeste oštećeni ili izgubljeni delovi ljudskog organizma ima korene čak u antičkoj civilizaciji [27]. Interesantno je da su veštačke oči, uši, zubi, nosevi i drugi delovi izrađeni od životinjskih kostiju i metala pronađeni na egipatskim mumijama starim oko 4000 godina [103]. Na samom početku primene metalnih materijala u ljudskom organizmu, odgovor tkiva-domaćina je bio ekstremno različit. Pod određenim okolnostima (u zavisnosti od karakteristika tkiva i hirurške procedure) neki materijali su bili dobro prihvaćeni od strane ljudskog organizma, dok su drugi materijali pod istim okolnostima bili odbijeni. Poslednjih 30 godina može se primetiti značajan napredak u razumevanju interakcija tkiva i materijala koji se ugrađuju. Delovi posebne konstrukcije koji su ugrađuju u ljudski organizam sa ciljem da se nadomeste izvesna oštećenja nazivaju se implanti. Ugradnja implanta u humani skelet treba da obezbedi punu funkcionalnu integraciju nevitalnog implanta i vitalne kosti [104]. Mehanička integracija implanata zavisi od materijala za implantaciju, njegovih fizičkih i hemijskih karakteristika, ali i od mogućnosti materijala da se integriše sa koštanim tkivom. Implantirati bilo koji materijal u uslove koje nudi usna duplja i odgovarati za njegovu neškodljivost i trajnost tokom dužeg vremenskog perioda složen je i zahtevan postupak [105].

3.1. STRUKTURA I KARAKTERISTIKE VILICE

Oralna implantologija je deo stomatologije koji se bavi ugradnjom implanata u cilju poboljšanja funkcija žvakanja, estetike i fonacije kod delimično ili potpuno bezubih pacijenata [106]. Oralna implantacija je ugradnja aloplastičnih materijala (metala, legura, keramike, polimera, kao i njihovih kombinacija) u meko i koštano tkivo gornje i donje vilice.

Gornja vilica (*lat. maxilla*), prikazana na slici **3.1a**, izgrađena je od zbijenog koštanog tkiva - kompakte (*lat. substantia compacta*), dok se sunderasto koštano tkivo - spongioza (*lat. substantia spongiosa*) nalazi u nastavcima gornje vilice i

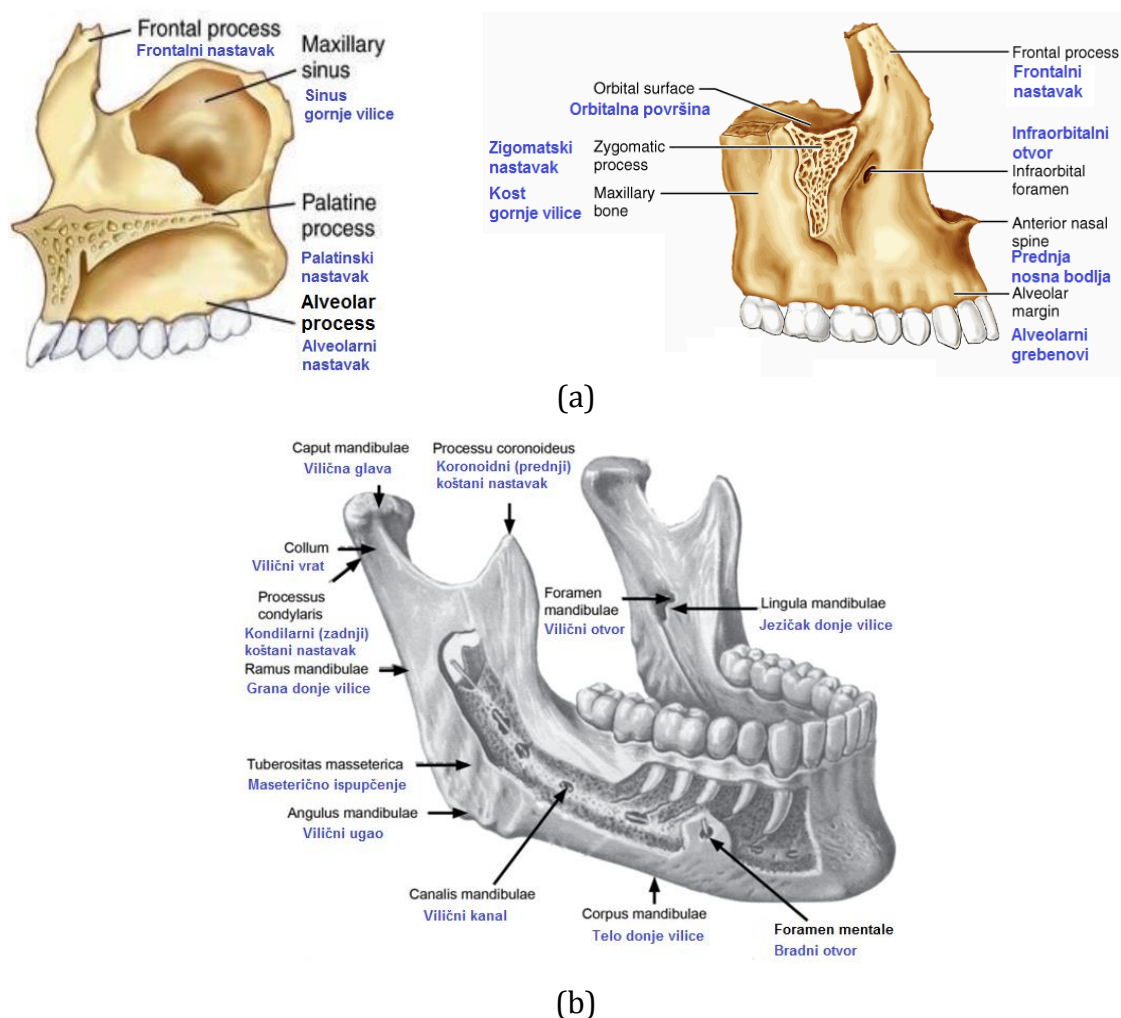


posebno je izraženo u alveolarnom nastavku, između tankih slojeva kompakte na površini [107]. Sunderasto koštano tkivo je manje gustine i veće poroznosti (30-90%) u poređenju sa kompaktnim koštanim tkivom (5-30%) [31]. Alveolarni nastavak (*lat. alveolar process*) gornje vilice nosi zube u zubnim alveolama, tako da razvoj i formiranje ovog nastavka počinje nicanjem zuba, a atrofira i redukuje se po njihovom gubitku [107]. U stvari, alveolarna kost je u funkciji prijema i distribucije sila žvakanja (mastikatornih sila) na skelet lobanje. Završni distalni deo alveolarnog nastavka, tzv. tuber gornje vilice (*lat. tuber maxillae*), ima oblik koštanog ispupčenja i izgrađen je od izrazito spongiozne kosti. Kada se uzmu u obzir kvalitet, visina i širina kosti alveolarnih grebenova gornje vilice, zbog izrazito spongiozne građe, snažno izražene resorpcije kosti i pneumatizacije sinusa, bočni predeo gornje vilice i posebno tuber predstavljaju najnepovoljniju regiju za implantaciju [108].

Donja vilica (*lat. mandibulae*), prikazana na slici **3.1b**, je neparna kost koja je pokretnim zglobovima vezana sa bazom lobanje i sastavljena je od bazalnog i alveolarnog dela [107]. Slično alveolarnom nastavku gornje vilice, alveolarni deo donje vilice je u funkciji zuba, odnosno razvija se sa njihovim nicanjem, a većim delom atrofira posle gubitka zuba. Zapravo, u detinjstvu, alveolarni deo je masivniji i viši od bazalnog dela, dok u starijem životnom dobu usled gubitka zuba dolazi do resorpcije alveolarnog dela, što predstavlja problem za ugradnju implanata. Kroz telo donje vilice (*lat. corpus mandibulae*), od viličnog otvora (*lat. foramen mandibulae*) na sredini unutrašnje strane grane donje vilice (*lat. ramus mandibulae*), do bradnog otvora (*lat. foramen mentale*), pruža se donjovilični ili mandibularni kanal (*lat. canalis mandibulae*). U predelu premolara, ovaj kanal se račva na dva manja kanala: bradni kanal (*lat. canalis mentalis*) i sekutični kanal (*lat. canalis incisivus*). Prisustvo mandibularnog kanala sa njegovim sadržajem u bočnom delu donje vilice često je ograničavajući faktor za implantaciju. Stepem resorpcije alveolarnog dela donje vilice često je tako izražen da je preostala visina kosti iznad kanala do vrha grebena nedovoljna za postavljanje implanta. Prosečan godišnji nivo resorpcije donje vilice je oko 0,2 mm i oko tri do četiri puta je veći od stepena resorpcije u gornjoj vilici. Pravac resorpcije je od unutra ka spolja u bočnoj regiji, dok je u frontalnom delu resorpcija nešto veća sa vestibularne strane.



Spoljašnji deo donje vilice čini kompakta, dok se u unutrašnjosti nalazi spongioza. Predeo između dva bradna otvora u donjoj vilici – po kvalitetu i zapremini raspoložive kosti, a i zbog odsustva anatomskih struktura koje bi ograničile zahvat, najpogodnija je regija za implantaciju. Kvalitet i zapremina kosti u donjoj vilici generalno je čine pogodnijom za prihvatanje implanata, pa je ovo i razlog za nešto veći stepen uspešnosti implantne terapije u donjoj u odnosu na gornju vilicu. Takođe, period mirovanja implanta, neophodan za oseointegraciju, kraći je u donjoj vilici jer su reparatorne sposobnosti veće, odnosno osteogenetski potencijal donje vilice je veći, u poređenju sa gornjom vilicom [108].

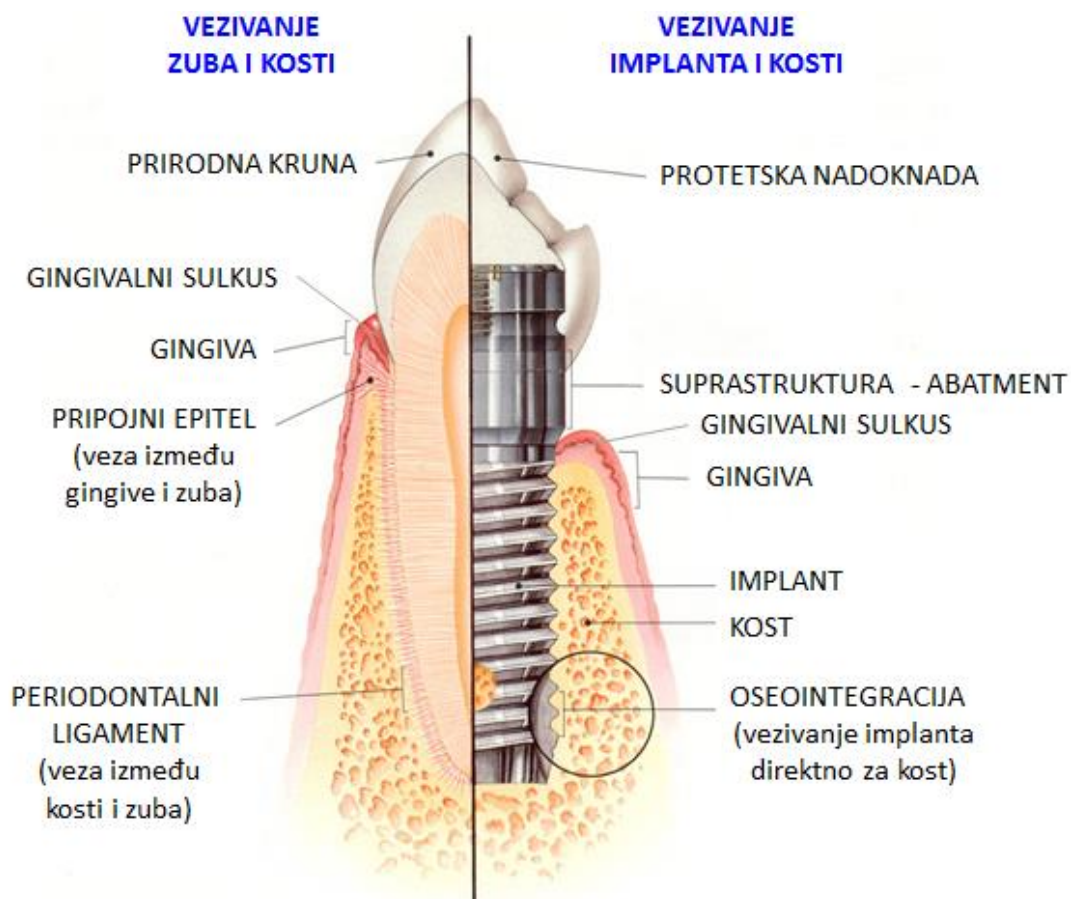


Slika 3.1 Građa gornje (a) i donje (b) vilice [107].



3.2. DENTALNI IMPLANTI

Dentalni implanti su namenski oblikovane nadoknade izrađene od odgovarajućeg metalnog materijala, čija je osnovna namena ugradnja u kosti gornje i donje vilice [109]. Dentalni implanti se koriste u stomatološkoj protetici kao podrška mostovima, krunicama i protezama. Uporedni prikaz zdravog zuba i implanta dat na slici 3.2 [110-112].



Slika 3.2 Građa implanta i zdravog zuba [110-112].



3.3. VRSTE DENTALNIH IMPLANATA

Dentalni implanti mogu biti različitog oblika, kao što su cilindrični, konični, hibridni, prikazani na slici 3.3, a način ugradnje implanta u kost gornje vilice je ilustrovan na slici 3.4 [113, 114]. Najčešće korišćen oseointegrirani Ti implant je izum švedskog profesora Per-Ingvar Branemark, koji je postavio osnove savremene implantologije krajem XX veka [114]. On je zapravo eksperimentalno dokazao da je ugrađen Ti implant okružen novo-formiranom kosti i taj fenomen je nazvao "oseintegracija". Ovaj fenomen se odnosi na formiranje strukturne i funkcionalne veze između kosti i implanta pri čemu nastaje kost-implant kompleks kao jedinstvena celina.



Slika 3.3 Oblici najčešće primenjivanih dentalnih implanata [113].



Slika 3.4 Ugradnja implanta [114].

Prema izgledu, lokalizaciji i hirurškoj tehnici ugradnje, dentalni implanti mogu biti: endoosealni, transdentalni, transosealni, subperiostalni i intramukozni [39, 113]. Neke od navedenih vrsta implanata su prikazane na slici 3.5. Projektovani oblik implanta određuje mehaničke karakteristike i sposobnost implanta da optimalno prihvata i distribuira okluzalno opterećenje (opterećenje na griznoj površini), dok je sastav implanta presudan za dinamiku i kvalitet oseintegrativnog procesa i prirodu veze sa okolnim tkivom. Danas su u preko 95% slučajeva u primeni endoosealni implanti.

Endoosealni implanti se ugrađuju u viličnu kost, kao što je prikazano na slici 3.5a. Po svom obliku dele se na cilindrične (sa navojima i bez navoja, pune i šuplje), listaste, igličaste i zavrtnanj implante. Njihov oblik prilagođen je osnovnoj funkciji da nose zubne nadoknade ili poboljšaju njihovu retenciju, tj. da delimično ili potpuno prenesu sile žvakanja na alveolarnu kost. Prema konstrukciji, endoosealni implanti se dele na jednodelne i dvodelne, tj. višedelne implante.



Jednodelni implanti su oblikovani tako da su telo - deo koji se ugrađuje u alveolarnu kost vilice i suprastruktura - abatment (*eng.* abutment) – intraoralni deo koji nosi protetsku nadoknadu povezani vratom i čine celinu. Dvodelni implant se sastoji od tela implanta i suprastrukture. Većina dvodelnih implanata pored ova dva osnovna dela sadrži i vezne elemente neophodne za povezivanje tela, suprastrukture i protetske nadoknade. Najčešće se u oralnoj implantologiji koriste puni cilindrični implanti sa navojima i s obzirom na to da ovi implanti po obliku podsećaju na koren zuba (konično se sužavaju ka vrhu), u praksi se često nazivaju „root-form” implanti. Navoji imaju višestruku funkciju, pre svega, u postizanju optimalne primarne stabilnosti, a potom i u ravnomernoj distribuciji zagrižajnih sila na okolnu alveolarnu kost. Stepenn zakošenosti i zaobljenosti ivica navoja utiče na razlaganje sila i na rasterećenje kosti koja podnosi opterećenje, a osim toga na distribuciju sila utiču i dubina i učestalost navoja. Standardni cilindrični implanti su prečnika od 3,75 do 4,3 mm i dužine od 8 do 20 mm [112, 113].

Transdentalni implanti, koji u manjoj ili većoj meri imaju izgled igle koja se kroz kanal korena zuba ugrađuje u viličnu kost, se koriste u slučajevima kada postoji potreba za dodatnim učvršćivanjem zuba. Većina transdentalnih implanata ima navoje koji povećavaju stabilnost implanata. Postoje i implanti bez navoja i oni se ugrađuju nakucavanjem kroz prethodno prošireni kanal korena zuba. Prosečna dužina ove vrste implanata iznosi od 20 do 60 mm, a prečnik od 0,7 mm do 2 mm.

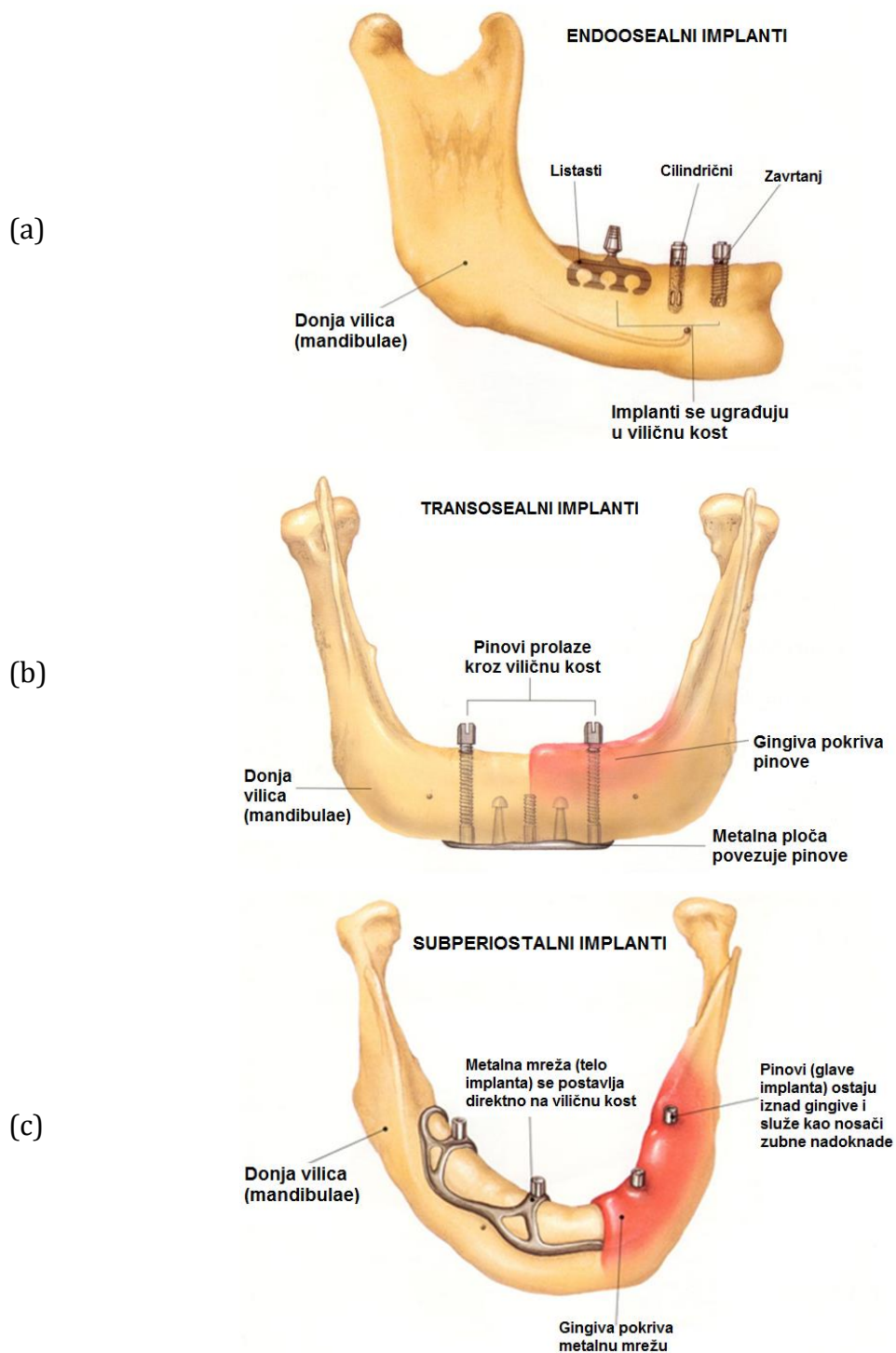
Transosealni odnosno transmandibularni implanti (*eng.* staple bone) karakteristični su po načinu ugradnje, jer se ugrađuju ekstraoralno u predelu brade donje vilice, kao što je prikazano na slici **3.5b**. Implant je na donju vilicu oslonjen potkovičastom pločom i ima 2-4 pina koji prodiru kroz kost donje vilice i kroz gingivu alveolarnog grebena u usnu šupljinu i služe kao nosači protetske konstrukcije. Pored toga, implant ima 3-5 pinova koji prodiru kroz kost donje vilice ne izlazeći intraoralno na alveolarnom grebenu i njihova funkcija je da obezbede i poboljšaju retenciju implanta u kosti.

Subperiostalni implant se izuzetno retko koriste, i to samo u slučajevima vrlo izražene resorpcije alveolarne kosti. Procedura implantacije je veoma složena i odvija se u dva koraka. Prvi korak je odizanje mukoperiosta i uzimanje otiska koštanog rezidualnog grebena. Na modelima dobijenim izlivanjem ovog otiska



izrađuje se skelet implanta pri čemu je posebno važna preciznost, tj. kongruencija površina implanta i površine vilične kosti. Telo implanta koje ostvaruje intiman kontakt sa površinom ima izgled mreže sa širokim otvorima, slika **3.5c**. U drugom koraku, opet se odiže mukoperiost i implant se postavlja na svoje mesto, a preko implanta se vraća i ušiva režanj. Na mestima perforacija na implantu periost zarasta za kost. Na ovaj način implant je fiksiran između periosta i kosti alveolarnog grebena. U predelu očnjaka i molara od tela implanta izdižu se pinovi prolazeći kroz mukozu u usnu šupljinu. Oni su nosači protetske nadoknade koja se preko njih fiksira za implant.

Intramukozni implanti se ugrađuju u ploču totalne proteze. Sferičnog “pečurkastog” su oblika sa suženjem i platformom u obliku stopice koja je preko suženja vezana za sferni deo implanta. Ova platforma se ugrađuje u proteznu ploču. Retencija proteze se ostvaruje preko sfernog dela tako što se specijalno profilisanim borderom naprave mali defekti u sluzokoži nepca i alveolarnog grebena. Nakon formiranja ležišta u sluzokoži odmah se postavlja proteza koja se mora nositi permanentno. Ožiljno zarasla meka tkiva formiraju odgovarajuću retenciju za implant. Prema tome, sam implant nema direktan kontakt sa kosti već se u potpunosti nalazi u mekim tkivima.



Slika 3.5 Vrste implanata: endossealni (a), transossealni (b) i subperiostealni (c) [39].

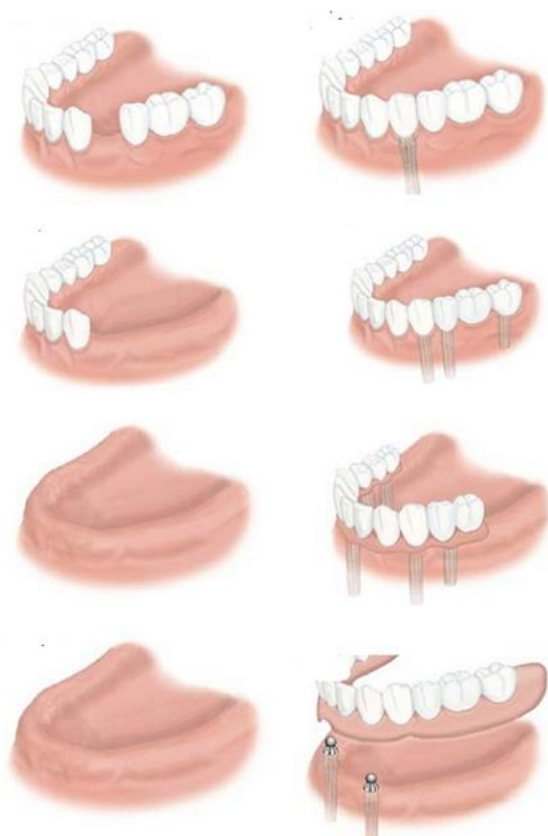


3.4. INDIKACIJE ZA UGRADNJU IMPLANATA

Odluka o ugradnji implanta treba da bude zasnovana na strogoj medicinskoj indikaciji, zaključku da se uobičajenim postupcima ne mogu postići optimalna rešenja, sigurnosti da za ugradnju ne postoje nikakve kontaindikacije, dobrom planu, korišćenju odgovarajućeg oblika implanta izrađenog od adekvatnog materijala, itd. Uglavnom se preporučuje ugradnja implanta u dva vremenska perioda:

- prvi vremenski period – ugradnja implanta u kost vilice uz potvrdu da se implant uklopio u živu sredinu bez štetnih posledica, odnosno da se ostvarila oseintegracija, i
- drugi vremenski period – dogradnja protetske nadoknade [115].

Indikacije za ugradnju implanata su shematski prikazane na slici 3.6.



1. Nedostatak jednog zuba – ugradnjom implanta izbegava se brušenje susednih zuba.

2. Nedostatak više zuba – ugradnjom implanata izbegava se izrada mobilne proteze i izrađuje se fiksni most.

3. Bezuba vilica – ugradnjom implanata izbegava se totalna proteza i izrađuje se fiksni most.

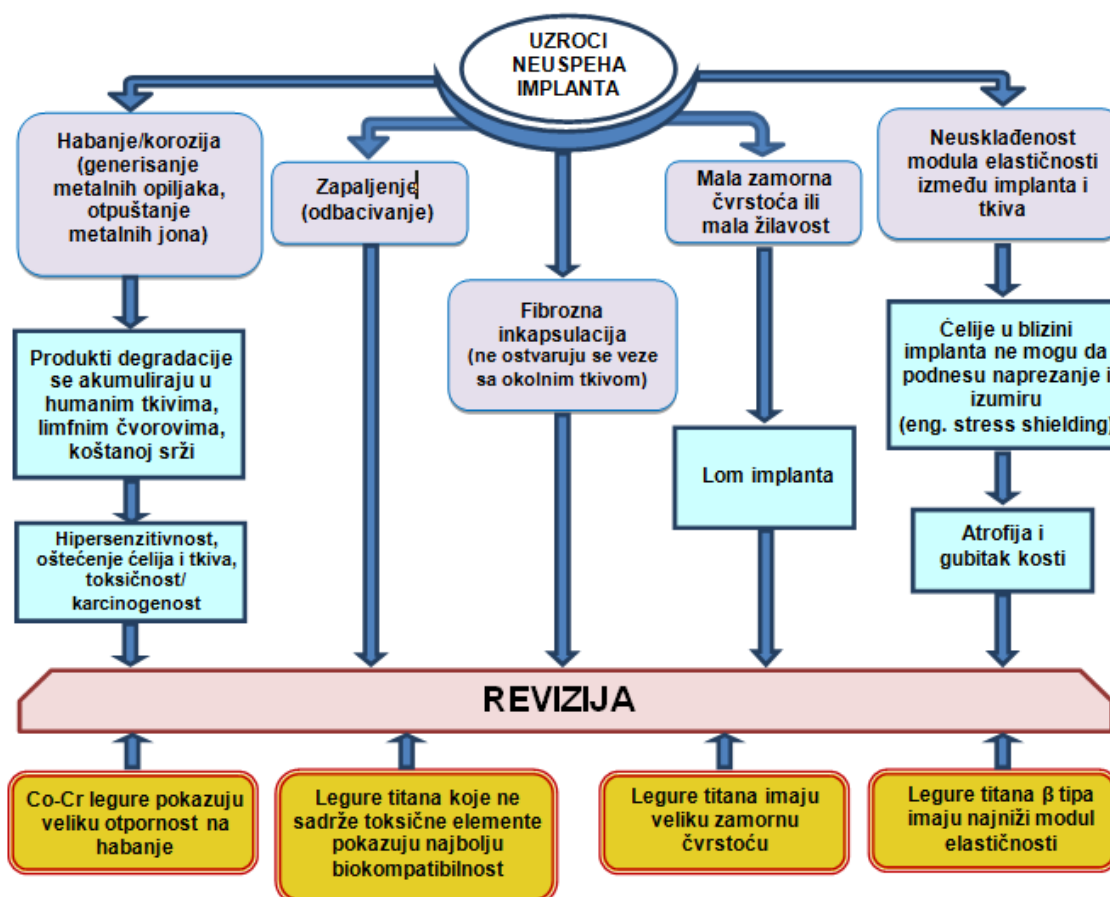
4. Bezuba donja vilica kod velikog nedostatka kosti - ugradnjom implanata se omogućava stabilnije ležanje proteze.

Slika 3.6 Indikacije za ugradnju implanata [115].



3.5. RAZLOZI ZA ODBACIVANJE IMPLANATA

Na uspeh implantacije utiče veliki broj faktora među kojima se ističu izbor materijala, njegove fizičke i mehaničke karakteristike i mogućnost interakcije sa okolnim mekim i čvrstim koštanim tkivom. Razlozi zbog kojih ljudski organizam može da odbaci implante su mnogobrojni i veoma raznoliki i neki od njih su prikazani na slici 3.7 [4, 14].



Slika 3.7 Uzroci odbacivanja implanta [4, 14].

Kliničke studije pokazuju da je sam materijal retko uzrok odbacivanja dentalnih implanata. Češće se kao uzrok javljaju neadekvatan oblik implanta, osobenosti pacijenta (veliki nedostatak kosti, loša oralna higijena, starije životno doba) ili neadekvatno sproveden hirurški zahvat [116].



4. LJUDSKI ORGANIZAM KAO BIOLOŠKA SREDINA ZA BIOMATERIJALE

Implantacija se definiše kao procedura ugradnje neživog tkiva ili materijala u biološki sistem suprotno transplantaciji koja podrazumeva transfer vitalnog tkiva [92, 110]. Kada implantni materijal dođe u kontakt sa živim tkivima, sa jedne strane se javlja reakcija organizma na uneto strano telo, a sa druge strane dolazi do degradacije implantnog materijala što vodi ka otpuštanju proizvoda korozije u okolna tkiva i organe i do slabljenja i/ili loma implanta. Svaki implantni metalni materijal koji se ugradi u ljudski organizam dolazi u kontakt sa nekim biofluidom (pljuvačka, sinovijalni fluid, limfa, krv, itd.). Biofluidi, odnosno fiziološki fluidi ili telesne tečnosti su 0,9% rastvori soli, koji sadrže aminokiseline i proteine, ali i čvrste komponente, kao što su cirkulišuće ćelije (leukociti i makrofagi) i krvne ćelije (limfociti, trombociti i eritrociti). Shodno tome, neophodno je da implantni materijal ne reaguje ili da pokazuje beznačajnu reakciju sa biofluidima sa kojima je u kontaktu [31]. Interakcije ćelija i tkiva sa biomaterijalima glavni su uslov funkcije i opstanka implanta u ljudskom organizmu.

Pri selekciji materijala za izradu implanata razmatraju se:

- odgovor domaćina na implant i
- ponašanje implanta u organizmu domaćina [39, 117-119].

4.1. ODGOVOR DOMAĆINA NA IMPLANT

Odgovor domaćina na strano telo nastupa neposredno nakon ugradnje biomaterijala. Interakcije između površine implantnog materijala i tkiva su dinamičke i nakon implantacije odvijaju se u nekoliko faza [117-119]. U prvoj fazi, tokom prvih par sekundi nakon implantacije, implant dolazi u kontakt sa vodom, rastvorenim jonima i slobodnim biomolekulima, ali ne i sa živim ćelijama. Adsorpcija proteina se dešava pri kontaktu metalnog implantnog materijala i čvrstog tkiva, i ima značajan uticaj na adheziju ćelija i koroziju metalnog materijala. Konformacije proteina su specifične za određene funkcije u ljudskom organizmu i u cilju razumevanja funkcije proteina u kontaktu sa metalima u organizmu neophodno je razumeti konformacione promene koje se dešavaju. Naime, proteini

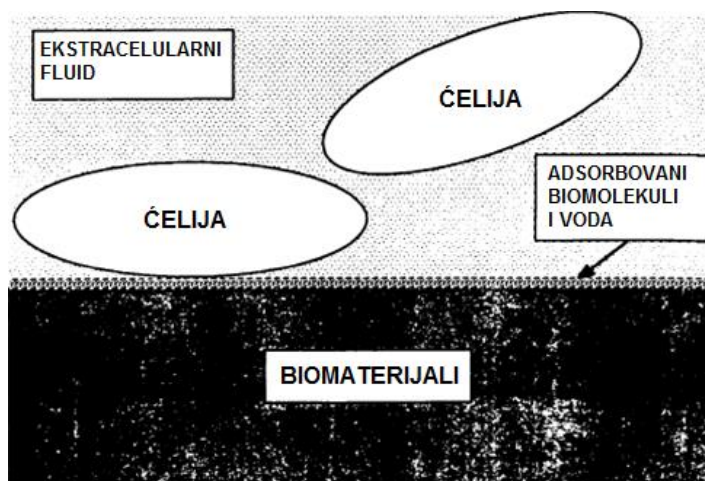


imaju određeno naelektrisanje i kada dođu u kontakt sa površinom metala naelektrisanje metala dovodi do konformacione promene, slika 4.1 [83]. Proteinski monosloj formira se na gotovo celoj površini implanta. Sastav biofluida se menja tokom procesa zapaljenja i ozdravljenja, pri čemu se menja i sastav adsorbovanog proteinskog sloja na površini implantnog materijala sve dok se ne uspostavi ravnoteža.



Slika 4.1 Promena konformacije proteina pri adsorbovanju na čvrstu površinu implanta [83].

U drugoj fazi dolazi do adhezije ćelija, u zavisnosti od adsorbovanog proteinskog sloja na površini implanta (slika 4.2), i specifičnog odgovora ćelija na adsorbovane proteine što može biti faktor koji kontroliše narednu bioreakciju na implante [120]. Ćelije mogu prijanjati, oslobađati aktivna jedinjenja, privući druge ćelije, rasti, umnožavati se, i na kraju, umirati. Navedeni ćelijski procesi se odigravaju u reakciji sa proteinima na površini i mogu da dovedu do pojave kako željenih tako i neželjenih reakcija [117]. Zavisno od tipa inicijalnih interakcija finalni rezultat pomenutog procesa može biti bilo formiranje fibrozne kapsule bilo integracija tkiva [32].



Slika 4.2 Interakcije između ćelija i površine implanta [120].

Interakcije ćelija i tkiva sa biomaterijalima mogu izazvati pojavu oštećenja biomaterijala različitog stepena, što se na kraju završava reparacijom reverzibilnog oštećenja ili smrću ćelije usled nekroze i/ili apoptoze, odnosno oštećenjem ili odbacivanjem biomaterijala [118]. Pošto su dentalni implantati postali prihvaćeni način lečenja za delimično ili potpuno bezube pacijente, postalo je očigledno da je interakcija tkiva domaćina sa površinom implanta od izuzetne važnosti za dugotrajnu prognozu [118, 119]. Sa anatomske tačke gledišta neophodno je da dentalni implantati imaju bliski kontakt sa tkivom domaćina i da imaju sposobnost da se integrišu. Ukupna biološka reakcija tkiva domaćina na dentalne implante može da se podeli na dve različite međusobno povezane faze. Faza I se sastoji od reakcije tkiva koja se javlja za vreme faze kliničkog zarastanja neposredno posle implantacije dentalnog implanta. Za vreme faze zarastanja, početni biološki procesi deponovanja proteina i molekula, na površinu implanta, praćeni su pripajanjem ćelija, njihovom migracijom i diferencijacijom. Iz tog razloga je veoma važno razumeti svojstva implantnih materijala koji utiču na početno stvaranje veze tkivo domaćina-implant. Početne reakcije tkiva dovode do ekspresije ćelija i sazrevanja vanćelijskog matriksa i obavezno do povećanja interakcija kosti sa implantnim materijalom. Kada se završi faza zarastanja implanta, pod uticajem okluzionih sila koje deluju na implant za vreme funkcionalne faze (faze II) kost u kontaktu sa implantom se remodeluje. Ukupni biološki odgovori, uključujući remodelovanje kosti za vreme funkcionalne faze, su pod jakim uticajem karakteristika opterećenja



i raspodele napona na mestu dodira i u velikoj meri zavisi od prvobitnog stepena interakcije mesta dodira tkivo-implant.

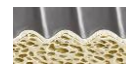
Efekti mehaničkih sila koje deluju na ćelije tkiva su značajan faktor uticaja implantiranog materijala na organizam u celini, ali i faktor koji utiče na opstanak samog materijala u ljudskom organizmu. Iz razloga što ćelije organizma stupaju u interakciju sa implantiranim materijalima ili zato što su ćelije implantirane kao posebna terapijska sredstva, reakcija ćelija na delujuće mehaničke sile je važna za predviđanje radnog veka i moguće zamene implanta.

Hrapavost površine metalnih implantnih materijala ima značajan uticaj na jačinu veze između kosti i implanta, kao i na silu koja je potrebna za uklanjanje implanta [121]. Mnogi naučnici su na osnovu sprovedenih istraživanja naglasili da je hrapavost površine implanta jedan od bitnih faktora za uspešnu implantaciju, pa su tako Khang i saradnici [122] pri ispitivanju dva implanta izrađenih od titana sa različitom hrapavošću površine, došli do zaključka da je stepen uspešnosti implantacije veći kod implanta nagriženog kiselinom veće hrapavosti (96,8%, čak i kada je kvalitet kosti lošiji) u poređenju sa mašinski obrađenim implantom manje hrapavosti (84,8%).

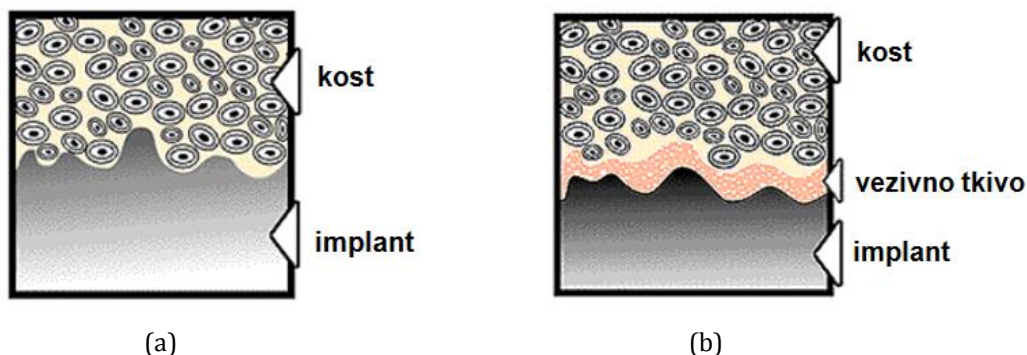
4.1.1. Oseointegracija – ključ za uspeh implantacije

U literaturi se koriste dva termina za objašnjenje procesa srastanja, odnosno retencije implanata: oseointegracija i fibrozna inkapsulacija. Branemark [123] je 1969. godine prvi definisao oseointegraciju kao direktnu funkcionalnu i strukturnu vezu između organizovane, žive kosti, i površine implanta, bez formiranja vezivnog tkiva kao međusloja, slika **4.3a**. On je istakao da je odsustvo fibroznog tkiva (višak vezivnog tkiva) u prostoru između implanta i kosti ključ za uspeh implantacije. Oseointegracija, koja se u literaturi naziva i funkcionalna ankiloza, se definiše i kao ostvarenje čvrste povezanosti aloplastičnog materijala i kosti koja se zadržava i posle funkcionalnog opterećenja implanta.

Za razliku od oseointegracije, fibrozna inkapsulacija predstavlja stvaranje zdravog vezivnog tkiva između implanta i kosti. Metalni implant biva inkapsuliran granulacionim tkivom, koje cikatrizira, formirajući fibroznju kapsulu odnosno vezivno-tkivnu čauru, koja se nalazi između implanta i kosti, slika **4.3b**. Implanti



nakon čije ugradnje dolazi do pomenutog procesa su osuđeni na neuspeh, jer se oko njih ne formira kost nego nemineralizovano tkivo. Shodno tome se može zaključiti da je osnovni preduslov za uspeh implantacije uspešna oseointegracija implanta, a ne njegova inkapsulacija.



Slika 4.3 Veza između kosti i implanta: oseointegracija (a) i fibrozna inkapsulacija (b) [112].

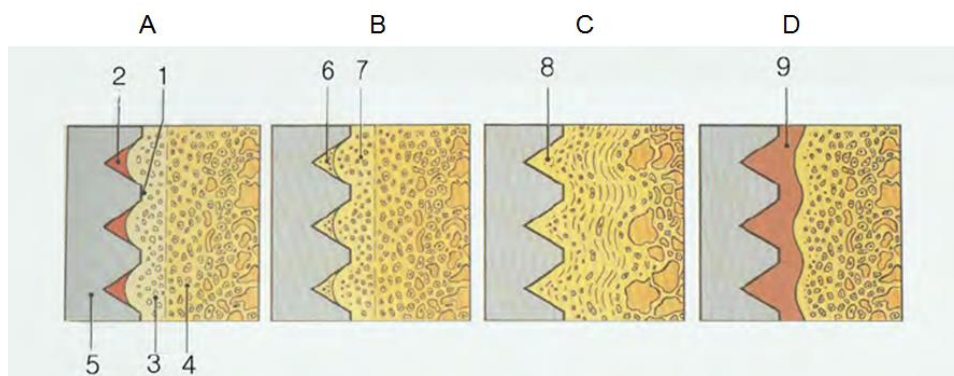
U cilju detaljne analize i potpunog razumevanja procesa oseointegracije na slici 4.4 je dat Branemark-ov shematski prikaz faza oseintegracije implanta [114]. Naime, pri ugradnji implanta u kosti gornje i donje vilice primarna stabilnost se postiže direktnim kontaktom implanta i kosti. Ovaj kontakt se uspešno ostvaruje na navojima (pozicija 1), dok se na dnu navoja ne ostvaruje direktan kontakt, već taj prostor ispunjava hematoma (pozicija 2). Hematom je labavo vezan fibrinom sa jedne strane za kost (pozicija 3), a sa druge strane za implant (pozicija 5). Naspram površine implanta je površina nekrotične i oštećene kosti, a oko ove zone je neoštećena vitalna kost (pozicija 4). Širina zone nekroze je direktno zavisna od mehaničke i termičke traume nastale prilikom pripreme ležišta za implant. Tokom perioda zarastanja, pri čemu je mirovanje implanta od krucijalnog značaja, odvijaju se složeni procesi (urastanje krvnih sudova praćeno osteoklastičnom resorpcijom i osteoblastičnom reakcijom (pozicija 7)) i hematoma se postepeno zamenjuje slabo diferenciranim vezivnim tkivom sa preosteoblastima i novim kapilarnim sudovima. Tokom ove rane faze zarastanja, koja traje oko 1-2 nedelje, organizam registruje implant kao strano telo i kao posledica toga dolazi do porasta broja multinuklearnih ćelija i makrofaga.

U kasnijim fazama zarastanja dolazi do organizacije i diferencijacije ćelija i postepenog formiranja novog koštanog tkiva, odnosno nastali hematoma se



transformiše u novu kost formiranjem kalusa (pozicija 6). Apsolutni uslov diferencijacije u pravcu osteoblasta i formiranja kosti jesu stabilnost ugrađenog implanta i dobra prokrvljenost okolnog tkiva. Ukoliko su implant i kost dovoljno blizu brzo dolazi do premošćavanja tog uskog prostora i formiranja kosti. Brzina regeneracije je oko 1 μm na dan. Koštani defekti malog prečnika do 0,2 mm zarastaju direktno stvaranjem lamelarne kosti, dok defekti prečnika do 0,5 mm zarastaju indirektno preko formiranja fibrozne kosti. Fibrozni kalus se mineralizuje i nakon dva meseca formira se zrela lamelarna kost (pozicija 8). Brzina formiranja kosti u ovom slučaju je 50-100 μm na dan. Bitno je istaći da na ovaj način stvorena kost po kvalitetu u potpunosti odgovara kosti koja bi nastala bez prisustva implanta.

Implantacija metalnog materijala uvek za posledicu ima formiranje zone nekroze u graničnoj zoni implantacije. Dejstvo prekomerne mehaničke sile dovodi do termičke traume što je najčešći razlog za stvaranje fibroznog tkiva (pozicija 9) ili širenja nekroze i neuspeha oseointegracije.



- 1 – kontakt između implanta i kosti
- 2 – hematoma u zatvorenoj šupljini između implanta i kosti
- 3 – kost oštećena neizbežnom termičkom i mehaničkom traumom
- 4 – originalna neoštećena kost
- 5 – implant
- 6 – kalus
- 7 – oštećena kost koja se oporavlja kroz revaskularizaciju i de- i remineralizaciju
- 8 – granična zona kosti se remodeluje pod uticajem mastikatornih sila
- 9 – nemineralizovano fibrozno tkivo

Slika 4.4 Faze oseointegracije: A – tretirana kost se ne podudara perfektno sa implantom; B – tokom zarastajućeg perioda bez opterećenja hematoma se transformiše u novu kost formiranjem kalusa; C – nakon zarastajućeg perioda zdrava vitalna kost je u kontaktu sa površinom implanta bez formiranja međusloja; D – neuspela implantacija [114].



4.1.2. Faktori neophodni za oseointegraciju i uspešnu implantaciju

Veliki broj faktora utiče na proces oseintegracije, a samim tim i na uspešnost implantacije [106, 124]. Faktori koji imaju pozitivan efekat odnosno poboljšavaju oseintegraciju su oblik, dužina i prečnik implanta, hemijski sastav materijala od koga je implant izrađen, stanje površine implanta, prisustvo prevlake, stanje tkiva domaćina i njegov potencijal za ozdravljenjem, mehanička stabilnost i primenjena sila pri implantaciji, korišćenje različitih tretmana kao što su osteogenetske biološke prevlake i biofizička stimulacija, i upotreba farmakoloških agenasa kao što su simvastatin i bifosfonati koji inhibiraju mineralizaciju kostiju. Oseintegracija zahteva bioinertne ili bioaktivne materijale i strukturu površine implanta na koju kost može da se nagradi (tzv. osteofilna površina). Faktori koji inhibiraju oseintegraciju su pomeranje implanta, neodgovarajuća poroznost prevlake na implantu, radioterapija, farmakološki agensi kao što su ciklosporin A, varfarin, heparini male molekulske mase i nesteroidne anti-inflamatorne supstance. Pored toga, važni faktori koji negativno utiču na oseintegraciju su i osobenosti pacijenta, kao što su osteoporoza, reumatoidni artritis, starost, neuhranjenost, pušenje i bubrežna insuficijencija.

Od velikog značaja za nastanak nove kosti je mirovanje implanta. Ukoliko se implant pomera tokom perioda regeneracije, neće biti moguće urastanje mladih krvnih sudova iz okolnog vitalnog koštanog tkiva što značajno utiče na diferencijaciju ćelija u fibroblaste ili osteoblaste. Upravo zbog toga je veoma bitno da implant neko određeno vreme ne bude opterećen protetskom nadoknadom. Za oseintegraciju potreban je relativno dug vremenski period mirovanja implanta i to 3 meseca za donju vilicu i 4-6 meseci za gornju vilicu [92]. Može se zaključiti da je bitan uslov za oseintegraciju da endosealni implant bude 3-6 meseci posle ugradnje zatvoren u alveolarnoj kosti i neopterećen. U toku prve faze zarastanja, koja traje oko 12 meseci, formira se kalus koji premošćuje rastojanje između implanta i kosti, a druga, remodelirajuća faza traje od 3-18 meseci i nastaje nakon funkcionalnog opterećenja implanta.

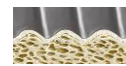
Regeneracija koštanog tkiva može da se odvija samo ako su prisutne sve tri vrste koštanih ćelija: osteoblasti, osteociti i osteoklasti [124]. Takođe mora



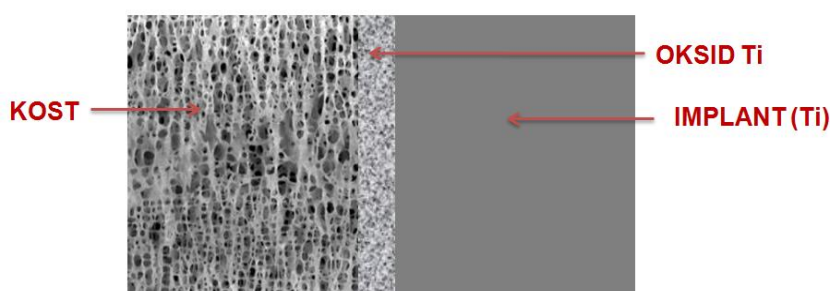
postojati određeni stepen vaskularizacije zone regeneracije. Čelije koštanog tkiva simultano deluju nadovezujući se u funkcionalnom smislu. Osteoklasti resorbuju nekrotičnu kost što je praćeno istovremenom pojačanom aktivnošću osteoblasta i formiranjem novostvorene kosti.

Pored navedenih faktora, od izuzetnog značaja za opstanak dentalnog implanta je stanje periimplantnog, gingivalnog i koštanog tkiva [124]. Funkcija periimplantnog tkiva je mnogostruka. Ono, pre svega, prihvata i fiksira implant, a takođe sprečava infekciju i amortizuje sile koje se javljaju tokom žvakanja. Takođe, veoma je važan kvalitet tkiva oko vrata implanta, odnosno odnos gingive i implanta koji sprečava migraciju pripojnog epitela. Veza između živih tkiva i dentalnog implanta morfološki i funkcionalno ne liči na periodoncijum prirodnog zuba. Periodontalno tkivo prirodnih zuba se bitno razlikuje od periimplantnog tkiva. Pripojni epitel i vezivno-tkivna vlakna gingive zuba obezbeđuju zdravu i jaku vezu zuba i periodoncijuma, što onemogućava prodor pljuvačke i bakterija duž površine korena zuba. Gingivalni sulkus je obično dubine 1-2 mm. Na spoljnjem zidu se nalazi nekoliko slojeva pločastog epitela (sulkusni epitel), dok se na dnu nalazi pripojni epitel, fiksiran za gleđ ili cement zuba. Kolagena vlakna apikalnije od pripojnog epitela ostvaruju organsku vezu sa cementom zuba. Ako dođe do inflamacije gingive, edematozna i crvena, ona teži da se previje i odvoji od površine implanta. Na taj način stvaraju se vrata za prodor infekcije prema ležištu implanta u kosti. U cilju sprečavanja nastanka infekcije treba preduzeti sve neophodne mere da se održi bliski kontakt između površine vrata implanta i gingive. Kao što se može primetiti, od primarnog značaja za uspeh ugradnje endosealnih implanata je stvaranje tesne perimukozne veze na površini vrata implanta koja onemogućava odbacivanje implanta [92].

U literaturi se mogu pronaći brojne studije koje pokazuju da titan, kao implantni materijal, ostvaruje značajan kontakt sa kostima. Neophodno je naglasiti da stopostotni direktni spoj između kosti i implanta zapravo ne postoji. Uglavnom se oseintegracija ostvaruje na 25-75% površine, dok se na ostalim delovima mogu naći nemineralizovano tkivo, krvni sudovi, nervi i vezivno fibrozno tkivo. Nasuprot ovoj činjenici, Perović i saradnici [106] su ispitivali karakteristike implanata od titana koji su bili ugrađeni u eksperimentalne životinje i nakon 6 meseci nisu



primetili patohistološke promene i reakcije iritacione prirode. U okolini kosti vilice, gde je implant postavljen, nije bilo znakova stvaranja nemineralizovanog tkiva što je pokazalo da je implant izrađen od titana čistoće 99,85% bio potpuno oseointegrisan. Shematski prikaz uspešne ugradnje implanta izrađenog od titana dat je na slici 4.5 [78, 92]. Bitno je primetiti da kost nije razdvojena od površine titana nekom membranom od fibroznog tkiva, već se između metala i kosti formira sloj titan-dioksida što je jedan od glavnih razloga biokompatibilnosti titana. Prisustvo titan-dioksida na površini implanta indukuje taloženje kristala kalcijum-fosfata, što se ne dešava bez prisustva sloja oksida.



Slika 4.5 Shematski prikaz uspešne implantacije [78, 92].



4.2. PONAŠANJE IMPLANTA U ORGANIZMU DOMAĆINA

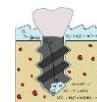
Svaki materijal unet u organizam domaćina biva na neki način promenjen, shodno dinamičnosti ove sredine. Naime, kada implantni materijal dođe u kontakt sa biofluidima u ljudskom organizmu dolazi do pojave korozije, odnosno do trošenja materijala pod uticajem hemijskih, fizičkih ili kombinovanih faktora [125, 126]. Korozija zapravo nastaje kada se pasivni zaštitni film na metalnom materijalu ošteti trenjem i mikro-pokretima, pri čemu dolazi do direktnog kontakta metalnog implanta sa biofluidima [127]. Biofluidi sadrže vodu, rastvoreni kiseonik, proteine i različite jone, kao što su hloridni i hidroksilni joni, cirkulišuće i krvne ćelije. U normalnim uslovima pH vrednost telesnih tečnosti je 7,0-7,4, mada može pasti na 4,0-5,0 usled pojave zapaljenskih procesa izazvanih povredom ili hirurškim zahvatom [118]. Poznato je da pH vrednost u čvrstim tkivima opada na 5,2 nakon implantacije i dostiže vrednost od 7,4 nakon dve nedelje. Vrednost temperature je 36,5°C, a pritiska 1 atm, pri čemu treba napomenuti da je unutrašnji parcijalni pritisak kiseonika $\frac{1}{4}$ atmosferskog pritiska kiseonika. Niži parcijalni pritisak kiseonika u ljudskom organizmu nego na vazduhu ubrzava proces korozije biokompatibilnih metalnih materijala, jer smanjuje brzinu obnavljanja pasivnog površinskog oksidnog sloja nakon što se on ošteti ili ukloni sa površine materijala. Unutar ljudskog organizma trenje dovodi i do pojave habanja metalnih materijala, koje dalje vodi ka neprekidnom oslobađanju metalnih jona, metalnih jedinjenja i produkata habanja (metalnih opiljaka). Otpuštanje metalnih jona iz implantnih materijala može da utiče na lokalna tkiva i organe sa kojima je materijal u kontaktu, a otpušteni joni mogu da difunduju i da se akumuliraju u udaljenim tkivima i organima izazivajući različite zdravstvene probleme [128, 129].

Pri implantaciji metalnih biomaterijala u kosti vilice, dolazi do promene karakteristika površine materijala koji je izložen direktnom delovanju pljuvačke. U momentu implantacije materijala u usta dolazi do stvaranja acelularnog biofilma na površini materijala kao posledica spontane adsorpcije ekstracelularnih makromolekula glikoproteina, kao što je opisano u poglavlju 3.1. Rezultat ove brze akcije organizma su, pored modifikacije površinskih karakteristika materijala, izmena i odgovor ćelija biofilma na novonastalu situaciju [32]. Faktori koji utiču na



sastav i organizaciju biofilma su hemijske karakteristike površine implanta, pokretljivost, hrapavost i jačina veze između makromolekula i implantnog materijala.

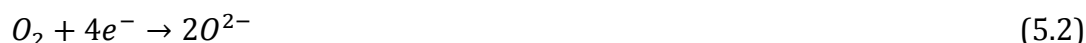
Degradacija odnosno propadanje dentalnih materijala smatra se osnovnim limitirajućim faktorom njihove biokompatibilnosti [6]. Usna duplja, kao dinamična i otvorena biološka sredina, ima brojne specifičnosti. Humana pljuvačka je elektrolit koji se u zdravom organizmu kontinualno proizvodi i to 1-1,5 litara dnevno. Raznolikost njenog sastava rezultat je činjenice da je humana pljuvačka složena mešavina tečnosti i materija koje potiču iz brojnih izvora, kao što su pljuvačne žlezde, mikroorganizmi usne duplje, gingivalni fluid, polimorfnonuklearni leukociti, epitelne ćelije i sastojci hrane [130]. Prema tome, može se reći da je oralna sredina veoma nepovoljna sa stanovišta primene različitih metalnih materijala, jer pored stalnog prisustva vlage i gasova u usnoj duplji često dolazi do promene vrednosti pH. Olakšavajuća okolnost je što u oralnoj sredini izuzetno retko dolazi do ekstremnih fluktuacija pH vrednosti, odnosno promene pH vrednosti jesu česte, ali se javljaju u uskom opsegu [131]. Čak i kada nastane izrazito sniženje pH vrednosti (u slučaju zapaljenja ili patoloških poremećaja) ili povećanje pH vrednosti (u slučaju infekcija), pljuvačka, zbog puferskih svojstava, veoma brzo dostiže pH vrednosti karakteristične za oralnu sredinu (oko 5,8). Ipak, treba naglasiti da je vodena sredina u kombinaciji sa efektima biofilma, intenzivnim mastikatornim silama i potencijalnim interakcijama sa drugim metalima izuzetno koroziorna za metalne materijale [132].



5. KOROZIJA METALNIH IMPLANTNIH MATERIJALA

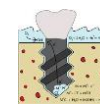
Korozija je izuzetno nepovoljna sa stanovišta primene metala kao biomaterijala, jer kao posledica korozije dolazi do degradacije metalnog implantnog materijala što ugrožava životni vek implanta, a takođe dolazi i do širenja štetnih proizvoda korozije u tkiva i organe [133]. Korozija metala u kliničkoj praksi može dovesti do lokalnog bola i otekline u okolini implanta, bez primetne infekcije [134]. Takođe se mogu javiti naprsline ili ljuštenje implanta (što se može videti na rendgenskim snimcima), kao i otpuštanje metalnih jona. U hirurgiji se može uočiti siva ili crna obojenost okolnog tkiva, dok se oljušteni slojevi metala mogu naći u tkivu. Takođe, korozija dovodi do promene karakteristika implantnih materijala kao što su estetski izgled (od posebnog značaja za dentalne implante), jačina i biokompatibilnost. Primećeno je da može doći do promene boje metala bez promene hemijskog sastava površinskog sloja, nastala kao posledica formiranja taloga različite prirode (bakterijski plak i zubni kamenac), ili tamnjenja koje je posledica hemijskih reakcija metala sa supstancama iz okruženja, formiranja jedinjenja tipa oksida, sulfida ili hlorida i promene hemijskog sastava površine nadoknada [135].

Korozija predstavlja proces degradacije (trošenja, nagrizanja) materijala, posebno metala, pod uticajem fizičkih, hemijskih ili kombinovanih faktora. Korozija je neželjena hemijska ili elektrohemijska reakcija metala sa okolinom, koja rezultira njegovom kontinuiranom degradacijom u okside, hidrokside ili druga jedinjenja [31, 32]. Elektrohemijska oksidacija je najčešći tip korozije metalnih implantnih materijala i može se prikazati sledećim jednačinama:



Jednačina 5.1 prikazuje oksidaciju metala otpuštanjem valentnih elektrona pri čemu se formira katjon metala. Za oksidaciju metala neophodno je prisustvo kiseonika koji prima elektrone i redukuje se, što je prikazano jednačinom 5.2.

Direktnom reakcijom metala i kiseonika dolazi do formiranja oksida (reakcija prikazana jednačinom 5.3), dok reakcijom metala, kiseonika i vode dolazi do nastanka hidroksida ili hidratiranih oksida (reakcija prikazana jednačinom 5.4).



Elektrodni potencijal, E_p [V], se može izračunati prema Nernstovoj jednačini:

$$E_p = E_0 + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln[M^{n+}] \quad (5.5)$$

gde su E_0 - standardni elektrodni potencijal [V], R - univerzalna gasna konstanta [8,3145 J·mol⁻¹K⁻¹], T - apsolutna temperatura [K], n - broj molova jona, F - Faradejeva konstanta [96485,34 C·mol⁻¹] i M - koncentracija jona [mol·l⁻¹].

Koroziona stabilnost metala može da se pretpostavi na osnovu standardnog elektrodnog Nernstovog potencijala prikazanog u tabeli **T.5.1** [32].

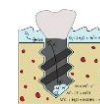
Tabela T.5.1 Standardni elektrohemijski niz na 25°C [32].

| Reakcija | ΔE_0 [V] | Reakcija | ΔE_0 [V] |
|---|------------------|---|------------------|
| Li \leftrightarrow Li ⁺ + e ⁻ | -3,04 | Cr \leftrightarrow Cr ³⁺ + 3e ⁻ | -0,74 |
| K \leftrightarrow K ⁺ + e ⁻ | -2,92 | Ta \leftrightarrow Ta ³⁺ + 3e ⁻ | -0,60 |
| Ca \leftrightarrow Ca ²⁺ + 2e ⁻ | -2,87 | Fe \leftrightarrow Fe ²⁺ + 2e ⁻ | -0,44 |
| Na \leftrightarrow Na ⁺ + e ⁻ | -2,71 | Co \leftrightarrow Co ²⁺ + 2e ⁻ | -0,28 |
| Al \leftrightarrow Al ³⁺ + 3e ⁻ | -1,66 | Ni \leftrightarrow Ni ²⁺ + 2e ⁻ | -0,23 |
| Ti \leftrightarrow Ti ²⁺ + 2e ⁻ | -1,63 | H ₂ \leftrightarrow 2H ⁺ | 0,00 |
| Zr \leftrightarrow Zr ⁴⁺ + 4e ⁻ | -1,53 | Cu \leftrightarrow Cu ²⁺ + 2e ⁻ | +0,34 |
| Ti \leftrightarrow Ti ³⁺ + 3e ⁻ | -1,37 | Ag \leftrightarrow Ag ⁺ + e ⁻ | +0,80 |
| V \leftrightarrow V ²⁺ + 2e ⁻ | -1,18 | Pt \leftrightarrow Pt ⁴⁺ + 4e ⁻ | +0,86 |
| Nb \leftrightarrow Nb ³⁺ + 3e ⁻ | -1,10 | Au \leftrightarrow Au ⁺ + e ⁻ | +1,50 |

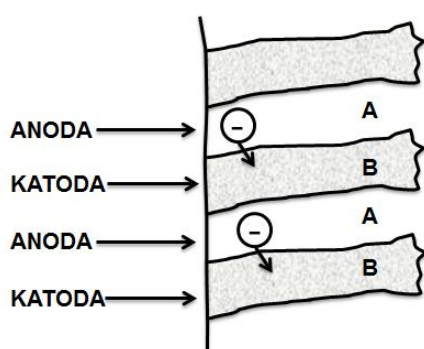
Niži elektrodni potencijal metala odražava veću reaktivnost odnosno veću sposobnost otpuštanja elektrona, a samim tim i veću podložnost koroziji [126].

5.1. KOROZIJA DENTALNIH IMPLANATA

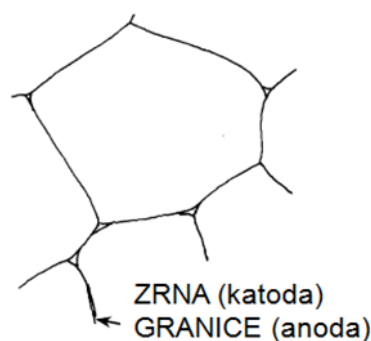
Najčešći uzrok propadanja metalnih dentalnih implanata je korozioni proces, koji za posledicu ima otpuštanje jona metala. U usnoj duplji se javlja elektrohemijska ili vlažna korozija metala nastala kao posledica pojave makro i mikrospregova u odgovarajućem elektrolitu, za razliku od hemijske ili suve korozije koja podrazumeva direktnu hemijsku reakciju metala i nemetalnih supstanci uz degradaciju metala. Posebni oblici elektrohemijske korozije su galvanska korozija (korozija usled prisustva različitih metala i korozija u vezi sa heterogenim sastavom metalne površine), korozija u pukotini i tačkasta korozija [99, 126, 133].



Ukoliko se dva metala različitih elektrohemijskih potencijala nađu u kontaktu sa oralnom tečnošću, koja je elektrolit, dolazi do formiranja mikrogalvanske ćelije i proizvodnje mikrostruje, odnosno javlja se galvanska korozija i dolazi do nagrivanja metala [126]. Ukoliko se metal sa nižim elektrodnom potencijalom označi sa A, a metal sa višim potencijalom označi sa B (slika 5.1), metal A će se oksidovati i rastvarati, a elektroni oslobođeni njegovom oksidacijom će direktno prelaziti na metal B. U ovom slučaju metal A predstavlja anodu na kojoj se vrši oksidacija i rastvaranje, a metal B predstavlja katodu ovog galvanskog elementa, odnosno metal A podleže koroziji.

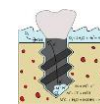


Slika 5.1 Galvanska korozija usled prisustva različitih metala [126].

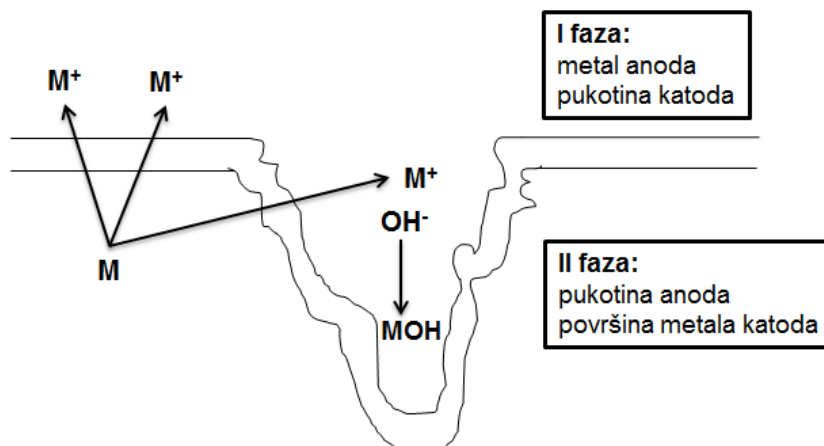


Slika 5.2 Galvanska korozija pojedinačnog metala [32].

Proces galvanske korozije se mnogo brže odvija od procesa korozije pojedinačnih metala [32, 126]. Upravo iz tog razloga nije poželjno vršiti implantaciju različitih metala u usnu duplju istog pacijenta. Za pojavu galvanske korozije nije uvek neophodno prisustvo dva metala sa različitim elektrodnom potencijalom, već se ona može javiti i u pojedinačnom metalu ukoliko postoji izvesna nehomogenost materijala, prisustvo nečistoća (npr. plaka), delimična oksidacija površine, i sl. Primer galvanske korozije pojedinačnog metala prikazan je na slici 5.2, gde granice zrna predstavljaju anodu gde se vrši rastvaranje, dok samo zrno predstavlja katodu. U navedenom slučaju se na površini metala formiraju tzv. lokalni galvanski spojevi jer različita mesta na površini metala imaju različite potencijale. Naime, metal ispod nečistoće uvek ima niži elektrodni potencijal od okolnog metala i u formiranom lokalnom galvanskom elementu se ponaša kao anoda.



Pored galvanske korozije, često se javlja i korozija u pukotini (*eng.* crevice corrosion), i to najčešće na teško dostupnim mestima [126, 136]. Mehanizam korozije u pukotini je prikazan na slici 5.3.



Slika 5.3 Korozija u pukotini [126].

Na početku procesa korozije (I faza) odvija se anodna reakcija oksidacije i rastvaranja gde površina metala M predstavlja anodu u kontaktu sa elektrolitom što se može prikazati jednačinom 5.1. U pukotini ispunjenoj vodom u kojoj je rastvoren kiseonik odigrava se katodna reakcija redukcije i taloženja što se može prikazati jednačinom 5.2.

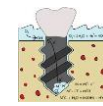
Unutar pukotine, količina kiseonika rastvorenog u vodi se smanjuje usled čega je dužina trajanja katodne reakcije (a time i faza I korozije u pukotini) ograničena količinom dostupnog kiseonika.

Metalni joni nastali anodnom reakcijom i hidroksilni joni nastali katodnom reakcijom mogu da nagrađe nerastvorni hidroksid koji se taloži na dnu pukotine:



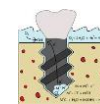
Kao što je već rečeno, deo metala ispod nečistoće (u ovom slučaju nečistoća je nagrađeni hidroksid) ponaša se kao anoda. Prema tome, kada se sav raspoloživi kiseonik u pukotini potroši, nastupa II faza korozije, tokom koje sama pukotina počinje da se ponaša kao anoda, a okolni metal kao katoda, čime se proces korozije nastavlja.

Tačkasta korozija (*eng.* pitting corrosion) je vid lokalne korozije koji se javlja lokalnim rastvaranjem pasivnog filma pri čemu dolazi do formiranja šupljina okruženih netaknutom pasivnom površinom [136]. Tačkasta korozija se najčešće



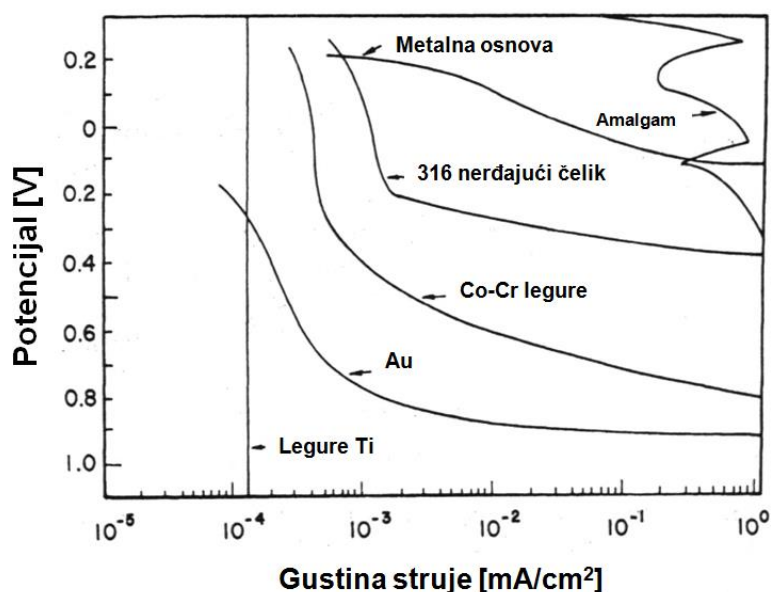
javlja kod dentalnih implanata zbog izražene kiselosti i povećane koncentracije kiseonika u usnoj duplji. Mnogi metali podležu tačkastoj koroziji kada se nađu u sredini koja sadrži hloridne jone. Tačkasta korozija se javlja kod nerđajućeg čelika i Co-Cr legura, dok materijali na bazi titana imaju veliku otpornost prema tačkastoj koroziji u *in vivo* uslovima. Titan i njegove legure su u prisustvu hlorida na visokim potencijalima (oko 10 V) podložni tačkastoj koroziji. Prema tome, klasična tačkasta korozija nije relevantni oblik korozije za materijale na bazi titana za biomedicinsku primenu, jer je poznato da je potencijal u ljudskom organizmu manji od 1 V. Međutim, titan i njegove legure su podložni tačkastoj koroziji kada se nalaze u sredini sa povećanim sadržajem fluorida, što je karakteristično za proces čišćenja zuba tokom dentalnih zahvata.

Pomenuti oblici korozije se najčešće javljaju udruženo, posebno u uslovima neadekvatne oralne higijene i propusta pri izradi dentalnih nadoknada (neodgovarajuća homogenizacija materijala, termička obrada, poliranje i dr.). Međutim, treba naglasiti da je brzina opšte korozije implantnih materijala relativno mala usled formiranja zaštitnih pasivnih slojeva na površini metalnih implanata.



5.2. STEPEN KOROZIJE I POLARIZACIONE KRIVE

Polarizacione krive su dijagrami zavisnosti gustine struje (struja po jedinici površine) od potencijala elektroda, slika 5.4 [1, 32]. Iz polarizacionih krivih je moguće izračunati broj jona oslobođenih u tkivu u jedinici vremena, kao i do koje dubine je korozija prodrla u metal u datom trenutku.

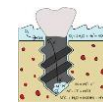


Slika 5.4 Dijagram zavisnosti gustine struje od potencijala za neke biomaterijale [1].

Stepen korozije, osim od karakteristika materijala i uslova sredine kojima je materijal izložen, zavisi i od faktora mehaničkog porekla. Na primer, pri koroziji nastaloj usled pojave zamora materijala, ponavljajuća deformacija metala u korozionoj sredini rezultuje ubrzanjem kako procesa korozije tako i nastankom mikro-oštećenja usled zamora. Kako se u ljudskom organizmu istovremeno javljaju i ponavljajuća mehanička naprezanja i hemijski agresivna sredina, ispitivanje zamornih svojstava implantnih materijala treba izvoditi u simuliranim fiziološkim uslovima.

5.3. OTPUŠTANJE JONA IZ IMPLANTNIH MATERIJALA

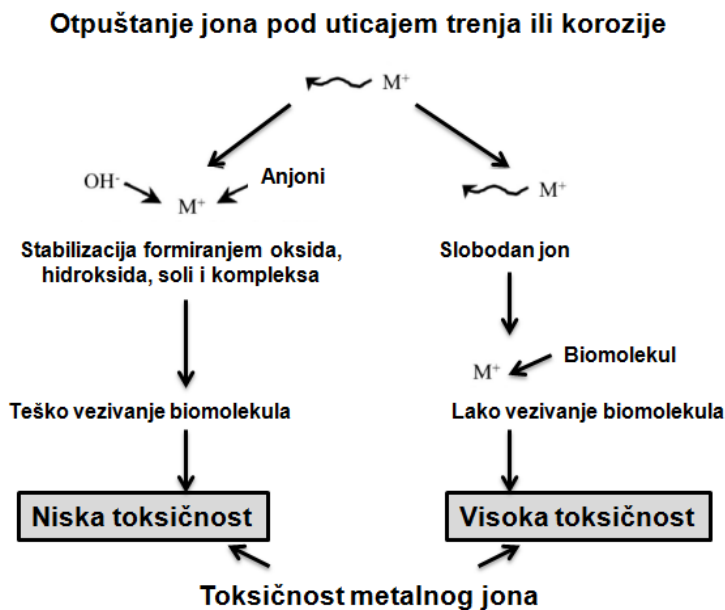
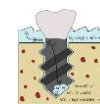
Kada implantni metalni materijal dođe u kontakt sa biofluidima u ljudskom organizmu dolazi do pojave korozije, a kao posledica korozionog procesa javlja se otpuštanje metalnih jona iz implantnih materijala [125, 137]. Otpuštanje metalnih jona, koji su toksični u određenim koncentracijama, iz implantnih materijala može



da izazove kako lokalne, tako i ozbiljne sistemske zdravstvene probleme usled difuzije jona kroz ceo organizam. Ako se posmatraju dentalni implanti, metali i joni metala koji se otpuštaju iz implantnog materijala mogu da se detektuju u jeziku, pljuvački i desnima neposredno pored metalnog implanta. Osim toga, otpušteni joni mogu da se akumuliraju u određenom nivou i u udaljenim tkivima. Tako se npr. iz Co-Cr legura otpuštaju joni Co koji se u najvećoj meri akumuliraju u jetri, ali su pored toga pronađeni i u kosi, krvi i urinu [138].

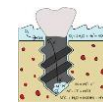
Otpuštanje jona se može intenzivirati pri određenim mikrostrukturnim stanjima implantnog materijala, postojanjem površinskih neravnina ili interakcijom metala sa određenom hemijskom sredinom [139]. Koncentracija otpuštenih jona je usko povezana sa korozionom otpornošću metalnog materijala, pa tako osim od hemijskog sastava, mikrostrukture i stanja površine implantnog materijala, zavisi od reaktivnosti sredine (sastav i koncentracija, pH vrednost, površinski napon, puferski kapacitet, i dr.) [128, 140-143]. Pored toga, količina otpuštenih jona zavisi i od mehaničkih faktora (npr. postojanje inicijalnih pukotina, površinska abrazija, adhezivnost površinskog filma), elektrohemijskih faktora (npr. primenjeni potencijal) i od ćelijske koncentracije oko implanta [144].

U oceni toksičnosti dentalnih legura polazi se od toksičnosti čistih metala koji su korišćeni kao legirajući elementi. Međutim, poznato je da mnogi metali u elementarnom obliku ne ispoljavaju ni alergijski ni kancerogeni efekat, ali metalni joni i derivati metala koji uključuju okside, hidrokside, soli i komplekse nastale usled korozije, pokazuju znake toksičnosti kada dođu u kontakt sa biofluidima. Upravo zbog toga, toksičnost metalnih materijala se određuje na osnovu više faktora kao što su: (1) brzina i lakoća otpuštanja jona iz metala (podložnost koroziji); (2) reaktivnost otpuštenih metalnih jona (sposobnost pasivacije i reakcije sa drugim molekulima), slika 5.5; (3) toksičnost metalnih jona i njihovih derivata [145]. Svi navedeni faktori se moraju razmotriti kada se utvrđuje toksičnost nekog metala.



Slika 5.5 Reaktivnost otpuštenih metalnih jona kao faktor koji određuje toksičnost metala [145].

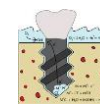
Reaktivnost otpuštenih jona je od velikog značaja za procenu toksičnosti metalnog materijala. Naime, u ljudskom organizmu svaki molekul ima mogućnost da reaguje sa otpuštenim jonima [145]. Neki metalni joni su reaktivni i odmah nakon kontakta sa ljudskim organizmom dolazi do reakcije sa molekulima vode ili neorganskim anjonima. Primer za ovu grupu jona su joni titana koji reaguju sa hidroksilnim jonima i anjonima u ljudskom organizmu formirajući okside i soli istovremeno smanjujući mogućnost reakcije sa biomolekulima. Međutim, iako postoji mogućnost reakcije titana i biomolekula ona je ipak neznatna. Pored toga, neki joni, kao što su joni Ni i Cu, su neaktivni i ne reaguju odmah sa molekulima vode i neorganskim anjonima već se mogu održati u obliku jona dug vremenski period. Upravo zbog toga ovi joni imaju mnogo veću mogućnost da se kasnije kombinuju sa biomolekulima i da ispolje toksični efekat. U literaturi je prisutna podela metalnih jona prema reaktivnosti u tri grupe: (1) joni koji reaguju sa molekulima vode ili anjonima i formiraju stabilne okside, hidrokside ili soli (npr. Ti); (2) joni koji nisu reaktivni (npr. Zr) i (3) joni koji formiraju nestabilne komplekse sa biomolekulima (npr. Ni i Cu). Za prve dve grupe jona se može reći da su niske toksičnosti, dok se za treću grupu metalnih jona smatra da su visoke toksičnosti.



Kod neplemenitih metala kao što je titan, pasivni oksidni film se oštećuje trenjem i habanjem izazvanim mikropokretima, usled čega i dolazi do otpuštanja metalnih jona. Kada dođe do oštećenja oksidnog filma obrazovanog na površini metalnog materijala, proces korozije dalje napreduje sve dok se pasivni površinski film ne obnovi. Oksidni film formiran na površini titana se brzo obnavlja, tj. dolazi do repasivacije površine metala. Međutim, u određenim slučajevima se površinski sloj kontinuirano oštećuje što dovodi do konstantnog otpuštanja jona. Ispitivanja koja su među prvima sprovedena u cilju određivanja koncentracije otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure u simuliranim fiziološkim uslovima su pokazala da se joni Ti gotovo ne otpuštaju, dok se joni Ni i Fe otpuštaju u malim količinama [146]. Na osnovu dobijenih rezultata izveden je izuzetno značajan zaključak da koncentracija otpuštenih jona nije u linearnoj zavisnosti sa udelom datog elementa u leguri i da se otpuštanje jona metala prisutnih u leguri u minimalnom udelu ne sme zanemariti. Na sličan način su u svojim istraživanjima i Mikulewicz i saradnici [147] pokazali da količina otpuštenih jona nije jednoznačan pokazatelj udela hemijskog elementa u materijalu.

5.4. ISPITIVANJE KOROZIJE

Korozija dentalnih implanata je najčešće elektrohemijske prirode i može biti posledica postojanja dve različite legure u ustima ili posledica postojanja razlike potencijala na površini legure usled heterogenog sastava legure, prisustva nečistoća, neodgovarajuće mehaničke obrade ili prisustva pukotina [125, 133, 148]. Korozija dentalnih legura nastaje kada elementi prisutni u sastavu legure jonizuju. Naime, u samoj dentalnoj leguri metali su nenaelektrisani ali pod uticajem različitih faktora dolazi do otpuštanja elektrona i posledično do formiranja pozitivno naelektrisanih jona [149]. Korozija može da se ispituje posmatranjem i analizom vidljivih defekata površine metalnog materijala, različitim elektrohemijskim testovima kojima se određuje trenutni protok otpuštenih elektrona ili merenjem koncentracije otpuštenih jona metala primenom spektroskopskih metoda [149, 150]. Osim toga, ispitivanje koje se često izvodi je merenje promene, tj. gubitka mase metala do kojeg dolazi usled korozije u zavisnosti od vremena izlaganja korozionoj sredini.



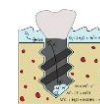
5.4.1. Testovi potapanja

Testovi potapanja se najčešće koriste kao početna faza ispitivanja korozione postojanosti biokompatibilnih metalnih materijala. Ispitivanja otpuštanja metalnih jona ili čestica iz implantnih materijala mogu da se vrše u *in vitro* i *in vivo* uslovima. Ispitivanja *in vitro* doprinose boljem razumevanju složenih fenomena otpuštanja metalnih jona koji se javljaju u *in vivo* uslovima, dok ispitivanja *in vivo* mogu da ukažu na različite poremećaje koji se mogu javiti u živom organizmu. Naime, nakon ugradnje metalnog materijala u telo eksperimentalne životinje, otpušteni metalni joni se akumuliraju u unutrašnjim organima i podležu metaboličkim procesima, pa je nedostatak *in vivo* ispitivanja taj što se tačna količina metalnih jona ne može odrediti. Međutim, otpuštene jone je moguće detektovati u okolnim i udaljenim tkivima i organima, pa tako *in vivo* ispitivanja mogu da ukažu na lokalne i sistemske poremećaje (toksične, imunogene, mutagene), koji se potencijalno mogu javiti kod pacijenata koji imaju ugrađene implante [125].

Za *in vitro* testove potapanja je od izuzetnog značaja izbor sastava i koncentracije odgovarajućeg medijuma, pH vrednost medijuma, temperatura, kao i vreme potapanja.

5.4.1.1. Sastav i koncentracija medijuma

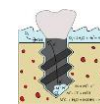
S obzirom na činjenicu da do pojave korozije metala u ljudskom organizmu dolazi usled prisustva hloridnih jona, za praćenje i simulaciju korozije se veoma često koristi 0,9% rastvor NaCl, koji ujedno predstavlja i standardni rastvor za koroziona ispitivanja dentalnih metalnih materijala prema ISO 10271 [151]. Kada se govori o degradaciji dentalnih legura, mora se istaći da uslovi prisutni u usnoj duplji mogu značajno uticati na njihovo ponašanje, pa *in vitro* dobijeni podaci često ne opisuju realne probleme. Mnogi biološki faktori, kao što su prisustvo organskih kiselina i enzima (produkti mikroorganizama ili poreklom iz hrane), kao i individualne osobenosti (vrsta hrane, pića, sastav pljuvačke) značajno utiču na intraoralnu koroziju legura [152]. Prema tome, da bi se uslovi ispitivanja *in vitro* što više približili uslovima ispitivanja *in vivo* koriste se različiti tipovi složenih rastvora za simulaciju bioloških fluida. Medijumi koji se najčešće koriste su Ringerov rastvor (*eng.* Ringer's solution), fosfatni puferski slani rastvor (*eng.* Phosphate



Buffered Saline, PBS), Hank-ov rastvor (*eng.* Hank's solution), Eagle-ov MEM rastvor (*eng.* Eagle's minimum essential medium, MEM) i α -MEM, čiji su sastavi prikazani u tabeli **T.5.2** [29, 153].

Tabela T.5.2 Sastav rastvora koji se koriste za eksperimentalnu simulaciju biofluida [$g \cdot l^{-1}$] [29, 153].

| Ringer-ov rastvor (Ringer's solution) | |
|---|--------|
| NaCl | 6,5 |
| KCl | 0,14 |
| CaCl ₂ | 0,12 |
| NaHCO ₃ | 0,2 |
| glukoza | 0,4 |
| Fosfatni puferski slani rastvor (Phosphate buffered saline, PBS) | |
| NaCl | 8,0 |
| KCl | 0,2 |
| Na ₂ HPO ₄ | 1,15 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,2 |
| Hank-ov rastvor (Hank's solution) | |
| NaCl | 8,0 |
| KCl | 0,4 |
| CaCl ₂ | 0,14 |
| NaHCO ₃ | 0,35 |
| Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O | 0,06 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,06 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0,2 |
| glukoza | 1,0 |
| Eagl-ov MEM rastvor (Eagle's minimum essential medium, MEM) | |
| NaCl | 6,8 |
| KCl | 0,4 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 0,2649 |
| NaHCO ₃ | 2,0 |
| NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O | 0,14 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0,2 |
| crveni fenol | 0,017 |
| hlorin hlorid | 0,001 |
| L-glutamin | 0,2923 |
| L-cistein | 0,024 |
| druge aminokiseline, vitamini, itd. | 1,5423 |
| α-MEM | |
| Eagl-ov MEM rastvor kome je dodato osam aminokiselina, četiri vitamina i piruvična kiselina | |
| Veštačka pljuvačka (Fusayama Meyer artificial saliva) | |
| NaCl | 0,4 |
| KCl | 0,4 |
| CaCl ₂ x 2H ₂ O | 0,906 |
| NaH ₂ PO ₄ x 2H ₂ O | 0,690 |
| Na ₂ S x 9H ₂ O | 0,005 |
| Urea | 1,0 |

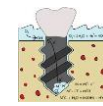


Izbor odgovarajućeg medijuma za *in vitro* ispitivanja u cilju što bolje simulacije fizioloških uslova zavisi prvenstveno od namene ispitivanog materijala. Ringer-ov rastvor ne sadrži fosfatni jon, u PBS(-) rastvoru nema Ca^{2+} i Mg^{2+} , dok je sastav Hank-ovog rastvora sličan ekstracelularnim fluidima. Medijum rastvor ćelijskih kultura (MEM), koji sadrži veliki broj amino kiselina, često se koristi kao biološki rastvor za ispitivanje korozione postojanosti metalnih materijala. MEM rastvor se najčešće koristi kao dodatak serumu napravljenom od embrionalnih ćelija govečeta (*eng.* fetal bovine serum, FBS) sa ciljem ispitivanja uticaja proteina na proces korozije. Rastvor koji simulira biofluide (*eng.* simulated body fluid, SBF) se koristi za simulaciju humane plazme, tabela T.5.3 [154]. Okazaki i Gotoh [7] su objavili zanimljive rezultate ispitivanja otpuštanja jona iz dentalnih materijala u prisustvu osam različitih rastvora, pa su u slučaju titana pokazali da je otpuštanje jona najveće u 0,01% HCl i 1% rastvoru mlečne kiseline, dok je zanemarljivo malo u PBS(-), 0,9% NaCl i rastvoru veštačke pljuvačke. Na sličan način, Cortizo i saradnici [155] su došli do istog zaključka da sastav medijuma koji se koristi za simulaciju biofluida ima izrazit uticaj na otpuštanje metalnih jona i degradaciju metalnog materijala. Pored toga, Okazaki i Gotoh [7] su upoređivanjem materijala na bazi titana, došli do zaključka da je u rastvoru veštačke pljuvačke ukupna količina otpuštenih jona iz Ti-15Zr-4Nb-4Ta legure manja u poređenju sa Ti-6Al-4V i Ti-6Al-7Nb legurama.

Tabela T.5.3 Koncentracija jona u sastavu SBF rastvora i humane plazme [mM] [154].

| Jon | SBF | Plazma |
|---------------------|-------|--------|
| Na^+ | 142 | 142 |
| K^+ | 5,0 | 5,0 |
| Mg^{2+} | 1,5 | 1,5 |
| Ca^{2+} | 2,5 | 2,5 |
| Cl^- | 147,8 | 103 |
| HCO_3^- | 4,2 | 4,2 |
| HPO_4^{2-} | 1,0 | 1,0 |
| SO_4^{2-} | 0,5 | 0,5 |

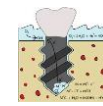
Za laboratorijska ispitivanja dentalnih implanata u najvećoj meri se koristi rastvor veštačke pljuvačke (*eng.* artificial saliva) [156]. Sintetički medijumi, kao što je veštačka pljuvačka, često se primenjuju u *in vitro* ispitivanjima zbog veće dostupnosti i hemijske stabilnosti u odnosu na prirodne medijume, kao što je



humana pljuvačka [157]. Medijumi mogu da se koriste samostalno ili u kombinaciji sa glukozom, hloridnim ili fluoridnim jonima [138, 158]. U poslednje vreme većina preparata za oralnu higijenu, kao što su tečnosti za ispiranje usta, paste za zube i profilaktički agensi sadrži fluoride u cilju prevencije nastanka karijesa pa je ispitivanje ponašanja dentalnih materijala u rastvorima koji sadrže fluoride od izuzetnog značaja. Kinani i Chtaini [159] su u svojim studijama pokazali da je stepen korozije titana u pljuvački pH vrednosti 2,0 značajno niži od stepena korozije u istom rastvoru koji sadrži fluoride i zaključili da prisustvo fluorida smanjuje korozionu otpornost titana. U cilju što bolje simulacije uslova u usnoj duplji, koriste se i rastvori koji sadrže mešavinu organskih kiselina prisutnih u humanoj pljuvački, pa su Hirayama i saradnici [131] pokazali da je otpuštanje jona titana mnogo veće u rastvoru koji predstavlja kombinaciju organskih kiselina u poređenju sa otpuštanjem jona u rastvoru mlečne kiseline. Navedeni rezultati pokazuju da je rastvaranje metalnih materijala značajno ubrzano kada su u rastvoru prisutni određeni organski molekuli. Takođe, Wataha i saradnici [160] su uočili da se u slanom rastvoru sa proteinima otpušta više jona iz dentalnih legura nego u čistom slanom rastvoru bez proteina, ali ono što je iznenađujuće je rezultat da se manje jona otpušta iz svih ispitivanih legura u MEM rastvoru koji sadrži ekvivalentnu količinu ukupnih proteina kao i slani rastvor sa proteinima korišćen u istraživanjima. Ovaj paradoks jasno pokazuje da druge molekulske vrste imaju značajnu ulogu u koroziji dentalnih legura i da je od izuzetnog značaja da se za svaku leguru ponaosob ispita otpornost na koroziju u tačno definisanom medijumu, jer je očigledno odgovor svake legure jedinstven.

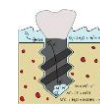
5.4.1.2. pH vrednost medijuma

pH vrednost sredine ima veliki uticaj na koncentraciju otpuštenih jona, pa se ispitivanja metalnih implantnih materijala često vrše u medijumima različite pH vrednosti. Kako biološki fluidi predstavljaju puferske sisteme, promene pH vrednosti su neznatne i u literaturi se često mogu pronaći navodi da se pH vrednost većine telesnih tečnosti kreće u rasponu 7,0-7,4 [154]. Humana pljuvačka je slabo kisela (pH vrednost je između 5,5 i 7,5) i sastoji se od vode (95-98 mas.%), enzima, neorganskih soli, lipida i glikoproteina, tzv. mucina. MG1, mucin velike



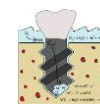
molekulske mase sastavljen od subjedinica koje su povezane disulfidima, ima sposobnost adheriranja na oralni epitel i formira sekundarnu penetracionu barijeru, tzv. mukozni sloj [161]. U retkim slučajevima poremećaja i disbalansa organizma, uzimanja kisele hrane ili zbog metaboličke aktivnosti bakterija prisutnih u zubnom plaku, usled zapaljenja ili patoloških poremećaja usne duplje, može doći do drastičnog sniženja pH vrednosti. Upravo zbog toga je predloženo standardno ispitivanje korozije dentalnih legura na pH vrednostima od 2,3 [151], ali biološko ispitivanje takvog ekstrakta predstavlja problem jer niska pH vrednost ekstrakta nije kompatibilna sa fiziološkim uslovima biološkog test sistema [125]. Bitno je naglasiti da je oralna sredina konstantno izložena promenama pH vrednosti, ali ekstremno smanjenje pH vrednosti (između 2,0 i 3,0) se veoma retko javlja i to u slučajevima patoloških poremećaja u usnoj duplji. Redovna oralna higijena (posebno posle obroka) dovodi do prevencije širenja bakterijske infekcije i disbalansa pH vrednosti u usnoj duplji. Kod zdrave populacije, niske pH vrednosti ne mogu da se održe duži vremenski period usled puferskog efekta pljuvačke [131], pa je zaključeno da ne postoji potreba za korozionim ispitivanjima dentalnih implantnih materijala na pH vrednostima nižim od 4,0 [7]. Pored toga, katodne reakcije, kao što je redukcija kiseonika iz rastvora ili redukcija hidridnih jona, dovode do povećanja pH vrednosti sa vremenom. Sa povećanjem pH vrednosti sredine uglavnom dolazi do smanjenja koncentracije otpuštenih jona iz implanata, tako da ispitivanja na pH vrednostima iznad 9,0 nisu od velikog značaja [7, 137].

Kao što se može primetiti, česte promene pH vrednosti su karakteristične za oralnu sredinu, pa se najčešće ispitivanje dentalnih implanata vrši u sredinama različitog stepena kiselosti, pri čemu se pH vrednost uglavnom varira u opsegu 4,0-9,0 [138, 162, 163]. S obzirom na to da su biološki fluidi puferski sistemi, najbolje je koristiti puferske rastvore kao medijume. Korišćenje pufera može da spreči aciditet (veliko i naglo smanjenje pH vrednosti), koji nastaje hidrolizom metalnih jona, kada je rastvorljivost proizvoda korozije smanjena i kada dolazi do taloženja čvrstih proizvoda korozije. Osim toga, neki rastvori koji sadrže organske supstance mogu da proizvedu nutrijente koji pogoduju bakterijskom rastu, pa je poželjno izvršiti sterilizaciju ili dodati baktericidno sredstvo [164].



5.4.1.3. *Vreme potapanja*

Vreme potapanja (vreme ekspozicije, vreme umerzije) je vreme izlaganja implantnog materijala medijumu koji se koristi za simulaciju biofluida i ima veliki uticaj na otpuštanje metalnih jona iz metalnih implantnih materijala. Kratko vreme potapanja (nekoliko sati do nekoliko dana) se koristi pri upoređivanju koncentracije otpuštenih jona iz više različitih implantnih materijala. Srednje vreme potapanja (nekoliko dana do nekoliko nedelja) je vreme potrebno da se uspostavi ravnoteža i tada su rezultati upoređivanja tačniji. Dugo vreme potapanja (nekoliko nedelja do nekoliko meseci) može da dovede do narušavanja pasivnog sloja formiranog na površini implantnog materijala i glavni problem koji se javlja kod ovakvih ispitivanja je pojava korozije u pukotini ili tačkaste korozije. Tako su npr. Wataha i Lockwood [165] ispitivali otpuštanje metalnih jona iz dentalnih legura u trajanju od 10 meseci i pokazali da se posle određenog vremena otpušta skoro konstantna količina jona i da je od značaja da ona bude ispod maksimalno dozvoljenog dnevnog unosa, a da efekat otpuštenih jona i predviđanje biokompatibilnosti zavise od vrste i koncentracije otpuštenih elemenata iz legura. Pored prethodno pomenute pH vrednosti najvažniji uticajni faktor za ispitivanje otpuštanja metalnih jona je oksidaciona moć rastvora. Za duga vremena potapanja neophodno je praćenje redoks potencijala elektrolita i rastvor treba da se zameni ili prilagodi nastalim uslovima kada se dostigne određena vrednost potencijala. Simulacija uslova u usnoj duplji može da se izvede i kontinuiranim protokom veštačke pljuvačke, uz povremenu promenu pH vrednosti, pa su tako Lopez-Alias i saradnici [166] ispitivali otpuštanje jona iz dentalnih legura u dinamičkom sistemu pri čemu su tri obroka dnevno simulirali smanjenjem pH vrednosti i povećanjem saliniteta rastvora u trajanju od po 30 minuta tri puta dnevno tokom 15 dana. Međutim, čak i razmatranjem najgoreg slučaja koji je uzet u obzir a to je da pacijent ima 32 zuba pokrivena metalnim nadoknadama, što je oko 100 cm² površine u kontaktu sa pljuvačkom u usnoj duplji, pokazano je da je količina otpuštenih jona daleko ispod dozvoljenog dnevnog unosa preporučenog za svaki jon posebno. Nasuprot ovom istraživanju, Rinčić i saradnici [141] su pokazali da koncentracije



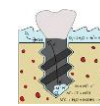
otpuštenih Ni i Cr jona iz Co-Cr-Mo legure prelaze dozvoljeni dnevni unos, ali ne prelaze granicu toksičnosti.

Tokom određenih ispitivanja je mešanje poželjno kako bi se održavala određena temperatura i koncentracija rastvora. Međutim, energično mešanje treba izbegavati jer može da dovede do raspadanja uzorka i povećanja površine koja je u kontaktu sa medijumom, pri čemu se ne dobijaju tačni rezultati. Iz tih razloga, ispitivanje otpuštanja jona se najčešće izvodi pod statičkim uslovima [136, 147, 167].

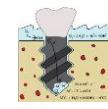
Treba napomenuti da se otpuštanje jona iz metala koji je u kontaktu sa biofluidima intenzivira vremenom sve dok se ne postigne adsorpciono-desorpciona ravnoteža [133]. Međutim, određivanje koncentracije otpuštenih metalnih elemenata posle dugog vremena potapanja ima osnova, jer istraživanja pokazuju da sa povećanjem vremena izloženosti otpuštenim metalnim elementima dolazi do povećanja efekta toksičnosti [165]. Zapravo, klinički, ovo znači da posle dugog vremena, metalni joni mogu da ispolje negativne biološke efekte kada su prisutni i u veoma malim koncentracijama.

5.4.2. Elektrohemijska ispitivanja

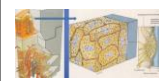
Za ispitivanje korozije metalnih implantnih materijala pored testova potapanja mogu da se koriste i elektrohemijski testovi koji se izvode u rastvorima koji simuliraju uslove u ljudskom organizmu na sobnoj temperaturi od 25°C ili na telesnoj temperaturi od 37°C [29, 139, 168]. Kao i u testovima potapanja, i za izvođenje elektrohemijskih ispitivanja mogu da se koriste različiti fluidi, a izbor fluida za simulaciju uslova u ljudskom organizmu zavisi od nameravane primene biomaterijala. Elektrohemijske metode koje se najčešće koriste za procenu podložnosti metalnih implantnih materijala koroziji su merenje potencijala otvorenog kola, E_{ok} , (*eng.* Open Circuit Potential, OCP), spektroskopija elektrohemijske impedancije (*eng.* Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) i potenciodinamička polarizacija [169, 170]. Istraživanja sprovedena od strane Speck i Fracker [171] davne 1980. godine su pokazala da se titan i legure na bazi titana odlikuju većim stepenom korozione postojanosti jer pokazuju niže struje korozije i viši kritični tzv. „breakdown“ potencijal u poređenju sa Co-Cr legurama i



nerđajućim čelikom. Kadowaki i saradnici [172] su ispitivali koroziono ponašanje CPTi-2, CPTi-3 i CPTi-4 primenom E_{ok} , EIS i potenciodinamičke polarizacije i pokazali da sva tri materijala pokazuju pasivno ponašanje u rastvoru veštačke pljuvačke, ali da postoje razlike u stepenu korozione otpornosti. Naime, CPTi-4 je pokazao za red veličine nižu gustinu struje korozije od CPTi-3 i za dva reda veličine nižu gustinu struje korozije od CPTi-2, odnosno stepen korozije je iznosio 0,5; 5 i 43 μm godišnje u nizu CPTi-4, CPTi-3 i CPTi-2. Takođe, Revathi i saradnici [173] su uporedili koroziono ponašanje CPTi i Ti-6Al-4V legure sa drugim legurama titana kao što su Ti-13Nb-13Zr, Ti-15V-3Cr-3Al-3Sn, Ti-13Nb-20Zr i Ti-20Nb-20Zr, i dobili izuzetno male vrednosti gustine struje korozije (nekoliko $\text{nA}\cdot\text{cm}^{-2}$) za sve ispitivane materijale što ukazuje na tipično pasivno ponašanje ovih materijala u rastvoru veštačke pljuvačke i na formiranje dvoslojnog površinskog oksidnog filma. Na sličan način Choubey i saradnici [174] su ispitivali elektrohemijsko ponašanje titana i njegovih legura u Hank-ovom rastvoru i potvrdili da svi ispitivani materijali pokazuju stabilno pasivno polarizaciono ponašanje i niži stepen korozije u poređenju sa 316L nerđajućim čelikom. Oni su kao veoma bitan zaključak svog istraživanja istakli da zamena V u leguri Ti-6Al-4V sa Nb nema uticaj vredan pažnje na elektrohemijsko ponašanje materijala i da legure Ti-6Al-4V i Ti-6Al-4Nb pokazuju sličan stepen korozije i to 0,0013 mm/god i 0,0040 mm/god, respektivno. Takođe, u studiji su dokazali da Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje za red veličine nižu gustinu struje korozije u poređenju sa ostalim legurama titana zbog formiranja zaštitnog površinskog filma koji pored TiO_2 sadrži i Nb_2O_3 i ZrO_2 . Rezultati EIS studija, nezavisno sprovedenih od strane više autora, su pokazali da odmah nakon potapanja legura metala u rastvor elektrolita dolazi do formiranja jednoslojnog stabilnog pasivnog oksidnog filma na površini titana i njegovih legura, pri čemu nakon određenog vremena može da se utvrdi postojanje dvoslojnog oksidnog filma koji se sastoji od unutrašnjeg (barijernog) i spoljašnjeg (poroznog) sloja [168]. Ovakav oksidni film omogućava korozionu otpornost pod statičnim uslovima pri čemu titan ne podleže tačkastoj koroziji, kao ni koroziji u pukotini. Ukoliko se pasivni film na površini titana ošteti veoma brzo dolazi do repasivacije u cilju zaštite materijala [139]. Potenciodinamička polarizaciona metoda i merenje potencijala otvorenog kola su jednostavne i veoma dobre



metode za ispitivanje korozije implantnih materijala, čak i kada su površine metalnih materijala prekrivene keramičkim materijalima, kao što je hidroksiapatit (HAP) [175]. Pored izbora medijuma za elektrohemijska ispitivanja, bitno je definisati i vreme potapanja, jer su Al Otaibi i saradnici [169] u svojim studijama pokazali da se intenzitet korozije povećava sa produženjem vremena potapanja materijala u medijum.



6. BOKOMPATIBILNOST METALNIH MATERIJALA

Biokompatibilnost je opisni izraz kojim se označava sposobnost materijala da se ponaša na odgovarajući način unutar organizma u koji se ugrađuje, odnosno da obavlja određenu zahtevanu funkciju u ljudskom organizmu ne izazivajući neželjeni odgovor tkiva-domaćina [37, 176]. Wintermantel i saradnici [177] su proširili ovu definiciju naglašavajući da postoji razlika između površinske i strukturalne kompatibilnosti implanata. Površinska kompatibilnost označava hemijsku, biološku i fizičku pogodnost površine implanta za primenu kod tkiva-domaćina, dok strukturalna kompatibilnost predstavlja optimalnu adaptaciju implanta mehaničkom ponašanju tkiva-domaćina. Prema tome, strukturalna kompatibilnost je sa jedne strane usko povezana sa mehaničkim karakteristikama implantnog materijala, kao što su modul elastičnosti i čvrstoća, i sa druge strane sa projektovanim oblikom implanta i optimalnim prenosom opterećenja duž linije razdvajanja implanta i tkiva.

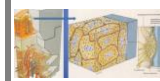
Osnovni zahtev pri korišćenju materijala u biomedicini je dokazivanje njihove neškodljivosti odnosno dokazivanje da materijal ne izaziva lokalnu ili sistemsku citotoksičnost, iritaciju i alergiju, da nije mutagen i kancerogen. Nijedan materijal nije potpuno biološki inertan, pa se često u literaturi koristi termin „stepen biokompatibilnosti“. Prilikom kontakta materijala sa živim tkivima dolazi do brojnih kompleksnih interakcija koje se zajedničkim imenom nazivaju biološki odgovor na primenjeni materijal. Tip biološkog odgovora zavisi od:

- ✓ vrste materijala,
- ✓ dužine kontakta materijala sa tkivom,
- ✓ organizma domaćina u koji se materijal ugrađuje i
- ✓ funkcije materijala.

Vremenom se menjaju i materijal i domaćin, zbog čega se biokompatibilnost posmatra kao dinamičan proces [178].

6.1. PODELA MATERIJALA ZA IMPLANTE PREMA BOKOMPATIBILNOSTI

Prema poreklu, svi materijali za implantaciju i transplantaciju mogu se podeliti u četiri grupe: autologni, homologni, heterologni i aloplastični materijali.



Autologni, homologni i heterologni materijali indikovani su za transplantaciju, dok su aloplastični materijali indikovani za implantaciju (tabela **T.6.1**) [179].

Tabela T.6.1 Podela materijala za transplantaciju i implantaciju prema poreklu [179].

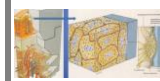
| Grupa materijala | Poreklo | Primena |
|------------------|---------------------------------------|---|
| Autologni | Iz istog organizma | Transplantacija impaktiranih zuba, reimplantacija zuba, koštana transplantacija |
| Homologni | Iz drugog organizma | Transplantacija iz banke koštanih implanata |
| Heterologni | Iz organizma druge vrste | Transplantacija devitalizovane i deproteinizovane kosti |
| Aloplastični | Veštački materijali: metali, keramika | Implantacija gotovih elemenata od veštačkih materijala |

U oralnoj implantologiji primenjuju se isključivo aloplastični (veštački sintetizovani) materijali, koje je Osborn klasifikovao u četiri grupe prema stepenu njihove biokompatibilnosti na biotolerantne, bioinertne, bioadhezivne i bioreaktivne materijale (tabela **T.6.2**) [180]. Prednosti aloplastičnih materijala su u njihovim gotovo neograničenim mogućnostima, pri čemu se ističe povoljan način rukovanja (lako se ugrađuju i uklanjaju), a mogu im se poboljšati fizičke i hemijske karakteristike. Glavni nedostatak ovih materijala je biokompatibilnost, jer tkivo na njih reaguje kao na strano telo. Histološka istraživanja su pokazala da aloplastični materijali na mestu implantacije mogu izazvati različite specifične lokalne reakcije alveolarne kosti.

Tabela T.6.2 Tipovi oseointegracije uslovljeni stepenom biokompatibilnosti materijala za dentalne implante [180].

| Grupa aloplastičnih materijala | Reakcija kosti oko implanta | Biomaterijal |
|--------------------------------|---------------------------------------|---|
| Biotolerantni | Udaljena oseointegracija | Polimetilmetakrilat (PMMA), nerđajući čelik, Au legure, Co-Cr-Mo legure |
| Bioinertni | Kontaktna oseointegracija | Ugljenični materijali, alumina |
| Bioadhezivni | Adhezivna oseointegracija | Titan-oksidi, tantal-oksidi |
| Bioreaktivni | Interaktivna, koštana oseointegracija | Biostaklo, tetra i trikalcijum fosfat, hidroksiapatit (HAP) |

Biotolerantne materijale kost "toleriše", ali na njih reaguje kao na strana tela inkapsulirajući ih, a međuprostor ispunjava slojem vezivnog tkiva.



Na bioinertne materijale kost ne reaguje, jer ih ne prepoznaje kao strano telo. U periodu zarastanja dolazi do stvaranja koštanog kalusa koji popunjava defekt tkiva između implanta i kosti, ostvarujući intiman kontakt sa površinom implanta, bez uspostavljanja hemijske veze.

Bioadhezivni materijali indukuju specifičnu biološku reakciju kosti tokom koje stvoreni kalus ostvaruje hemijsku vezu na kristalnom i molekularnom nivou sa površinom materijala.

Bioreaktivni materijali ne samo da uspostavljaju hemijsku vezu, već i razmenjuju jone sa okolnim koštanim tkivom. Bioreaktivni materijali osteokonduktivnim potencijalom indukuju direktno formiranje koštanog tkiva na površini implanata u implantnopedalnom pravcu (od alveolarne kosti ka implantu) ili implantofugalnom pravcu (od implanta ka alveolarnoj kosti).

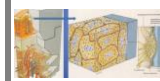
Ugradnja implanata, bez obzira na tip biomaterijala, umesto oseintegracije može rezultirati vezivno-tkivnom inkapsulacijom u slučajevima kada je faza zarastanja ometana mikro pomeranjima na mestu implantacije ili ekscesivnim silama pri nefiziološkom opterećenju implanata protetskom nadoknadom. Materijali na bazi titana pokazuju najbolju biokompatibilnost među metalnim biomaterijalima (tabela T.6.3) [179].

Tabela T.6.3 Biokompatibilnost različitih biomaterijala prema vrsti osteogeneze [179].

| Tip osteogeneze | Biomaterijali | Vrsta materijala |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------|
| Interventna osteogeneza | Nerđajući čelik, Vitallium®, PMMA | Biotolerantni |
| Kontaktna osteogeneza | Ti i legure Ti, Zr | Bioinertni |
| Osteogeneza stvaranjem veze | Biostaklo, trikalcijum fosfat, HAP | Bioaktivni |

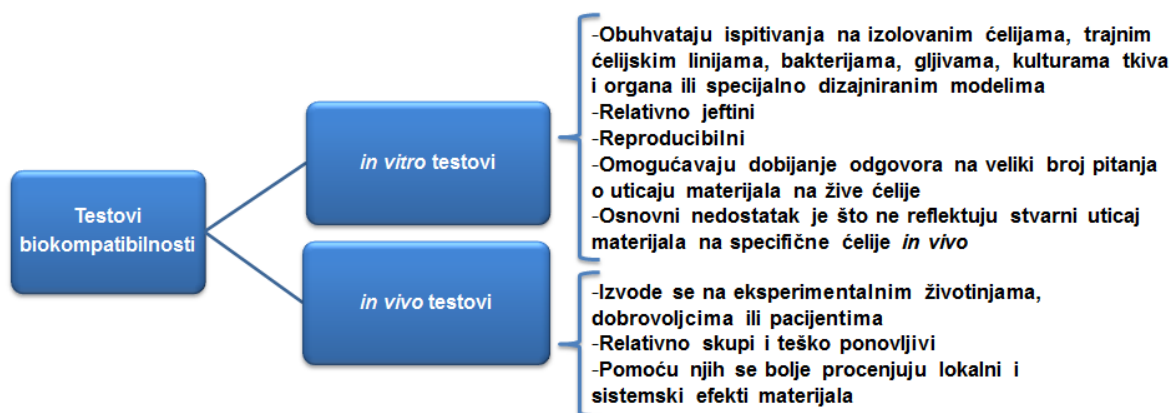
6.2. ISPITIVANJE BIOKOMPATIBILNOSTI

Biokompatibilnost se može odrediti merenjem broja, stepena rasta (ćelijski rast), metaboličke funkcije ili neke druge ćelijske funkcije onih ćelija koje su u kontaktu sa implantnim materijalom [181]. Cilj uvođenja standarda u oblasti ispitivanja biokompatibilnosti je povećanje mogućnosti ponavljanja testova (reproducibilnost), kao i lakše poređenje rezultata dobijenih u različitim laboratorijama pod identičnim uslovima. U Srbiji su prihvaćeni i trenutno su na

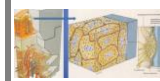


snazi standardi Evropske unije za medicinska sredstva (ISO 10993) i medicinska sredstva u stomatologiji (ISO 7405) [182, 183]. Kada su u pitanju stomatološki materijali, standardima se propisuje paleta testova za ispitivanje biokompatibilnosti, u zavisnosti od grupe materijala i njihove primene. Osim toga, koristi se veliki broj nestandardnih testova koji su od izuzetne koristi za naučna istraživanja u ovoj oblasti.

Osnovni zadatak testova za ispitivanje biokompatibilnosti dentalnih implantnih materijala je pružanje jasne slike u vezi elemenata koji su citotoksični sa ciljem odstranjivanja svakog takvog elementa koji bi mogao da dovede do povrede ili oštećenja tkiva usne duplje. Metalni biomaterijali koji se koriste za izradu implanata u stomatologiji su nakon ugradnje u dugotrajnom intimnom kontaktu sa epitelnim ćelijama i vezivnim i koštanim tkivom, i ne mogu jednostavno bez hirurške intervencije da se uklone, pa se intenzivno podvrgavaju ispitivanjima biokompatibilnosti. Međutim, pojam biokompatibilnosti je do unazad 15 godina bio nedovoljno objašnjen, što je predstavljalo gotovo nerešiv problem, posebno sa stanovišta stručnjaka koji su u praksi vršili izbor materijala i njegovu implementaciju. Takođe, za mnoge materijale koji se koriste u biomedicini nisu dovoljno poznate biološke karakteristike zbog rapidnog razvoja materijala, tako da ispitivanje biokompatibilnosti ima izuzetan značaj pri izboru materijala, jer se studije biokompatibilnosti neizostavno analiziraju [149]. Testovi biokompatibilnosti se mogu podeliti na *in vitro* i *in vivo* testove, čije su prednosti i nedostaci shematski prikazani na slici 6.1 [178, 184-186].



Slika 6.1 Testovi biokompatibilnosti [178, 184-186].



In vitro testovi biokompatibilnosti obavljaju se van živog organizma sa ciljem da simuliraju biološku reakciju tkiva koje dolazi u kontakt sa ispitivanim materijalom [184, 187]. Opis metoda koje se koriste za testiranje citotoksičnosti materijala u stomatologiji su prikazane u tabeli **T.6.4** [188, 189].

Ispitivani biološki sistemi mogu biti: kulture tkiva i organa, ćelijske kulture i organele. Izbor testova zavisi od dužine izlaganja materijala tkivnim kulturama (kontakt do 24 časa, produženi kontakt od 24 časa do 30 dana ili trajni kontakt preko 30 dana) [183]. Za procenu biokompatibilnosti dentalnih materijala koristi se više testova koji se uslovno mogu podeliti na tri grupe [179]. Inicijalni testovi obuhvataju ispitivanja citotoksičnosti *in vitro*, ispitivanja sistemske toksičnosti i testove mutagenosti. Oni su istovremeno „skrining“ testovi, koji u slučaju zadovoljavajućih rezultata iniciraju sekundarne testove: testove senzibilizacije, implantacione testove i testove iritacije. Treća grupa obuhvata specifične testove upotrebe (*eng.* usage tests). U ispitivanjima biokompatibilnosti dentalnih materijala koriste se testovi propisani standardom i to: *in vitro* (na kulturama ćelija), *in vivo* (na eksperimentalnim životinjama) i specifični testovi upotrebe (klinička ispitivanja materijala), ali se često koriste i nestandardni testovi, kao što je npr. MTT test [190]. Međutim, kako je razvoj metalnih biomaterijala dinamična oblast, nije praktično testiranje svih novih materijala kroz navedene faze jer su ispitivanja skupa, dugotrajna i izazivaju etičke probleme. Upravo zbog toga je izvođenje inicijalnih *in vitro* testova od ključnog značaja i samo materijali koji se procene kao netoksični i biokompatibilni u ovoj fazi prelaze u naredne faze testiranja, odnosno podvrgavaju se *in vivo* testovima i kliničkim ispitivanjima.

Pre samog testiranja neophodna je adekvatna priprema test uzoraka u dovoljno velikom broju identičnih kopija, kao i odgovarajućih negativnih i pozitivnih kontrola. Ovo je jedan od najznačajnijih koraka u testiranju biokompatibilnosti koji zahteva dobro poznavanje fizičko-hemijskih svojstava ispitivanog materijala i karakteristika samog testa. ISO standardi jasno propisuju metodologiju pripreme čvrstih, tečnih i gasovitih uzoraka, kao i njihovih ekstrakata i degradacionih proizvoda, za različite tipove stomatoloških materijala [182, 183].

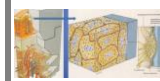
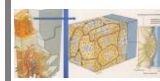


Tabela T.6.4 Metode za testiranje citotoksičnosti materijala u stomatologiji [188, 189].

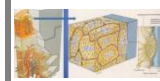
| Vrsta testa | Biološki test | Mehanizam | Prednosti | Nedostaci | |
|--------------------------------------|--|--|---|--|--------------------------------|
| Testovi vijabilnosti i proliferacije | Kolorimetrijski testovi | MTT | Promene aktivnosti mitohondrijalne dehidrogenaze | Brz, jeftin | Toksičan za ćelije |
| | | LDH | Promene aktivnosti laktat dehidrogenaze | Jednostavan, pruža dodatne informacije kada se koristi u kombinaciji sa drugim testovima | Mali opseg, mala osetljivost |
| | | Alamar plavo | Hemijska redukcija hranljivog medijuma | Tačan i netoksičan fluorometrijski/kolorimetrijski metod | Skup |
| | | Neutral crveno (eng. neutral red, NR) | Oštećenje ćelijske membrane (bojenje vitalnih ćelija) | Netoksičan | Manje osetljiv od Alamar testa |
| | | Propidijum jodid | Oštećenje ćelijske membrane (bojenje mrtvih ćelija) | Moguće je odrediti broj mrtvih ćelija | Manje osetljiv od Alamar testa |
| | | Tripan plavo (eng. trypan blue, TB) | Oštećenje ćelijske membrane (bojenje mrtvih ćelija) | Moguće je odrediti broj mrtvih ćelija | Manje osetljiv od Alamar testa |
| | Testovi inkorporacije | BrdU | Inkorporacija u novosintetisanu DNK | Jednostavan, brz i jeftin | Mala osetljivost |
| | | H-timidin | Inkorporacija u novosintetisanu DNK | Brz i osetljiv | Radioaktivan |
| | Merenja količine intracelularnih supstanci | Merenje sadržaja proteina | Proliferacija i specifična bojenja | Jednostavan, brz i precizan | Nema |
| | | Merenje sadržaja DNK | Proliferacija i specifična bojenja | Nije radioaktivan, osetljiv i robustan | Nema |
| | Ćelijske funkcije | Markeri inflamacije | Merenje količine protein indikatora inflamacije | Klinički relevantan | Skup i dugo traje |
| | | Determinacija glutationa (GSH) | Indikator toksičnosti | Pružila dodatne informacije o toksičnosti materijala | Skup i sofisticiran |
| HSP | | Indikator ćelijskog stresa | Pružila dodatne informacije o toksičnosti materijala | Skup i sofisticiran | |
| Apoptoza | | Specifični marker apoptotične odnosno nekrotične smrti | Osetljiv i specifičan za apoptotične ćelije | Skup i zahteva specifičnu opremu | |



In vitro testovi citotoksičnosti predstavljaju prvi korak za procenu biokompatibilnosti dentalnih materijala. Prednosti *in vitro* testova su brzina, jednostavnost, ekonomska isplativost, reproducibilnost (imaju mogućnost ponavljanja), odvijaju se u kontrolisanim uslovima i manje su „kontroverzni“ u poređenju sa testovima koji se izvode na životinjama i humanoj populaciji. Nedostaci *in vitro* testova se prvenstveno ogledaju u tome sa koliko uspešnosti se mogu simulirati *in vivo* uslovi i dovodi se u pitanje njihova klinička relevantnost [189]. Opšti princip ovih testova je ispitivanje biokompatibilnosti stomatoloških materijala na ćelijama koje se gaje u kulturi kao adherentne ili neadherentne ćelije. U testovima citotoksičnosti reakcije ćelija na prisustvo materijala mogu da se opišu morfološki ili kvantitativno na osnovu vijabilnosti ćelija, proliferacije i ćelijske funkcije kao što je apoptoza, adhezija, migracija i sekrecija određenih supstanci. Danas primenjivani testovi citotoksičnosti prate standardne uslove, mada se ne smatraju idealnim i stalno se dopunjuju i revidiraju, pre svega zbog uvođenja savremenih tehnologija.

6.2.1. Ćelijske kulture

Najčešće korišćene ćelijske kulture za ispitivanje citotoksičnosti su fibroblastne ćelijske linije mišjeg porekla, kao što su L-929 i 3T3 i humani diploidni fibroblasti, kao što su WI-38 i MRC-5. Korišćenje fibroblasta u primarnim testovima citotoksičnosti propisano je ISO standardima [182, 183]. Citotoksičnost se prema ISO 7405 standardu određuje pomoću mišjih fibroblasta L-929, dok se prema ISO 10993-5 određuje pomoću humanih fibroblasta MRC-5 ćelija. Osim ovih ćelija, u upotrebi su i druge ćelijske linije iz banaka ćelijskih izvora, jasno definisanih fenotipskih i funkcionalnih svojstava (makrofagne, osteoblastne, osteoklastne, odontoblastne, epitelne i tumorske ćelijske linije animalnog i humanog porekla) [71, 155, 191-193]. Mnogi autori su procenjivali citotoksičnost titana i njegovih legura korišćenjem različitih tipova ćelija: osteosarkoma ćelije pacova (UMR 106) [193], embrionske fibroblastne ćelije miševa (BALB/3T3) [194], humane ćelije osteoblasta (Saos-2) [69], jajne ćelije kineskog hrčka (CHO) [75, 195], fibroblaste iz bubrežnih ćelija afričkog zelenog majmuna (Vero p240 i p248) [196], humane skvamozne ćelije kancera (SCC 9-66) [197], mačje ćelije fibroblasta (AH-927)

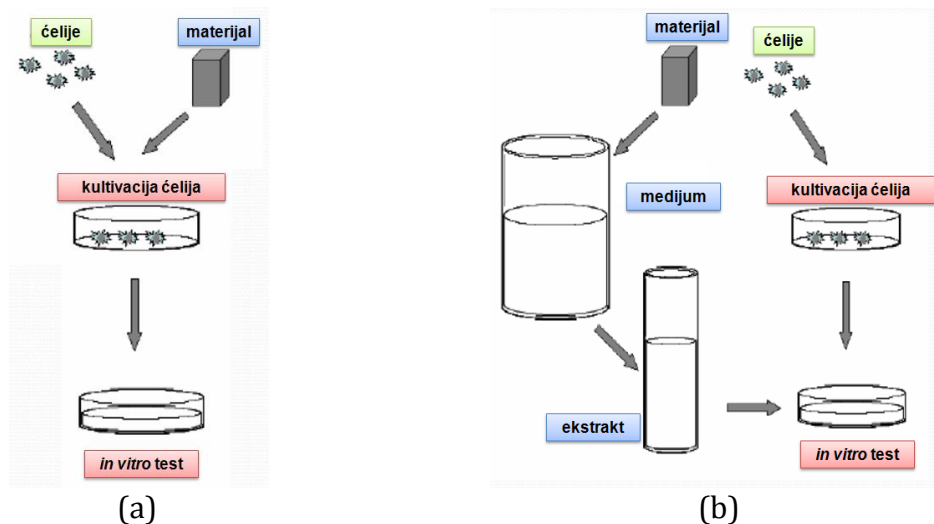
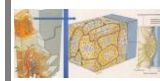


[198], itd. Transformisane ćelijske linije ne reflektuju uvek odgovor ćelija koje čine zube i okolno tkivo, pa se u istraživanjima često koriste i primarne kulture fibroblasta dobijenih iz gingive ili pulpe zuba, ćelije oralnog epitela, monociti/makrofagi ili limfociti dobijeni iz periferne krvi [189, 199-201]. Izbor ćelija zavisi i od očekivanog biološkog odgovora nakon testiranja. Ako se materijal nalazi u čvrstom agregatnom stanju onda najjednostavniji test uključuje ispitivanje direktnog citotoksičnog efekta materijala u kulturi fibroblasta. Ako se iz materijala oslobađaju potencijalno toksične supstance ili je materijal u tečnom stanju, onda je za testiranje bolje korišćenje difuzionih testova ili testova zasnovanih na redukciji tetrazolijumovih soli. Tokom isitivanja ćelijska kultura se održava na pH vrednosti od 7,2 do 7,4.

6.2.2. Kontakt između ćelija i materijala

Adekvatan kontakt između ćelija i ispitivanog materijala je veoma bitan u ispitivanju biološkog ponašanja materijala. Kontakt se može postići na tri načina: direktno, indirektno i kontaktom preko ekstrakta [202]. Kod direktnog kontakta ispitivani materijal se nalazi u fizičkom kontaktu sa kulturom ćelija ili sa medijumom. Kada je ispitivani materijal rastvoran u vodi priprema se vrši rastvaranjem materijala u medijumu. Međutim, kada je materijal nerastvoran u vodi, onda postoji više načina da se materijal dovede u direktan kontakt sa medijumom: (1) uzorak se stavi na vrh formiranog monosloja, (2) uzorak se smesti na dno posude gde se gaji kultura, pa se suspenzija ćelija dodaje preko uzorka tako da dolazi do formiranja ćelijskog monosloja oko uzorka i (3) ćelije se zaseju direktno na uzorak. Kod indirektnog kontakta, uzorak se odvaja od ćelija permeabilnim intermedijerom. Ovaj metod ne zavisi od fizičkog stanja materijala i može da se koristi za čvrste, polučvrste i tečne materijale. Pored direktnog i indirektnog kontakta, postoji i kontakt preko ekstrakta ili eluata. Zapravo, kontakt između nerastvornog materijala i ćelija može da se ostvari korišćenjem emulgatora ili ekstrahovanjem komponenata pomoću rastvarača.

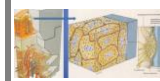
Shematski prikaz indirektnog i direktnog testa dat je na slici 6.2. Za ispitivanje novih materijala ISO 10993 standard preporučuje korišćenje i direktnog i indirektnog testa [182].



Slika 6.2 Testovi citotoksičnosti: direktni (a) i indirektni (b) test [182].

6.2.3. Direktni kontaktni citotoksični test

Direktni kontaktni citotoksični test zasniva se na ispitivanju citotoksičnog efekta stomatoloških materijala u direktnom kontaktu sa jednoslojnim kulturama fibroblasta. Pogodan je za materijale koji se nalaze u čvrstom obliku i pre početka testiranja poželjno je uzorke sterilisati, jer kontaminacija kulture ćelija može dovesti do netačne procene rezultata testa citotoksičnosti. Veličina uzoraka zavisi od površine posuda (Petrijeve šolje, ploče za ćelijske kulture) u kojima se gaje ćelije. Obično se za posude prečnika 35 mm koriste uzorci promera 5 mm. Test materijal, pozitivna i negativna proba se postavljaju u triplikatu na sredinu konfluentnog sloja fibroblasta i inkubiraju tokom 24 časa u hranljivom medijumu na 37°C. Posle 24 časa prate se morfološke promene ćelija pomoću invertnog mikroskopa, u smislu pojave degeneracija, vakuolizacije, smanjenja volumena ćelija, ćelijske lize i prisustva drugih morfoloških pokazatelja citotoksičnosti. Materijal se ocenjuje kao netoksični (indeks 0), dok se citotoksičnost označava kao blaga (indeks 1), umerena (indeks 2) i ozbiljna (indeks 3). Takođe, citotoksičnost može da se kvantifikuje određivanjem procenta mrtvih ćelija u kulturi, i shodno tome se može izvršiti degradacija citotoksičnosti: (0) – nedetektabilna citotoksičnost ili bazalna citotoksičnost, (1) – manje od 20% nevijabilnih ćelija, (2) – 20-40% nevijabilnih ćelija, (3) – 40-60% nevijabilnih ćelija, (4) – 60-80% nevijabilnih ćelija i (5) – više od 80% nevijabilnih ćelija [182, 183].



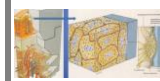
6.2.4. Indirektni kontakti citotoksični test

6.2.4.1. Agar difuzioni test

Agar difuzioni test zasniva se na prekrivanju konfluentnih ćelijskih kultura fibroblasta, koje su prethodno gajene u plastičnim šoljama ili pločama za ćelijske kulture, slojem agara rastvorenog u hranljivom medijumu u koji je dodat rastvor katjonske boje, neutral crveno (eng. neutral red). Boja neutral crveno lako prolazi kroz membranu plazme i membrane organela, akumulirajući se u lizozomima. Iznad sloja agara postavljaju se uzorak za testiranje, pozitivna i negativna kontrola. Kao pozitivna kontrola najčešće se koristi materijal koji izaziva snažnu citotoksičnu reakciju, a kao negativna kontrola materijal koji ne dovodi do citotoksičnosti (teflon ili polietilen). Kod materijala koji izazivaju citotoksičnu reakciju dolazi do gubitka integriteta membrane, što je praćeno smanjenjem zadržavanja boje neutral crveno. Pod mikroskopom se oštećene ili mrtve ćelije vide kao obojane, dok su zdrave vijabilne ćelije obojene crvenom bojom [189].

Stepen citotoksičnosti se procenjuje na osnovu veličine dekolorizacije oko ispitivanog uzorka i promene se boduju (indeksi od 0 do 5), pri čemu je: indeks 0 – nedetektabilna dekolorizacija; indeks 1 – dekolorizacija ispod samog uzorka postavljenog na agar; indeks 2 – zona dekolorizacije do 5 mm od uzorka; indeks 3 – zona dekolorizacije do 10 mm od uzorka; indeks 4 – zona dekolorizacije veća od 10 mm od uzorka i indeks 5 – potpuna dekolorizacija [182, 183].

Semikvantitativna procena ćelijske lize se takođe vrši mikroskopskom analizom. Indeks citotoksičnosti se određuje na osnovu sledećih kriterijuma: (0) – nedetektabilna liza ćelija, (1) – do 20% liziranih ćelija, (2) – 20-40% liziranih ćelija, (3) – 40-60% liziranih ćelija, (4) – 60-80% liziranih ćelija i (5) – više od 80% liziranih ćelija. Citotoksičnost se klasifikuje kao odsustvo citotoksičnosti (0-0,5), blaga citotoksičnost (0,6-1,9), umerena citotoksičnost (2,0-3,9) i izrazita citotoksičnost (4,0-5,0).



6.2.4.2. Filter difuzioni test

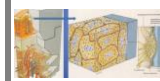
Filter difuzioni test koristi se za procenu citotoksičnosti stomatoloških materijala koji difunduju kroz celulozno-acetatni filter na kome se uzgajaju ciljne ćelije (fibroblasti). Fibroblasti se inicijalno kultivišu 24 časa na celulozno acetatnim filterima, prečnika 47 mm i veličine pora 0,45 μm , do postizanja adherentnog sloja kulture. Narednog dana filteri se postavljaju invertno na sloj hrapavog medijuma sa agarom, koji se priprema na sličan način kao za agar difuzioni test. Uzorci materijala, pozitivna i negativna kontrola postavljaju se na gornju površinu filtera i inkubiraju tokom narednih 24 časa. Filteri se zatim inkubiraju sa natrijum-sukcinatom i nitroblu-tetrazolijumom. Nitroblu-tetrazolijum se redukuje pod uticajem mitohondrijalne sukcinat-dehidrogenaze, pri čemu se stvara formazan ljubičaste boje. Ako materijal dovodi do citotoksičnosti, u ćelijama se smanjuje enzimska aktivnost, kao i sposobnost ćelije za stvaranje formazana.

Citotoksični efekat se procenjuje analizom obojenosti filter papira i poređenjem intenziteta plave boje sa odgovarajućom pozitivnim i negativnim kontrolama, pri čemu se rezultati izražavaju kao: indeks 0 – necitotoksičnost, odsustvo promene boje na mestu kontakta materijala i filter papira; indeks 1 – umerena citotoksičnost, smanjenje intenziteta boje ili potpuno obezbojavanje filtera u zoni prečnika postavljenog preparata; indeks 2 – umerena citotoksičnost, nebojena zona veličine 6-9 mm; indeks 3 – izrazita citotoksičnost, nebojena zona veličine veće od 9 mm [182, 183].

Kako se svi ispitivani uzorci, pozitivne i negativne kontrole ispituju u triplikatu, finalna citotoksičnost se klasifikuje kao: necitotoksičnost (0-0,4), blaga citotoksičnost (0,5-1,4), umerena citotoksičnost (1,5-2,4) i izrazita (snažna) citotoksičnost (2,5-3,0).

6.2.5. MTT test

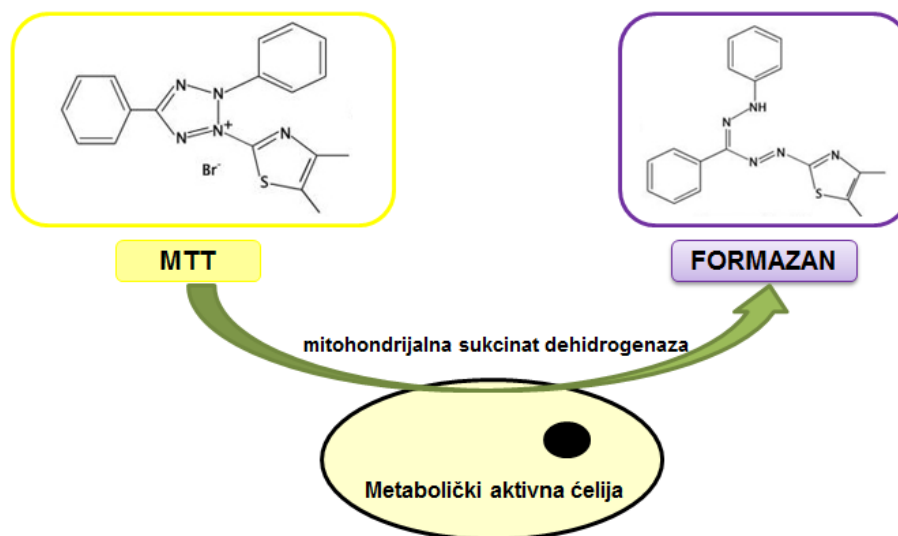
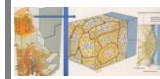
MTT test se zasniva na redukciji tetrazolijumove soli 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid (MTT) žute boje pod uticajem mitohondrijalne sukcinat dehidrogenaze do formazana ljubičaste boje, slika 6.3 [203]. Formirani ljubičasti nerastvorni formazan se zbog svojih svojstava akumulira u ćeliji i ne prolazi kroz membranu plazme. Liziranjem ćelijske membrane odgovarajućim



supstancama kao što je npr. izopropanol, formazan se rastvara pri čemu intenzitet plave boje može da se očita spektrofotometrijski. Kod ovog testa intenzitet ljubičaste boje je direktno proporcionalan broju vijabilnih ćelija u kulturi, odnosno količina nastalog formazana kvantifikuje se merenjem apsorbance, koja je direktno proporcionalna broju živih ćelija. Ako stomatološki materijal izaziva citotoksičnost, dolazi do smanjenja aktivnosti mitohondrijalnih enzima, a samim tim i smanjene redukcije MTT [204]. Prema tome, konverzija MTT u ljubičasti formazan se dešava samo u ćelijama koje su metabolički aktivne.

Necitotoksičnim se označava materijal koji ne dovodi do statistički značajnog ($p < 0.05$) smanjenja optičke gustine ispitivanih kultura u poređenju sa negativnom kontrolom i vrši se gradacija: indeks 1 – smanjenje do 20%; indeks 2 – smanjenje za 20-40%; indeks 3 – smanjenje za 40-60%; indeks 4 – smanjenje za 60-80% i indeks 5 – smanjenje veće od 80%. Slično kao kod agar difuzionog testa citotoksičnost se klasifikuje kao odsustvo citotoksičnosti (0-0,5), blaga citotoksičnost (0,6-1,9), umerena citotoksičnost (2,0-3,9) i izrazita citotoksičnost (4,0-5,0). Treba napomenuti da rezultat eksperimenta zavisi i od tipa korišćenih ćelija.

MTT test je veoma osetljiv i pogodan za ispitivanje citotoksičnosti tečnih materijala ili ekstrakata čvrstih materijala, uključujući i čvrste materijale iz kojih se spontano oslobađaju citotoksične supstance ili joni teških metala. Zbog toga je ovaj test jedan od najčešće primenjivanih testova za ispitivanje citotoksičnog efekta materijala u istraživanjima *in vitro*, iako nije obuhvaćen ISO standardima [205, 206]. Treba imati u vidu da se pomoću MTT testa određuje ukupna metabolička aktivnost ćelija u kulturi koja je direktno proporcionalna broju vijabilnih ćelija. Smanjenje broja živih ćelija može biti posledica citotoksičnog efekta ili smanjene proliferacije, pa je često neophodno uraditi i dodatne specifične testove.



Slika 6.3 Reakcija na kojoj se zasniva MTT test.

6.2.6. Test odbacivanja boje (DET)

Određivanje proliferacije i kvantifikacija broja ćelija se može uraditi različitim tehnikama: korišćenjem mikroskopa, hemocitometra ili elektronskog brojača. Kao parametar, najčešće se meri smanjenje broja ćelija usled inhibicije proliferacije ili pak lize ćelija. Brojanjem nativnih (neobojenih) ćelija teško je razlikovati mrtve od živih ćelija. Neke metode za procenu proliferacije zasnivaju se na razlici propustljivosti ćelijske membrane kod živih i mrtvih ćelija (tzv. metode ekskluzije/preuzimanja boje) [207]. Test odbacivanja boje (*eng.* Dye Exclusion test, DET) se koristi za određivanje vijabilnosti ćelija. Ovaj test je brz i jednostavan i ne zahteva mnogo opreme. Zasniva se na činjenici da oštećenje ćelijske membrane omogućava ulazak boje u ćeliju [208]. Neoštećene ćelije odbacuju boju, dok oštećenje ćelijske membrane omogućava ulazak boje u ćeliju i oštećene ćelije postaju obojene jer ćelijska membrana ne ispunjava zaštitnu ulogu. Najčešće se koristi boja tripan plavo (*eng.* trypan blue), mada može da se koristi i eritrozin i naftalen crno. U mikroskopskoj komori za brojanje neoštećene ćelije se vide kao bezbojne, dok su oštećene ćelije obojene plavo. Dobijeni rezultati odnosno procenat neobojenih ćelija se izražava kao indeks ćelijske vijabilnosti (*eng.* Cell viability, CV).



7. SAVREMENI ASPEKTI RAZVOJA METALNIH MATERIJALA

Metali i legure metala, koji se koriste za izradu biomedicinskih implanata, su polikristalne strukture. Metode izrade, kao što su livenje, kovanje, mlevenje, mašinska obrada, metalurgija praha i sinterovanje, toplo izostatsko presovanje i druge konvencionalne metode za procesiranje metala rezultuju formiranjem mikrostrukture sa veličinom zrna prisutnih u mikrostrukтури u opsegu od nekoliko mikrometara do nekoliko milimetara. Osnovni cilj razvoja materijala za primenu u humanom organizmu je postizanje visoke vrednosti čvrstoće sa prihvatljivom duktilnošću i otpornošću na habanje pri ponavljajućem opterećenju. U cilju postizanja željenih karakteristika, pre svega poboljšanih mehaničkih karakteristika, koriste se termomehanički postupci obrade, dodavanje legirajućih elemenata, razvoj višefazne strukture i ojačavanje precipitacijom (taloženjem). U poslednje vreme osnovni cilj istraživanja u oblasti izrade implantnih metalnih materijala je poboljšanje mehaničkih i bioloških karakteristika materijala prevođenjem konvencionalnih makročestičnih materijala u submikronske i nanočestične materijale. Krajem XX i početkom XXI veka značajno je porastao obim istraživanja u cilju formiranja nanokristalne (veličina zrna manja od 100 nm) i amorfne strukture metala za različite aplikacije. Za nanokristalne čiste metale je pokazano da se odlikuju većom zateznom čvrstoćom, otpornošću na habanje i na koroziju. Veća vrednost čvrstoće se objašnjava većom otpornošću na mehaničke deformacije usled nemogućnosti kretanja dislokacija unutar kristala nano dimenzija.

Dobijanje sitnozrne mikrostrukture se može postići primenom dva pristupa. Prvi pristup, tzv. odozdo prema gore (*eng.* bottom up) predstavlja dobijanje materijala gradeći ga atom po atom ili grupu po grupu atoma. Ovde spadaju kondenzacija inertnim gasom i ostale metode dobijanja nano-praha. Drugi pristup proizvodnje materijala sitnozrne mikrostrukture je tzv. odozgo na dole (*eng.* top down) koji se zasniva na prevođenju krupnozrne strukture u sitnozrnu ili nano strukturu primenom postupaka intenzivne plastične deformacije (*eng.* severe plastic deformation, SPD). SPD postupci su zapravo postupci profinjavanja (ili rafinacije) strukture smanjenjem veličine zrna.



Kao što je detaljno objašnjeno u prethodnim poglavljima, na korozionu postojanost dentalnih implanata utiče ne samo sastav, pH vrednost i temperatura medijuma, već i hemijski sastav, mikrostruktura, stanje površine, oblik implanta, itd. Problem korozione nepostojanosti metalnih implanata bi mogao biti prevaziđen izradom novih metalnih legura poboljšanih mehaničkih karakteristika i korozione stabilnosti [209-211], primenom tehnika modifikacije površine kojima se smanjuje reaktivnost površine implantnih materijala [212-215], termomehaničkom obradom [216] ili električnom zaštitom implanata.

Dosadašnja istraživanja sprovedena u oblasti SPD obrade metalnih materijala pokazuju da se karakteristike metalnih biomaterijala mogu značajno poboljšati smanjenjem veličine mikrostrukturnih zrna čime se može povećati čvrstoća, žilavost i otpornost prema zamoru i oštećenju ovih materijala, što je dobra polazna osnova za dalja ispitivanja metalnih implantnih materijala sa aspekta korozione postojanosti i biokompatibilnosti.

7.1. SPD POSTUPCI PRERADE METALNIH MATERIJALA

SPD je skup različitih postupaka za obradu metala primenom plastične deformacije koja dovodi do usitnjavanja zrna mikrostrukture do submikronskog nivoa [17, 19]. Plastična deformacija uključuje vrlo velika naprezanja uzrokovana visokim pritiskom i rezultira visokom gustom nagomilanih dislokacija i smanjenjem veličine zrna [18]. Materijali koji se dobiju primenom SPD postupaka su sitnozrni (*eng.* ultrafine-grained, UFG), veličine zrna u opsegu 100-1000 nm, i nanočestični (*eng.* nanostructured, NS), gde su zrna veličine manje od 100 nm [18, 217]. Ono što je od izuzetnog značaja kod primene SPD postupaka je da primenjeno opterećenje ne dovodi do značajne promene dimenzija uzoraka [218-220]. Osnovna načela na kojima se zasnivaju SPD postupci potiču iz rada Bridgmana 1930. godine, koji je proučavao efekte visokog hidrostatičkog pritiska i smicajne deformacije na mikrostrukturu metala, što mu je donelo i Nobelovu nagradu za fiziku 1946. godine [221]. Usitnjavanje mikrostrukture primenom SPD postupaka je u direktnoj vezi sa ojačavanjem metala i legura, ali tačan mehanizam usitnjavanja zrna nije potpuno razjašnjen [17, 18, 220]. Uslovi za stvaranje sitnozrne strukture primenom SPD postupaka su ostvarivanje ekstremno visoke



vrednosti smicajne deformacije, bez strukturnih oštećenja, pri relativno niskoj temperaturi, i u uslovima visokog hidrostatičkog pritiska. Ostvarena sitnozrna struktura mora imati visokougaoone granice zrna i mora biti ujednačena po zapremini uzorka. Očekuje se da usitnjavanje zrna CPTi i Ti legura doprinese postizanju visoke čvrstoće materijala uz održavanje niske vrednosti modula elastičnosti [222]. SPD postupci se intenzivno proučavaju i razvijaju poslednjih godina jer se primenom ovih postupaka može ostvariti izvanredna kombinacija mehaničkih i fizičkih karakteristika materijala.

7.1.1. Vrste SPD postupaka

U novije vreme je razvijen veliki broj različitih SPD postupaka za preradu materijala:

- jednakokanalno ugaono presovanje (*eng.* equal channel angular pressing, ECAP),
- uvijanje (torzija) pod visokim pritiskom (*eng.* high pressure torsion, HPT),
- kumulativno valjanje (*eng.* accumulative roll-bonding, ARB),
- naizmenično savijanje i ispravljanje (*eng.* repetitive corrugation and straightening, RCS),
- ciklično kompresivno izvlačenje (*eng.* cyclic extrusion compression, CEC),
- ciklično kovanje u zatvorenom kalupu (*eng.* cyclic closed-die forging, CCDF),
- višeosno sabijanje (*eng.* multi-directional forging, MDF),
- istiskivanje sa uvijanjem (*eng.* twist extrusion, TE),
- kalibracijsko valjanje (*eng.* caliber rolling, CAROL) i dr. [17-19, 223].

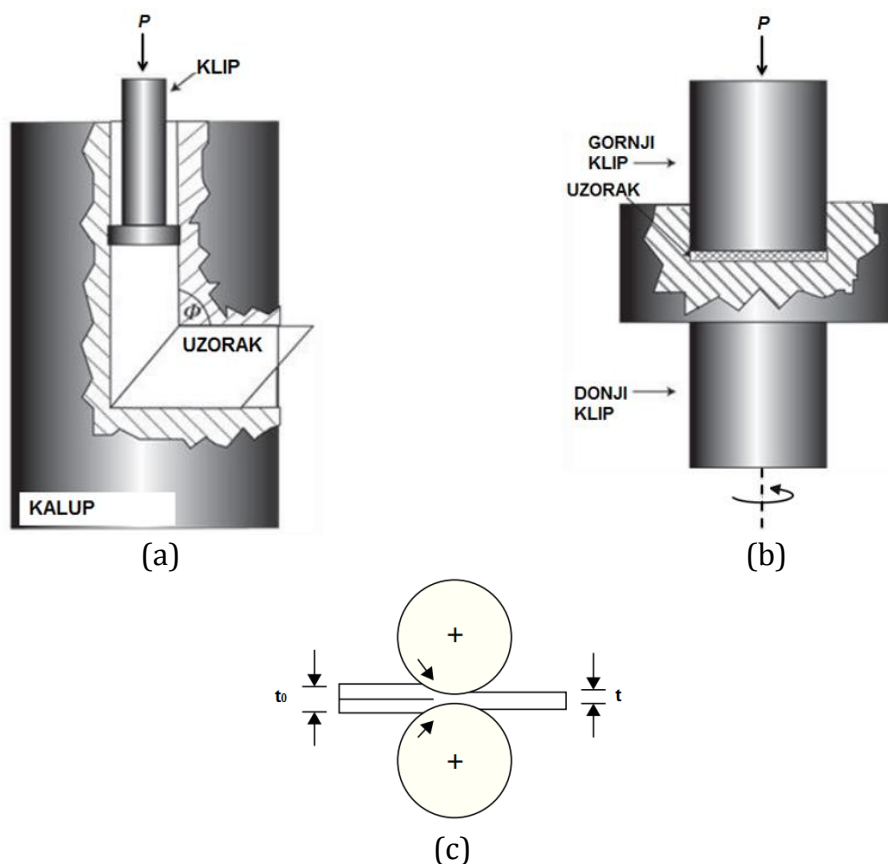
Od svih navedenih SPD procesa, najveću primenu imaju HPT, ECAP i ARB, shematski prikazani na slici 7.1 [8, 20, 224]. Ova tri SPD procesa su fundamentalno različita, ali svaki od njih dovodi do značajnog usitnjavanja zrna najmanje do submikronskog nivoa.

ECAP je jedan od najčešće korišćenih SPD postupaka kojim se vrši usitnjavanje mikrostrukture na sobnoj ili povišenoj temperaturi, u zavisnosti od vrste materijala koji se obrađuje [219, 225-227]. Proces ECAP, razvijen od strane *V. M. Segal* sedamdesetih godina XX veka, u početku nije bio prihvaćen. Međutim dvadesetak godina kasnije metoda je našla širu primenu. Naime, ECAP alat se



sastoji od kalupa sa dva kanala identičnog poprečnog preseka, koja se međusobno seku pod uglom ϕ , kao što je prikazano na slici 7.1a. Procesom se omogućuje postizanje intenzivne plastične deformacije na uzorku materijala bez promene njegove geometrije [19]. Tokom procesa istiskivanja moguće je dobiti izrazito sitna zrna a time i značajno poboljšati mehanička svojstva materijala. Postignuti rezultati su omogućili da se ECAP primeni u industrijskoj praksi.

ARB je SPD postupak obrade kojim se na jednostavan način ostvaruje visok stepen deformacije [228]. Osnovu ove metode predstavlja klasično valjanje, kod koga se dve tanke metalne ploče, postavljene jedna preko druge debljine t_0 , provlače između dva valjka i pod dejstvom opterećenja dolazi do spajanja ovih ploča u jednu ploču debljine t (slika 7.1c). Dobijena ploča se reže na dva dela koji se površinski obrađuju ukoliko je potrebno, slažu jedan na drugi i ponovo podvrgavaju procesu valjanja. Materijal je neposredno pre valjanja potrebno zagrejati na temperaturu koja je nešto niža od temperature rekristalizacije kako bi se eliminisala zaostala naprezanja.

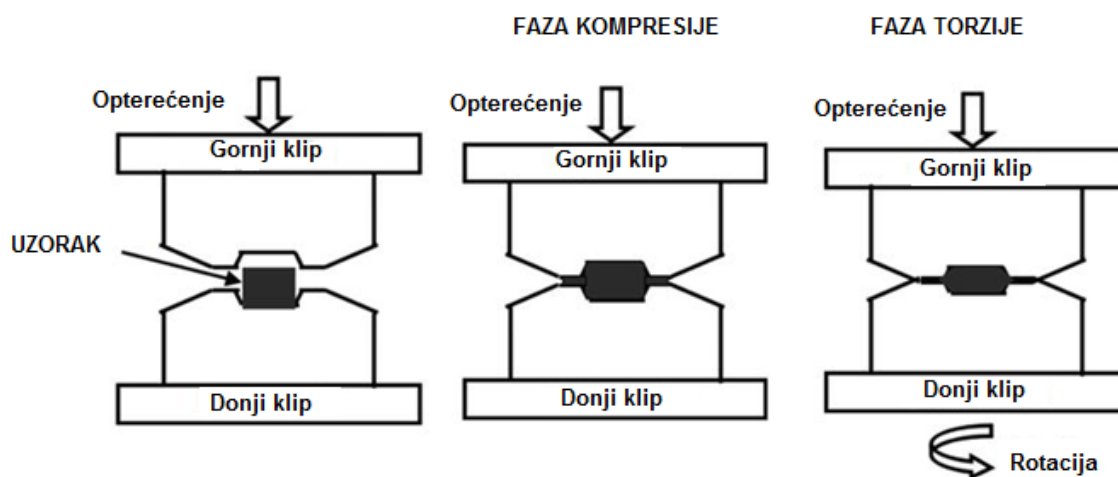


Slika 7.1 Shematski prikaz najčešće primenjivanih SPD procesa za izradu sitnozrnih metalnih biomaterijala: ECAP (a), HPT (b) i ARB (c) [224].



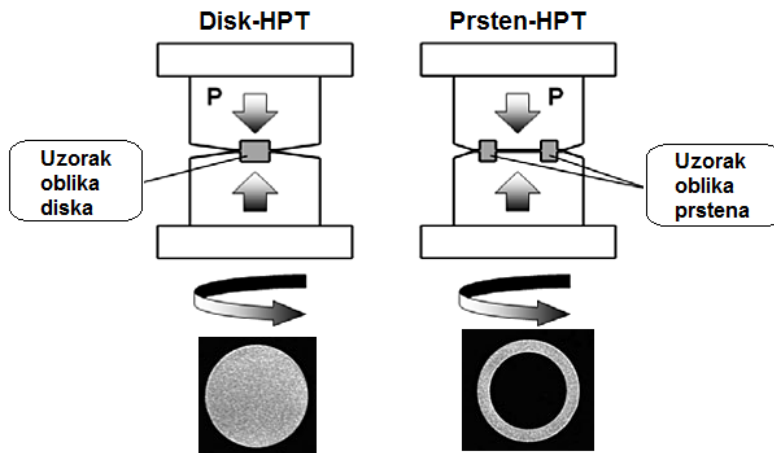
7.1.2. HPT postupak

HPT postupak predstavlja uvođenje velikog torzionog naprezanja u uzorak metalnog materijala čime se postiže usitnjavanje mikrostrukture [19]. HPT uređaj se sastoji iz dva klipa između kojih se smešta uzorak materijala, pri čemu gornji klip vrši veliki pritisak, dok donji klip vrši torziju (uvijanje) uzorka, slika 7.1b. Oba kalupa poseduju cilindrične i blago konusne šupljine. Prečnik cilindričnih šupljina identičan je prečniku uzorka, dok je dubina obe šupljine neznatno manja od visine uzorka. Iz tog razloga tokom dejstva opterećenja mala količina materijala teče izvan kalupa. Trenje prisutno u ovom tankom delu uzorka ograničava slobodno tečenje materijala van HPT alata, dok bočni pritisak obezbeđuje dovoljan hidrostatički pritisak u obradnoj zoni alata. Materijal u oblasti koja razdvaja dva kalupa na taj način sprečava oštećenje alata za vreme obrade. Obe šupljine alata su peskarene kako bi se očistile površine i nastalim mikrošupljinama obezbedilo optimalno trenje neophodno za neprekidno odvijanje torzione deformacije. Kako bi se sprečilo klizanje materijala, neophodno je primeniti adekvatan pritisak (najčešće je to vrednost tri puta viša od napona tečenja obrađivanog materijala u nedeformisanom stanju). Shematski prikaz HPT postupka je dat na slici 7.2.



Slika 7.2 Shematski prikaz HPT postupka.

Uzorci koji se podvrgavaju HPT postupku obrade mogu biti u obliku diska ili prstena, kao što je prikazano na slici 7.3 [229], dok je izgled materijala nakon HPT procesa obrade prikazan na slici 7.4 [230].



Slika 7.3 Oblik uzoraka kod HPT postupka [229].



Slika 7.4 Izgled HPT obrađenog uzorka [230].

Normalna efektivna plastična deformacija, ε_e , koja se javlja kod uzorka podvrgnutog HPT postupku se korišćenjem von Mises-ovog kriterijuma određuje na sledeći način [231]:

$$\varepsilon_e = \frac{\gamma_e}{\sqrt{3}} = \frac{2\pi nr}{\sqrt{3} \cdot h} \quad (7.1)$$

gde je γ_e - smičuća efektivna deformacija, n - broj obrtaja, r - rastojanje od centra uzorka [m] i h - debljina uzorka [m].

Jednačina 7.1 pokazuje da deformacije u centru uzorka nema, dok je porast deformacije od centra ka periferiji uzorka linearan. Međutim, literaturno dostupni podaci pokazuju da se primenom intenzivne plastične deformacije pod konstantnim visokim pritiskom i velikim brojem obrtaja ostvaruje homogena mikrostruktura materijala [17, 18, 230].

Prednost HPT tehnike u odnosu na druge SPD postupke ogleda se u sledećem [231, 232]:

- Ovom metodom moguće je postići veoma visoke vrednosti smicajnih deformacija. Naime, samo jedan obrtaj alata na uzorku debljine 0,8 mm izaziva efektivnu deformaciju vrednosti 18 na rastojanju 4 mm od centra uzorka, dok 100 obrtaja alata odgovara efektivnoj deformaciji od 1800, što nije teško postići. Nijedna druga SPD metoda ne može da postigne tako visoke vrednosti deformacije.



- HPT postupkom se na niskoj temperaturi mogu obrađivati relativno kruti materijali, kao i materijali visoke čvrstoće.
- Na određenoj vrednosti poluprečnika, deformacija i brzina deformacije se mogu precizno kontrolisati.
- Mogućnost uvođenja zagrevanja i hlađenja HPT alata.
- Mogućnost određivanja napona tečenja, odnosno krive tečenja, merenjem obrtnog momenta i ugla rotacije [233, 234].
- Mogućnost obrtanja smera okretanja alata, čime se dobija ciklični postupak [235, 236].

Najveći nedostatak HPT postupka jeste veličina uzorka. Na samom početku primene HPT postupka za dobijanje sitnozrnog materijala kao nedostatak se javilo to što se ispitivani materijal mora nalaziti u obliku relativno malih diskova, zbog čega je isključena mogućnost korišćenja ovog procesa u cilju masovne industrijske proizvodnje i izrade velikih komada. Obično se HPT postupku podvrgavaju uzorci prečnika do 40 mm i debljine od nekoliko milimetara [237, 238]. Međutim, u poslednje vreme je razvijen uređaj koji omogućava tretiranje većih uzoraka materijala, što otvara mogućnost za industrijsku primenu HPT postupka [239].

7.1.3. Karakteristike materijala podvrgnutih HPT postupku

Međusobna zavisnost napona tečenja sitnozrnih metalnih materijala, dobijenih SPD postupcima obrade, i prečnika zrna opisana je Hall-Petch-ovom jednačinom:

$$\sigma_y = \sigma_0 + k_y d^{-1/2} \quad (7.2)$$

gde je σ_y - napon tečenja [Pa], σ_0 - napon trenja rešetke [Pa], k_y - konstanta koja zavisi od materijala [$\text{Pa}\cdot\text{m}^{1/2}$] i d - prečnik zrna [m].

Na osnovu Hall-Petch-ove jednačine jasno se uočava da smanjenje prečnika zrna dovodi do povećanja napona tečenja materijala.

Mnogi autori su u svojim istraživanjima naglasili da UFG materijali pokazuju poboljšane mehaničke i fizičke karakteristike u poređenju sa krupnozrnim (*eng.* coarse grained, CG) materijalima [222, 240, 241]. Smanjenje veličine zrna na prvom mestu vodi ka postizanju veće zatezne čvrstoće materijala. Sergueeva i saradnici [242] su u svom istraživanju pokazali da CPTi nakon HPT postupka obrade na 5 GPa pokazuje tri puta veću vrednost čvrstoće koja je slična čvrstoći Ti



legura. Na sličan način, Xie i saradnici [54] su pokazali da se primenom SPD procesa može postići povećanje tvrdoće od 23% i smanjenje modula elastičnosti od 34% UFG Ti legure u poređenju sa CG Ti legurom. Dobijeni rezultati jasno pokazuju da je moguća izrada nanokristalne Ti legure β tipa koja istovremeno poseduje visoku čvrstoću, nizak modul elastičnosti i odličnu biokompatibilnost. Takođe, Wang i saradnici [243] su pokazali da se veličina zrna smanjuje od 8,6 μm do 130 nm primenom HPT postupka pod pritiskom od 3 GPa na sobnoj temperaturi, pri čemu dobijeni UFG materijal pokazuje značajno poboljšanje mehaničkih svojstava i to zateznu čvrstoću od 940 MPa i izduženje od 23 %.

7.2. MOGUĆNOST INDUSTRIJSKE PRIMENE SPD PROCESA OBRADJE MATERIJALA

Iako materijali podvrgnuti SPD tehnikama obrade pokazuju poboljšana svojstva, njihova industrijska primena i dalje nije zaživela. Razlozi za još uvek nedovoljno iskorišćene prednosti primene SPD tehnika u industrijskoj obradi materijala mogu se naći u činjenici da se na ovaj način mogu obrađivati samo uzorci malih dimenzija (npr. uzorci koji mogu da se podvrgnu HPT postupku obrade u Erich Schmid Institute of Materials Science, Austrija, su maksimalnog prečnika 50 mm i maksimalne debljine 10 mm), dok je za industrijsku primenu od krucijalnog značaja korišćenje uzoraka velikih dimenzija. U poslednje vreme intenzivno se radi na razvijanju uređaja kojima bi bila omogućena HPT obrada uzoraka većih dimenzija čime se značajno usložnjava konstrukcija samih alata. Osim toga, nedovoljna informisanost industrijskih proizvođača o prednostima UFG materijala ograničila je primenu SPD tehnika u industrijskoj proizvodnji. Takođe, još uvek nije prepoznato koja bi SPD metoda biti najpodesnija za industrijsku primenu. Kao rezultat toga, potencijalni proizvođači UFG metala se ustručavaju da se opredele za određenu SPD metodu kao standardnu. Pored svih tehničkih problema koji prate izradu UFG metala, postoji zabrinutost vezana za njihovu ekonomsku isplativost, koja direktno zavisi od njihove potražnje na potencijalnom tržištu ali i od proizvodnih troškova.

Kada su u pitanju UFG materijali za primenu u biomedicini javlja se i otvoreno pitanje nedovoljno ispitane korozijske postojanosti, netoksičnosti i



biokompatibilnosti materijala podvrgnutih SPD postupcima. Većina metalnih materijala koji se razvijaju za izradu implanata je izrađena ECAP postupkom [245, 246], dok je primena HPT postupka u početnoj fazi. Greger i saradnici [247] su pokazali da se primenom ECAP postupka dobija nano - titan čija je veličina zrna 300 nm, pri čemu je čvrstoća poboljšana na 1250 MPa. Mnogi autori su ispitali mikrostrukturu i mehaničke karakteristike UFG materijala dobijenih primenom ECAP [3, 226, 247] i HPT [240-242, 248] postupka, međutim, radova na polju ispitivanja korozione postojanosti i biokompatibilnosti ovih materijala ima veoma malo i većinom su to radovi koji opisuju ispitivanja materijala dobijenih ECAP postupkom [227, 249, 250]. Očekuje se da će usitnjavanje mikrostrukture primenom bilo kog SPD postupka dovesti do poboljšanja korozione postojanosti i biokompatibilnosti materijala. Nasuprot očekivanjima, u literaturi se mogu pronaći oprečni rezultati. Sa jedne strane, Nie i saradnici [16] su pokazali da se koroziona postojanost titana u 3,5% NaCl rastvoru pogoršava primenom HPT postupka, dok su sa druge strane, Balakrishnan i saradnici [251] demonstrirali da UFG Ti pokazuje 10 puta veću otpornost na koroziju od CG Ti. Takođe, Maleki-Ghaleh i saradnici [252] su objavili da UFG Ti ima 70% manji stepen korozije od CG Ti i Faghihi i saradnici [253] u sklopu svog istraživanja pokazali da nano CPTi, dobijen HPT postupkom na 6 GPa i temperaturi od 25°C, pokazuje manji stepen korozione postojanosti u poređenju sa komercijalnim CPTi, ali da zato pokazuje bolje tribokorozione osobine.

Moguća komercijalizacija materijala dobijenih SPD postupcima trenutno je izuzetno aktuelna. Biomedicinski implantati napravljeni od sitnozrnih materijala bili bi najbolji primer primene SPD tehnologije kada zahtev za visokim performansama prevazilazi visoke troškove izrade. Prvu komercijalnu primenu UFG CPTi izvela je češka kompanija *Timplant*, koja se bavi izradom dentalnih implanata [254]. Zapravo, ova kompanija je izradila dentalni zavrtnaj od UFG CPTi veličine zrna 100-300 nm, i nazvala ga nanoimplant. Dobre mehaničke karakteristike nanočestičnog materijala su odgovorne za smanjenje prečnika zavrtnja sa 3,5 na 2,4 mm i na taj način je omogućena njegova upotreba na prednjim zubima i posebno kod dece. Dodatno, vreme oporavka pacijenta nakon operacije je skraćeno, a integracija implanta sa telom pacijenta ubrzana.



8. EKSPERIMENTALNI POSTUPAK

8.1. MATERIJALI I IZRADA

8.1.1. Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade

Za potrebe ispitivanja odabrani su sledeći materijali: komercijalno čist titan stepena čistoće 2 (CPTi-2) i legure Ti-6Al-4V i Ti-13Nb-13Zr. Materijali su izrađeni konvencionalnim postupkom izrade. CPTi-2 je proizveden od strane kompanije Goodfellow, Nemačka, u vidu šipki prečnika 16,0 mm, hemijskog sastava datog u tabeli **T.2.7** i u skladu sa ASTM F67-89 standardom [61]. Legura Ti-6Al-4V je proizvedena od strane kompanije Krupp VDM GmbH, Nemačka, u vidu šipki prečnika 38,0 mm, hemijskog sastava datog u tabeli **T.2.7** i u skladu sa ASTM F136-84 standardom [62]. Legura Ti-13Nb-13Zr je proizvedena u laboratoriji za materijale Instituta za nuklearne nauke Vinča, Srbija, postupkom topljenja i livenja u Heraeus GmbH elektrolučnoj peći sa zaštitnom atmosferom argona [21]. Kao polazni materijali korišćeni su visokočist titan, niobijum i cirkonijum (čistoće 99,99 mas.%). Postupkom topljenja i očvršćavanja rastopa u bakarnom kalupu koji je hlađen vodom dobijeni su odlivci oblika piškote dužine 90,0 mm i debljine 8,0 mm. Piškote su višestruko pretapane u cilju dobijanja homogenog sastava.

Za potrebe komparativne analize korišćena je komercijalna Co-Cr-Mo legura *Wironit®*, proizvođača Bego, Nemačka. Inicijalni uzorci su bili oblika cilindra prečnika 8,0 mm i dužine 15,8 mm. Hemijski sastav *Wironit®* legure je dat u tabeli **T.8.1**.

Tabela T.8.1 Hemijski sastav *Wironit®* legure.

| ELEMENT | UDEO [mas.%] |
|---------|--------------|
| Co | 63,0 |
| Cr | 30,0 |
| Mo | 5,0 |
| Fe | / |
| C | Max 0,4 |
| Ostalo | Si, Mn |

Iz svih navedenih materijala su isečeni uzorci oblika diska čiji su dimenzije date u tabeli **T.8.2**.

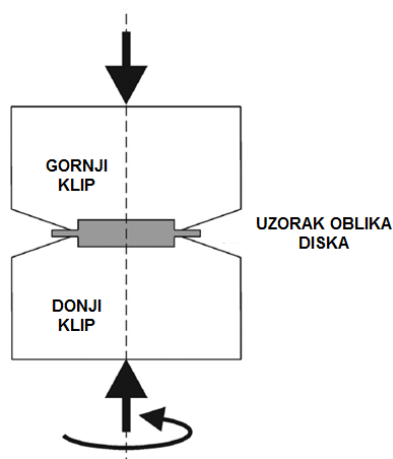


Tabela T.8.2 Dimenzije uzoraka ispitivanih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade.

| MATERIJAL | PREČNIK [mm] | VISINA [mm] |
|--------------|--------------|-------------|
| CPTi | 8,0 | 4,0 |
| Ti-6Al-4V | 8,0 | 4,0 |
| Ti-13Nb-13Zr | 7,0 | 4,0 |
| Co-Cr-Mo | 8,0 | 4,0 |

8.1.2. Materijali dobijeni HPT postupkom

U cilju dobijanja sitnozrne mikrostrukture, CPTi i Ti-13Nb-13Zr legura su intenzivno plastično deformisani uvijanjem pod visokim pritiskom u Erich Schmid Institute of Materials Science, Austrija. Shematski prikaz primenjenog HPT postupka je dat na slici 8.1, dok je izgled korišćene aparature dat na slici 8.2. HPT aparatura se sastoji od kompjuterski vođenog i kontrolisanog dvoklipnog hidrauličkog uređaja sa infracrvenim (IC) spiralnim grejačem. Uvijanje je izvedeno pod pritiskom od 7,8 GPa na sobnoj temperaturi brzinom 0,2 o/min. U cilju ispitivanja uticaja broja obrtaja na mikrostrukturu ispitivanih materijala, materijali su podvrgnuti HPT postupku sa različitim brojem obrtaja: 0, ¼, 1, 5 i 11.



Slika 8.1 Shematski prikaz HPT postupka.



Slika 8.2 HPT uređaj.

Uzorci CPTi podvrgnuti HPT postupku su bili oblika diska prečnika 8,0 mm i debljine 1,0 mm, a Ti-13Nb-13Zr legure prečnika 7,0 mm i debljine 1,0 mm. Nakon HPT postupka dobijeni su uzorci sitnozrne mikrostrukture obeleženi kao UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura. Dimenzije uzoraka materijala nakon HPT postupka su date u tabeli T.8.3.



Tabela T.8.3 Dimenzije uzoraka ispitivanih materijala dobijenih HPT postupkom.

| MATERIJAL | PREČNIK [mm] | VISINA [mm] |
|------------------|--------------|-------------|
| UFG CPTi | 8,0 | 0,8 |
| UFG Ti-13Nb-13Zr | 7,0 | 0,8 |

Smanjenje debljine uzoraka tokom HPT obrade može se objasniti tečenjem materijala izvan kalupa između dva klipa, što se može videti na slici **8.1**.

8.2. MIKROSTRUKTURNA ISPITIVANJA

Mikrostruktura materijala dobijenih konvencionalnim postupkom izrade, kao i materijala dobijenih HPT postupkom, ispitana je primenom svetlosne mikroskopije (SM), skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) i skenirajuće transmisionne elektronske mikroskopije (STEM). Ispitivana površina uzoraka je pripremljena standardnom metalografskom tehnikom: mokro brušenje silicijumkarbidnim (SiC) hartijama različite finoće (320, 400, 600, 800 i 1200) i poliranje dijamantskom suspenzijom finoće 5 μm i 0-2 μm . Nakon toga uzorci su očišćeni u etanolu u ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 10 min. Uzorci za SM i SEM mikrostrukturalna ispitivanja su dodatno nagriženi: Ti-6Al-4V, CPTi i UFG CPTi su tretirani Kroll-ovim reagensom (92 ml destilovana voda, 6 ml nitritna kiselina, 2 ml fluorovodonična kiselina), dok su Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legure tretirane Keller-ovim reagensom (95 ml destilovana voda, 2,5 ml nitritna kiselina, 1,5 ml hlorovodonična kiselina, 1,0 ml fluorovodonična kiselina) 20 s na sobnoj temperaturi. Za nagrizanje Co-Cr-Mo legure korišćen je rastvor koji sadrži 92 ml hlorovodonične kiseline, 5 ml sumporne kiseline i 3 ml nitritne kiseline. Nakon završenog nagrizanja, svaki uzorak je ispran destilovanom vodom i osušen u struji vrućeg vazduha.

SM analiza je izvedena korišćenjem Carl Zeiss Opton Axioplan mikroskopa koji je opremljen digitalnom kamerom Panasonic WV-CD50.

SEM analiza materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade je izvedena korišćenjem JEOL JSM 5800 mikroskopa pri radnom naponu od 20 keV u SE (*eng.* secondary electrons) i BSE (*eng.* back-scattered electrons) modu, dok je



mikrostruktura materijala dobijenih HPT postupkom određena primenom SEM mikroskopa visoke rezolucije TESCAN MIRA 3 XMU pri radnom naponu od 20 keV.

Za STEM analizu uzorci materijala dobijeni HPT postupkom su pripremljeni standardnom metodom korišćenjem Ar-jonskog snopa. STEM u kombinaciji sa elektronskom difrakcijom odabranog područja (eng. Selected Area (Electron) Diffraction, SAD ili SAED) je izvedena na uređaju Philips (CM12) za snimanje mapa elektronske difrakcije i STEM slike su dobijene korišćenjem uređaja JEOL 2100F.

8.3. ISPITIVANJE TVRDOĆE

Tvrdoća materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade i materijala dobijenih HPT postupkom je određena primenom metode po Vickers-u (HV). Merenje tvrdoće materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade je izvedeno na uređaju Buehler Identamet Microindentation Hardness Tester, Model 1114 pod dejstvom opterećenja od 300 gf (2,94 N). Utiskivanje piramide je trajalo 5 s. Određivanje veličine otisaka i obrada slike je izvršena korišćenjem programskog paketa Omnimet MHT. Tvrdoća materijala dobijenih HPT postupkom je određena primenom digitalnog uređaja TIME HVS-1000 pod dejstvom opterećenja od 200 gf (1,96 N) tokom 15 s. S obzirom na poznatu činjenicu da HPT postupak dovodi do razlika u vrednosti mikrotvrdoće duž prečnika uzorka, merne pozicije su izabrane tako da je moguće odrediti raspodelu mikrotvrdoće, a samim tim i homogenost ispitivanih materijala. Na svakoj mernoj poziciji: (1) centar uzorka, (2) polovina poluprečnika odnosno četvrtina prečnika i (3) ivica uzorka, izvedena su merenja u tri nezavisne tačke na rastojanju od 0,15 mm, kao što je prikazano na slici 8.3.



Slika 8.3 Shematski prikaz pozicija za određivanje mikrotvrdoće materijala dobijenih HPT postupkom.



8.4. KOROZIONA ISPITIVANJA

8.4.1. Ispitivanje otpuštanja jona – statički test potapanja

Priprema uzoraka za potrebe ispitivanja otpuštanja jona iz metalnih materijala je obuhvatala metalografsku pripremu brušenjem SiC hartijama do finoće 1200 i poliranje dijamantskom suspenzijom finoće 0-2 μ m. Nakon toga, uzorci su potopljeni u etanol u ultrazvučnom kupatilu 30 min u cilju potpunog uklanjanja nečistoća koje mogu da se nađu na površini materijala i isprani destilovanom vodom. Nakon tretmana čišćenja, uzorci su osušeni u struji vrućeg vazduha. Svaki uzorak je stavljen u prethodno sterilisanu staklenu epruvetu sa rastvorom veštačke pljuvačke koja je zatim hermetički zatvorena da bi se sprečila mogućnost kontaminacije. Uzorci su inkubirani na temperaturi od 37°C u cilju simuliranja fizioloških uslova usne duplje na telesnoj temperaturi. Za potrebe ispitivanja otpuštanja jona korišćen je rastvor veštačke pljuvačke komercijalnog naziva *Glandosane*®, proizvođača Helvepharm AG, Švajcarska, čiji je sastav prikazan u tabeli **T.8.4**. Za razliku od *Fusayama Meyer* veštačke pljuvačke, koja se često koristi u eksperimentima, *Glandosane*® veštačka pljuvačka sadrži organske komponente sorbitol i Na-karboksimetilcelulozu i veću koncentraciju hloridnih jona.

Tabela T.8.4 Hemijski sastav veštačke pljuvačke *Glandosane*®.

| KOMPONENTA | SASTAV [mas.%] |
|---------------------------------------|----------------|
| NaCl | 0,0844 |
| KCl | 0,1200 |
| MgCl ₂ x 6H ₂ O | 0,0052 |
| CaCl ₂ x 2H ₂ O | 0,0146 |
| Sorbitol | 0,3000 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,0342 |
| Na-karboksimetilceluloza | 0,1000 |
| Voda | 99,3416 |
| pH | 6,8 |

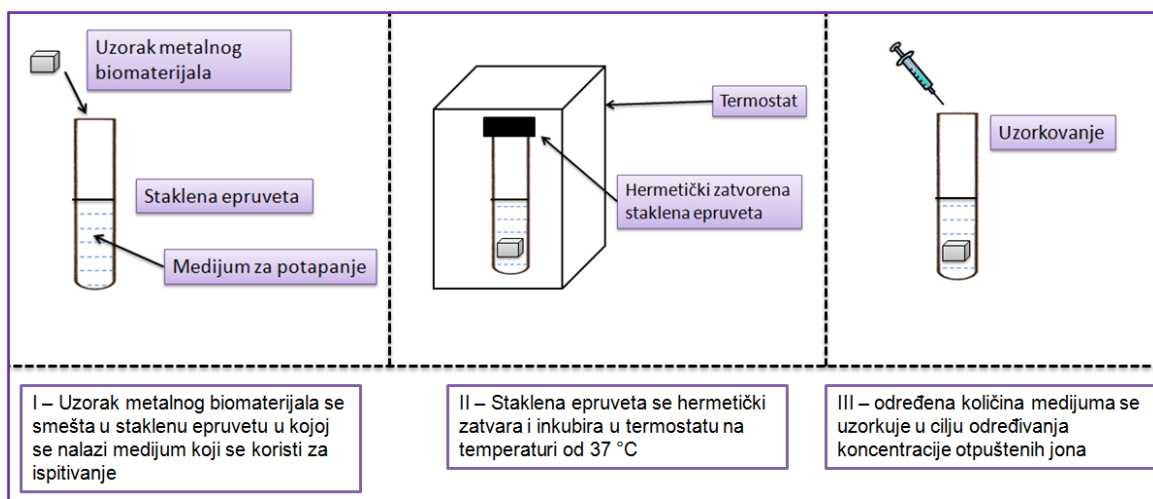
Inicijalna pH vrednost rastvora veštačke pljuvačke *Glandosane*® je bila 6,8, a u cilju ispitivanja uticaja pH vrednosti na koncentraciju otpuštenih jona, pH vrednost je dodavanjem NaOH i HCl podešena na 4,0; 5,5 i 7,5. Vrednost pH je nakon pripreme svakog rastvora određena korišćenjem pH-metra InoLab pH 720.



U cilju analize uticaja fluorida na otpuštanje metalnih jona ispitivani materijali su izloženi rastvoru veštačke pljuvačke *Glandosane*® (pH vrednosti 4,0; 5,5 i 7,5) u koji je dodat KF tako da je koncentracija fluorida bila 0,1 mas.%; 0,25 mas.% i 0,5 mas.%.

U cilju analize uticaja sastava medijuma na otpuštanje metalnih jona ispitivani materijali su izloženi komercijalnim rastvorima za ispiranje usta: *Colgate Plax Ice*® pH vrednosti 6,0 (glicerin, propilen glikol, sorbitol, poloksamer 407, natrijum saharin, cetilpiridinium hlorid, kalijum sorbat, NaF, mentol, voda), *Glandosane*® pH vrednosti 5,15 (Na-karboksimetilceluloza, sorbitol, KCl, NaCl, MgCl₂ x 6H₂O, CaCl₂ x 2H₂O, K₂HPO₄, voda) i *Listerin*® pH vrednosti 4,25 (mentol, timol, metil salicilat, eukaliptol, etanol).

Posle određenih vremenskih intervala (1, 3 i 6 nedelja) rastvor veštačke pljuvačke je filtriran pomoću 0,45 µm PVDF filtera. Odmereno je po 1 ml rastvora veštačke pljuvačke i dodato 9 ml 2% HNO₃. Vrsta i koncentracija otpuštenih jona je određena primenom induktivno spregnute plazme sa masenom spektrometrijom (*eng.* Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrophotometry, ICP-MS). Shematski prikaz izvedenih eksperimenata dat je na slici 8.4.



Slika 8.4 Shematski prikaz statičkog testa potapanja.



S obzirom na to da HPT postupak limitira dimenzije uzoraka, za ispitivanja su korišćeni uzorci istog oblika, ali različitih dimenzija (tabele **T.8.2** i **T.8.3**). Da bi rezultati bili uporedivi, nakon određivanja koncentracije otpuštenih jona, izračunat je prosečan stepen otpuštanja jona na dnevnom nivou, R_{pros} [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{dan}^{-1}$], korišćenjem formule [164]:

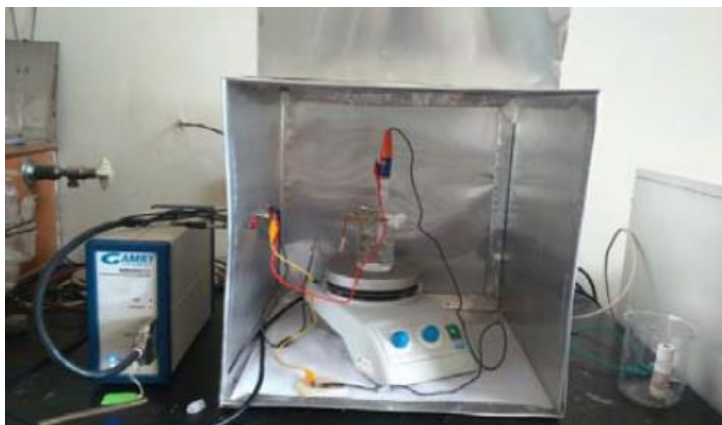
$$R_{pros} = \frac{c_{pros} \cdot V}{t \cdot P} \quad (8.1)$$

gde je: c_{pros} – prosečna koncentracija otpuštenih jona metala [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$], V – zapremina rastvora veštačke pljuvačke koji je korišćen za potapanje [l], t – vremenski interval [dan] i P – površina ispitivanog uzorka [cm^2].

8.4.2. Elektrohemijska ispitivanja

Koroziona postojanost materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade i materijala dobijenih HPT postupkom je ispitana primenom potenciodinamičke metode i metode spektroskopije elektrohemijske impedancije pomoću uređaja Gamry Reference 600 potentiostat/galvanostat/ZRA. Ispitivanja su izvedena u prirodno aerisanom rastvoru veštačke pljuvačke, čiji je sastav prikazan u tabeli **T.8.4**, na temperaturi od 37°C u cilju simuliranja uslova u usnoj duplji čoveka. Svi eksperimenti su izvedeni u triplikatu i neposredno pre svakog eksperimenta površina uzorka je metalografski pripremljena. Nakon brušenja SiC hartijama do finoće 2400 i završnog poliranja dijamantskom suspenzijom, uzorci su očišćeni u ultrazvučnom kupatilu u etanolu u trajanju od 10 min i isprani destilovanom vodom.

Ispitivanja su izvedena u trodelnoj elektrohemijskoj ćeliji, kao što je prikazano na slici **8.5**. Radnu elektrodu je činio uzorak ispitivanih materijala oblika diska koji je bio zatopljen u epoksi smolu tako da je kod CPTi i UFG CPTi površina od $0,5 \text{ cm}^2$ bila izložena rastvoru, dok je kod Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura površina od $0,385 \text{ cm}^2$ bila izložena rastvoru veštačke pljuvačke. Pomoćna elektroda je bila platinska mrežica, dok je referentna elektroda bila zasićena kalomelova elektroda (ZKE).



Slika 8.5 Izgled aparature za elektrohemijska ispitivanja.

Na početku je praćena promena potencijala otvorenog kola (E_{ok}) sa vremenom i po uspostavljanju stacionarnog stanja odnosno stabilnog E_{ok} (nakon 30 min) izvršena su potenciodinamička merenja u opsegu potencijala od -1,0 V do 4,0 V. Anodne i katodne polarizacione krive su snimane pri brzini promene potencijala od 1,0 mV·s⁻¹. Polarizacioni opseg je izabran na osnovu prethodno sprovedenih ispitivanja i objavljenih rezultata [80, 255, 256] sa ciljem upoređivanja korozione stabilnosti ispitivanih materijala sa stabilnošću čistih metala. Sva merenja su ponovljena tri puta. Ekstrapolacijom linearne oblasti anodne krive polarizacije do preseka sa pravom koja predstavlja vrednost korozionog potencijala, E_{kor} , određena je vrednost gustine struje korozije, j_{kor} , odnosno brzina korozije.

Impedansna merenja su izvršena na potencijalu otvorenog kola u opsegu frekvencija od 100 kHz do 10 mHz sa amplitudom naizmeničnog napona od 10 mV. Analiza impedansnih dijagrama u kompleksnoj (Nyquist) i Bode-ovoj ravni sprovedena je pomoću Gamry Instruments Echem Analyst version 5,50 programa za ekstrapolaciju podataka. Pri tome je korišćen model dvoslojnog oksidnog filma, koji je prikazan na slici **8.6a**. Oksidni film se sastoji iz dva sloja i to spoljašnjeg poroznog, za koji se smatra da je odgovoran za biokompatibilnost materijala na bazi titana, i unutrašnjeg kompaktnog barijernog, koji se povezuje sa korozionom otpornošću. Odgovarajuće ekvivalentno električno kolo (EEK) sa dve vremenske konstante prikazano je na slici **8.6b**, gde R_s predstavlja otpornost elektrolita (u ovom slučaju rastvora veštačke pljuvačke), R_p i R_b su otpornosti poroznog i barijernog sloja, respektivno, dok su CPE_p i CPE_b elementi sa konstantnim faznim



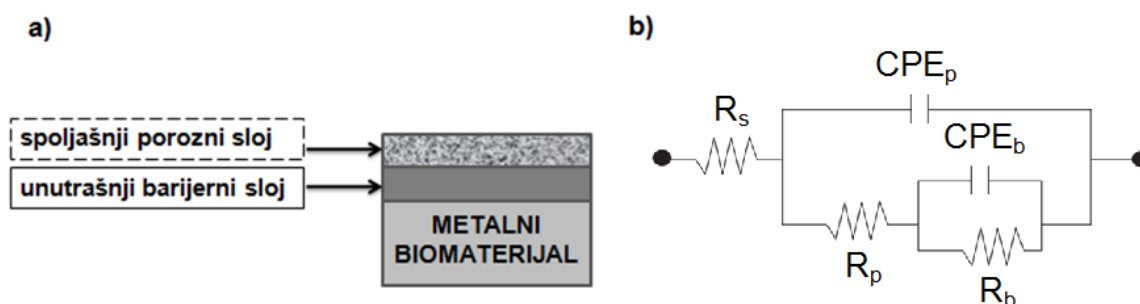
uglom poroznog i barijernog sloja, respektivno. CPE_p i CPE_b zavise od frekvencije i predstavljaju ostale elektrohemijske fenomene na graničnoj površini metal-elektrolit, tj. kapacitivnost barijernog sloja, C_b , kapacitivnost električnog dvojnog sloja, C_d , i difuzione procese. Odnos kapacitivnosti i CPE može da se izrazi preko formula:

$$C_b = (CPE \cdot R_\Omega^{-(n_b-1)})^{1/n_b} \quad (8.2)$$

$$C_p = (CPE \cdot R_\Omega^{-(n_p-1)})^{1/n_p} \quad (8.3)$$

gde je n koeficijent koji ima vrednost u opsegu od 0 do 1. Ako je $n=0$, onda je CPE otpornik. Vrednost od 0,5 predstavlja Warburg-ovu impedanciju, Z_w , koja se odnosi na difuzione procese, dok $n=1$ ukazuje na potpunu kapacitivnost.

Fitovanjem eksperimentalno dobijenih podataka određene su vrednosti otpornosti R , kapacitivnosti C i koeficijenta n za oba sloja nastalih oksidnih filmova. Slaganje eksperimentalno dobijenih rezultata i rezultata dobijenih simulacijom je određeno primenom "Goodness of Fit" parametra koji je sličan Boukamp-ovom χ^2 i izražava se kao odnos χ^2 i broja tačaka.



Slika 8.6 Shematski prikaz dvoslojnog oksidnog filma na površini metalnog biomaterijala (a); EEK za dvoslojni film u rastvoru veštačke pljuvačke (b).



8.5. ISPITIVANJA BIOKOMPATIBILNOSTI

8.5.1. Čelijske linije

Ispitivanja biokompatibilnosti su izvršena na ćelijskim linijama animalnih fibroblasta (L929) i humanih fibroblasta pluća (MRC-5). L929 i MRC-5 ćelije su rasle zalepljene za podlogu suda (25 cm^3 , *Costar*) u medijumu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco-BRL) sa $4,5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ glukoze i 10% FCS (Fetal Calf Serum, Sigma Aldrich). Medijum je sadržao antibiotike: penicilin $100 \text{ IJ}\cdot\text{ml}^{-1}$ i streptomycin $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Čelijske linije su održavane pod standardnim uslovima na temperaturi od 37°C u atmosferi zasićenoj vlagom sa 5% CO_2 (Heraeus, Nemačka). Svaka ćelijska linija je presađivana dva puta nedeljno, a u eksperimentima je korišćena u logaritamskoj fazi rasta između trećeg i desetog presađivanja. U eksperimentima su korišćene samo vijabilne ćelije. Broj ćelija i njihova vijabilnost određeni su testom odbacivanja boje sa 0,1% tripan plavim. Vijabilnost ćelija korišćenih u eksperimentu je bila veća od 90%.

8.5.2. Kolorimetrijski test sa tetrazolijum solima (MTT)

Ćelije su sakupljene u logaritamskoj fazi rasta, tripsinizirane, resuspendovane i izbrojane u 0,1% tripan plavom. Vijabilne ćelije su zatim posejane na površini ispitivanih materijala u Petri šoljama (50 mm, Center well, Falcon) u koncentraciji $2\cdot 10^5/1 \text{ ml}$ medijuma. Kontrolni uzorci nisu sadržali ispitivane materijale. Petri šolje sa zasejanim ćelijama su inkubirane u termostatu na 37°C , sa 5% CO_2 narednih 48h. Po isteku inkubacije izvršeno je presejavanje ćelija sa ispitivanih materijala u svež medijum. Vijabilne ćelije su posejane ($5\cdot 10^3/100\mu\text{l}$) u kvadriplikatu u mikrotitar ploče sa 96 otvora. Ploče sa zasejanim ćelijama ostavljene su u termostatu na 37°C , sa 5% CO_2 u toku 48h, 72h i 96h. Rastvor MTT (metiltiazoldifenil-tetrazolium bromid, Sigma Aldrich) pripremljen neposredno pre dodavanja, dodavan je u sve otvore na ploči u zapremini od $10 \mu\text{l}$ po otvoru i inkubacija je nastavljena naredna 3h (u termostatu na 37°C , sa 5% CO_2). Po isteku 3h u svaki otvor je dodato po $100 \mu\text{l}$ $0,04 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ HCl u izopropanolu. Apsorbanca je očitana odmah po isteku inkubacije na čitaču za mikrotitar ploče Multiskan MCC/340, LabSystems, Finska, na talasnoj dužini od 540 nm i referentnoj od 690



nm. Otvori na ploči sa medijumom i MTT rastvorom, bez ćelija, služila su kao slepa proba ("blank"). Shematski prikaz toka MTT testa dat je na slici 8.7.



Slika 8.7 Shematski prikaz toka MTT testa.

Fracija preživelih ćelija, K , je izražena u procentima prema formuli:

$$K = (N_S/N_K) \cdot 100 \quad (8.4)$$

gde je: N_k - broj ćelija kontrolnih uzoraka, a N_s - broj ćelija uzoraka sa ispitivanim materijalom.

Citotoksičnost je izražena u procentima prema formuli:

$$CI = (1 - A_S/A_K) \cdot 100 \quad (8.5)$$

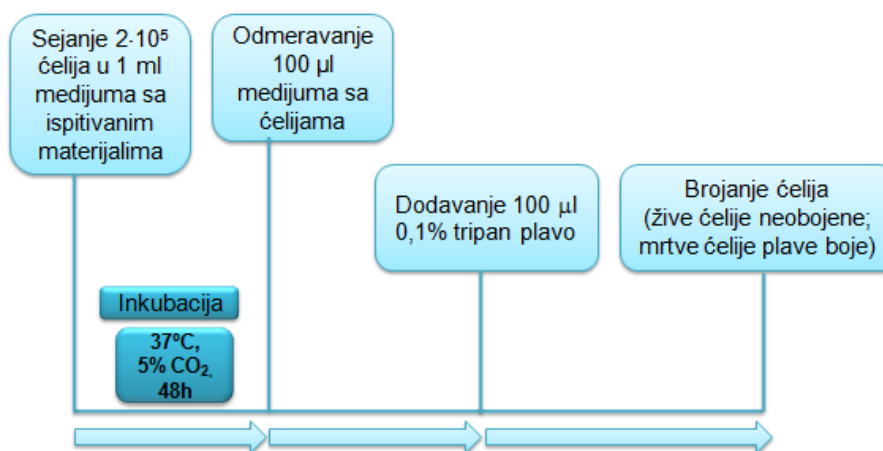
gde je: A_k - apsorbanca kontrolnih uzoraka, a A_s - apsorbanca uzoraka sa ispitivanim materijalom.

8.5.3. Test odbacivanja boje (DET)

Ćelije su sakupljene u logaritamskoj fazi rasta, tripsinizirane, resuspendovane i izbrojane u 0,1% tripan plavom. Vijabilne ćelije su zatim posejane na površinu ispitivanih materijala u Petri šoljama (Center well, Falcon) u koncentraciji $2 \cdot 10^5/1$ ml medijuma. Kontrolni uzorci nisu sadržali ispitivane materijale. Petri šolje sa zasejanim ćelijama su inkubirane u termostatu na 37°C , sa 5% CO_2 narednih 48h. Po isteku inkubacije ćelije su izbrojane pomoću invertnog mikroskopa u komoricama za brojanje. Korišćena je *Neubauer*-ova komorica gde se ćelije broje u četiri kvadrata. Svaki kvadrat je podeljen na 16 manjih kvadrata tako da ih ima ukupno 64. Nakon toga je uzeto 100 µl ćelija i tome dodato 100 µl rastvora boje 0,1% tripan plavo. Nakon intenzivnog mućkanja, nekoliko kapi je naneto na oba



polja komorice za brojanje. Tripan plavo boji mrtve ćelije, dok žive ćelije ostaju neobojene. Shematski prikaz toka DET testa je dat na slici 8.8.



Slika 8.8 Shematski prikaz toka DET testa.

Broj ćelija u 1 ml suspenzije je izračunat prema formuli:

$$X = x \cdot 10 \cdot 2 \cdot 1000 \quad (8.6)$$

gde je:

- 10 - dubina komore
- 2 - faktor dilucije
- 1000 - zapreminski koeficijent
- X - broj ćelija u 16 kvadrata (prosečan broj ćelija u 4·16 kvadrata)

Frakcija preživelih ćelija je izražena prema formuli 8.4, dok je citotoksičnost izražena prema formuli:

$$CI = (1 - N_S/N_K) \cdot 100 \quad (8.7)$$

8.5.4. Agar difuzioni test (ADT)

Za potrebe ADT korišćen je BME (Basal Medium Eagle's) rastvor koji sadrži 2,2 g·l⁻¹ natrijum bikarbonata, 3,0 g·l⁻¹ HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansulfonska kiselina) (Sigma Aldrich) i 50 ml·l⁻¹ seruma. Medijum je sterilisan filtriranjem. Pripremljen je 3% agar u destilovanoj vodi koji je sterilisan autoklaviranjem. Osnovna boja je pripremljena rastvaranjem stok solucije 1% vodenog rastvora neutral crvene (Merck) u 1/100 ml·l⁻¹ slanog fosfatnog pufera neposredno pre korišćenja.

Korišćene su ćelije u logaritamskoj fazi rasta. Pripremljeno je po 10 ml ćelijske suspenzije (2·10⁵ na 1 ml) u Petri šoljama (100 mm, Center well, Falcon) i



inkubirano na 37°C, sa 5% CO₂, 24h. Sterilni agar je otopljen na 100°C u vodenom kupatilu, a zatim ohlađen na 48°C. Agar je pomešan sa dva puta koncentrovanim, sveže pripremljenim medijumom (1:1) i zagrejan na 48°C. Aspiriran je medijum iz svake Petri šolje i zamenjen je sa 10 ml sveže mešavine agar/medijum. Agar je ostavljen da očvrstne na sobnoj temperaturi (oko 30 min), a zatim je dodato 10 ml rastvora boje NR i ostavljeno 15-20 min. Višak rastvora NR je odstranjen. Petri šolja je zaštićena od svetla da se, u prisustvu rastvora NR, ćelije ne bi oštetile. U svaki sud je postavljeno po dva uzorka ispitivanog materijala i kontrole, pazeći da su uzorci udaljeni jedan od drugog i od zidova Petri šolje. Inkubacija je vršena na 37°C, sa 5% CO₂, 24h. Materijali su ispitani u kvadrilikatu. Obezbojenost zone oko testiranog materijala i kontrole je procenjena pomoću invertnog mikroskopa sa kalibrisanom pregradom. Indeks obezbojavanja (*eng.* Decolorization Index, DI) i indeks liziranja (*eng.* Lysis Index, LI) su određeni za svaki uzorak. Rezultati se izražavaju prema formuli:

$$\text{Ćelijski odgovor} = DI/LI \quad (8.8)$$

8.5.5. Morfologija ćelija

Ćelije su sakupljene u logaritamskoj fazi rasta, tripsinizirane, resuspendovane i izbrojane u 0,1% tripan plavom. Vijabilne ćelije su posejane na površinu ispitivanih materijala u Petri šoljama (60 x 15 mm, Center well, Falcon) u koncentraciji 1·10⁵ na 6 ml medijuma 10 % DMEM. Petri šolje sa zasejanim ćelijama su ostavljene u termostatu na 37°C, sa 5% CO₂, narednih 48h. Nakon isteka perioda inkubacije ćelije su slikane Canon 1100D kamerom koja je povezana sa invertnim mikroskopom Reichert-Jung Biostar 1820 E pri uvećanju 20x i 40x.

Nakon isteka perioda inkubacije, za SEM analizu ćelije su fiksirane 2,5% rastvorom glutaraldehida (Sigma Aldrich) 48h, a zatim su dehidratirane korišćenjem serije rastvora: (1) 3% sirćetna kiselina; (2) 3% sirćetna kiselina i 25% etanol u odnosu 1:1; (3) 3% sirćetna kiselina i 50% etanol u odnosu 1:1 i (4) 70% etanol. Uzorci su ispirani svakim rastvorom u trajanju od 15 min i čuvani u 70% etanolu do SEM analize. SEM analiza je sprovedena korišćenjem SEM visoke rezolucije TESCAN MIRA 3 XMU pri radnom naponu od 20 keV.



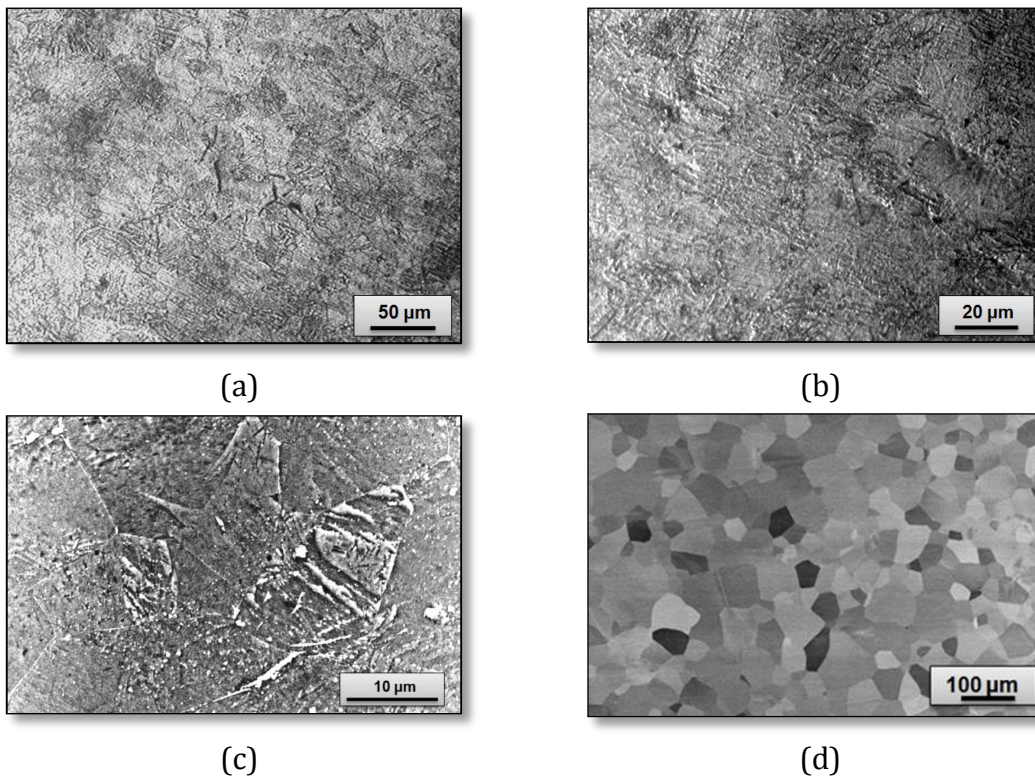
9. REZULTATI

U cilju ispitivanja mogućnosti dobijanja metalnih materijala na bazi titana sa poboljšanim bio-mehaničkim karakteristikama i njihovog korišćenja za izradu dentalnih implanata, materijali su podvrgnuti HPT postupku obrade. Step en usitnjenosti mikrostrukture zavisi od mnogobrojnih faktora, kao što su sa jedne strane karakteristike materijala i sa druge strane procesni parametri HPT postupka. U radu je izvršena karakterizacija obe grupe ispitivanih materijala, kako materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, tako i materijala sitnozrne mikrostrukture dobijene HPT postupkom. Obe grupe materijala su podvrgnute sveobuhvatnim ispitivanjima korozi one postojanosti, odnosno ispitivanjima otpuštanja jona i elektrohemij skim ispitivanjima u uslovima koji simuliraju uslove u usnoj duplji, i ispitivanjima biokompatibilnosti, kako bi se uporedile karakteristike i procenila mogućnost korišćenja materijala dobijenih savremenim HPT postupkom za izradu dentalnih implanata.

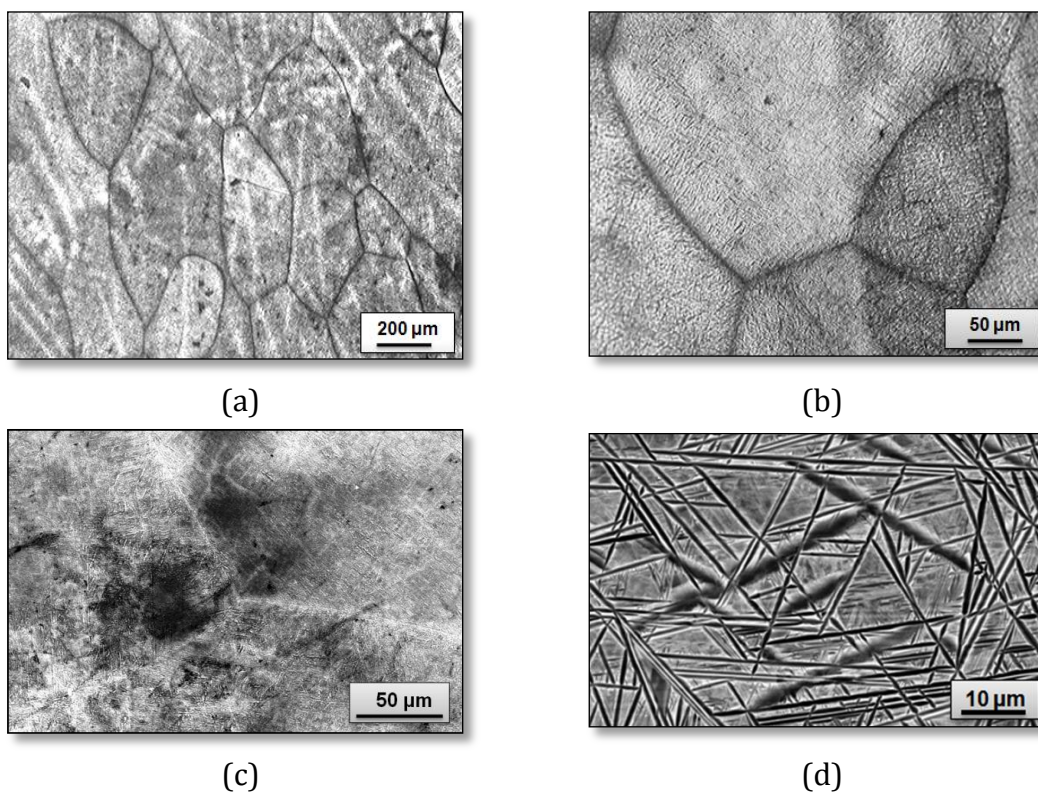
9.1. MATERIJALI DOBIJENI KONVENCIONALNIM POSTUPCIMA IZRADE

9.1.1. Mikrostrukturne karakteristike

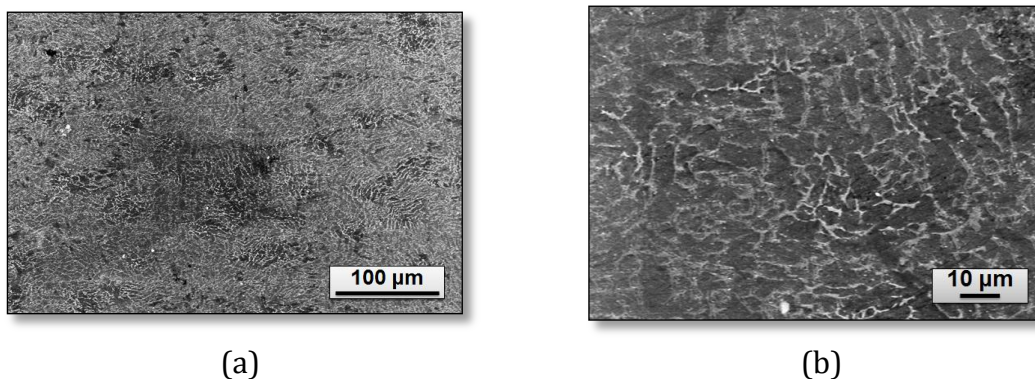
Karakteristični izgled mikrostrukture CPTi, Ti-13Nb-13Zr i Ti-6Al-4V legura dobijenih konvencionalnim postupcima izrade prikazan je na slikama **9.1-9.3**.



Slika 9.1 Mikrostruktura CPTi: SM (a), (b); SEM, SE (c) i SEM, BSE (d).



Slika 9.2 Mikrostruktura livene Ti-13Nb-13Zr legure: SM (a), (b); SEM, SE (c) i SEM, BSE (d).

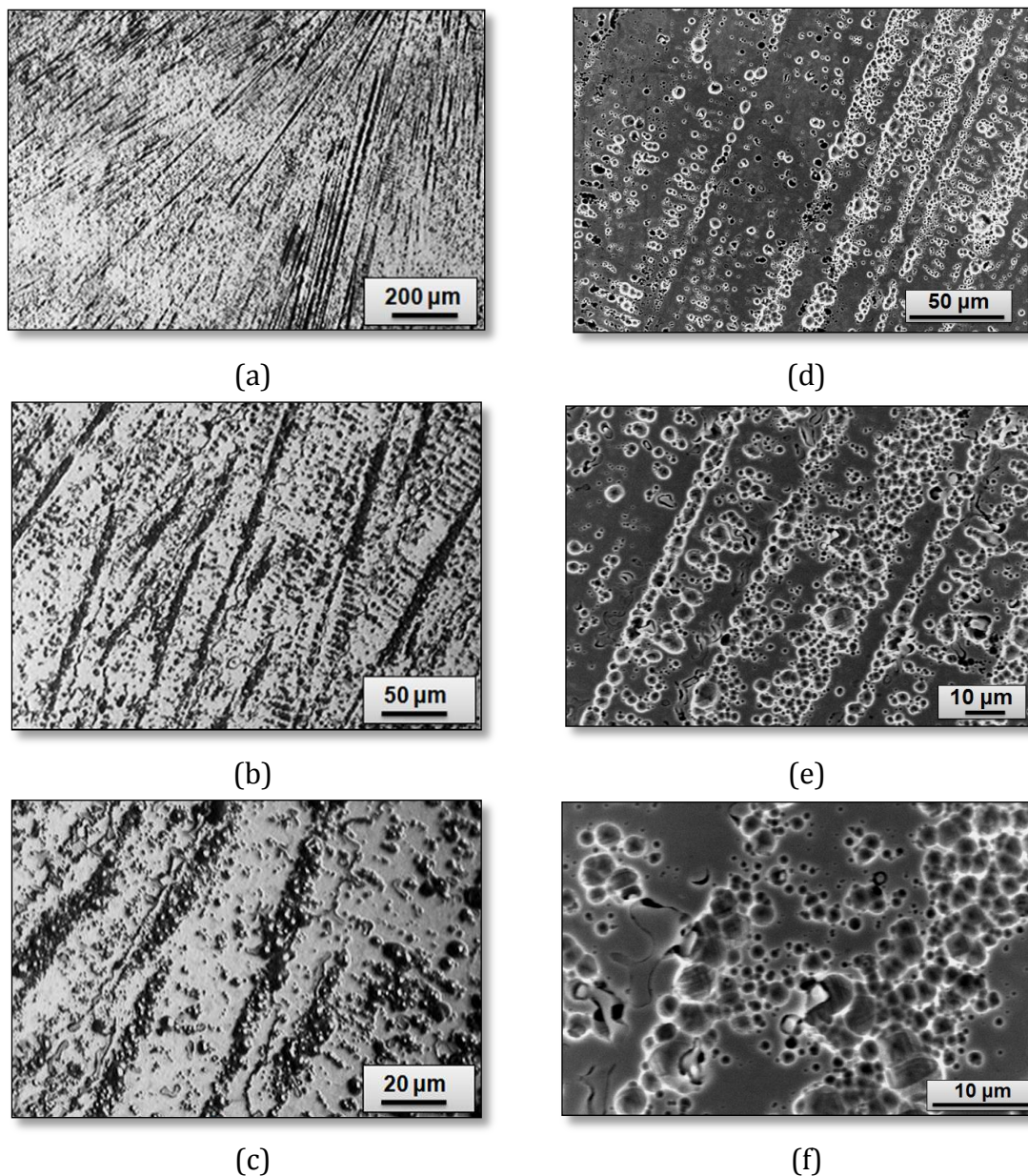


Slika 9.3 Mikrostruktura livene Ti-6Al-4V legure: SM (a) i SEM (b).

SM i SEM snimci, prikazani na slici 9.1, jasno pokazuju postojanje ravnoosnih (ekviaksijalnih) α zrna u mikrostrukturi CPTi. Za razliku od CPTi koji je tipičan jednofazni materijal, kod Ti-13Nb-13Zr legure u livenom stanju se može primetiti postojanje dve faze: α i β , pri čemu u mikrostrukturi preovladava acikularna (igličasta) α faza, kao što je prikazano na slici 9.2. Mikrostruktura Ti-6Al-4V legure, prikazana na slici 9.3, pokazuje prisustvo zaobljenih zrna α faze u osnovi β faze.



U grupi materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, kao materijal za poređenje CPTi i legura na bazi titana korišćena je livena Co-Cr-Mo legura komercijalnog naziva *Wironit*®, čija je mikrostruktura prikazana na slici 9.4.



Slika 9.4 Mikrostruktura livene *Wironit*® legure: SM (a, b, c) i SEM (d, e, f).

Mikrostruktura Co-Cr-Mo legure se sastoji od dendrita i interdendritnih oblasti. Dendriti se vide kao tamni delovi na SM i svetli delovi na SEM mikrofotografijama, dok su interdendritne oblasti svetle na SM i tamne na SEM mikrofotografijama.



9.1.2. Tvrdoća

Rezultati merenja tvrdoće materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade prikazani su u tabeli **T.9.1**.

Tabela T.9.1 Rezultati merenja tvrdoće ispitivanih materijala.

| Uzorak | Redni broj merenja | Dijagonala otiska d_1 [μm] | Dijagonala otiska d_2 [μm] | Tvrdoća [HV] | Srednja vrednost tvrdoće [HV] | SD* [HV] |
|-----------------------------------|--------------------|---|---|--------------|-------------------------------|-------------|
| CPTi-2 | 1 | 52,96 | 56,16 | 186,9 | 181,2 | 6,4 |
| | 2 | 52,96 | 57,46 | 182,5 | | |
| | 3 | 52,64 | 60,38 | 174,2 | | |
| Legura Ti-13Nb-13Zr | 1 | 50,04 | 50,32 | 221,0 | 227,4 | 6,0 |
| | 2 | 49,39 | 49,35 | 228,3 | | |
| | 3 | 49,39 | 48,37 | 232,8 | | |
| Legura Ti-6Al-4V | 1 | 42,56 | 41,23 | 316,9 | 316,1 | 3,7 |
| | 2 | 42,89 | 41,55 | 312,1 | | |
| | 3 | 40,61 | 42,85 | 319,4 | | |
| Legura Co-Cr-Mo (Wironit®) | 1 | 42,56 | 40,91 | 319,4 | 287,6 | 36,7 |
| | 2 | 42,56 | 44,15 | 295,9 | | |
| | 3 | 47,11 | 47,72 | 247,4 | | |

*SD – standardna devijacija

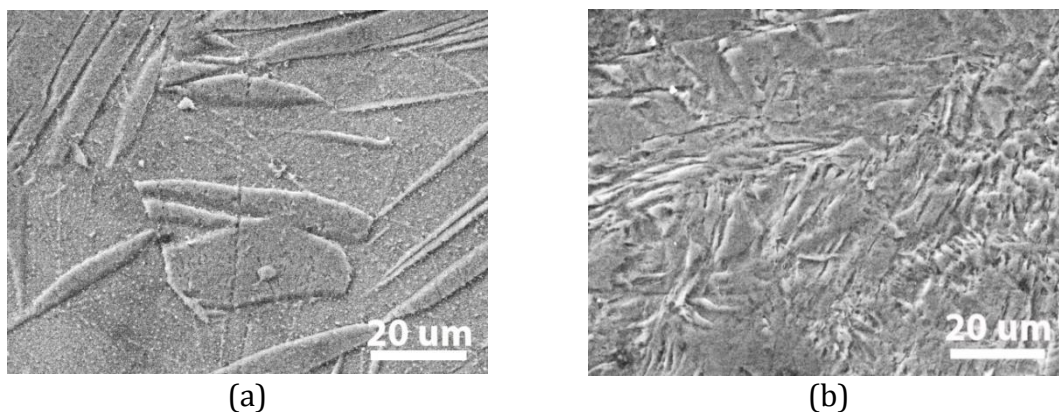
Materijali koji imaju veću vrednost tvrdoće su poželjniji za izradu implanata, pa se veoma često, kao prednost Co-Cr-Mo legura za primenu u ljudskom organizmu, posebno na mestima koja su izložena velikim opterećenjima, u poređenju sa CPTi i legurama na bazi titana, navodi i veća vrednost tvrdoće. Uporednim ispitivanjima izvedenim u okviru doktorske disertacije pokazano je da je vrednost tvrdoće *Wironit®* legure 1,6 i 1,3 puta veća od vrednosti tvrdoće dobijene za CPTi i Ti-13Nb-13Zr leguru, respektivno, dok je za 28,5 HV manja od tvrdoće Ti-6Al-4V legure. Pored toga, dobijeni rezultati pokazuju da je tvrdoća Ti-13Nb-13Zr legure 1,3 puta veća od tvrdoće CPTi, dok je tvrdoća Ti-6Al-4V legure veća 1,7 puta. Veća vrednost tvrdoće legura titana u poređenju sa CPTi je jedan od razloga daljeg razvoja CPTi. Dodatno, male vrednosti standardne devijacije tvrdoće za CPTi i legure Ti-13Nb-13Zr i Ti-6Al-4V ukazuju na homogenu strukturu navedenih materijala.



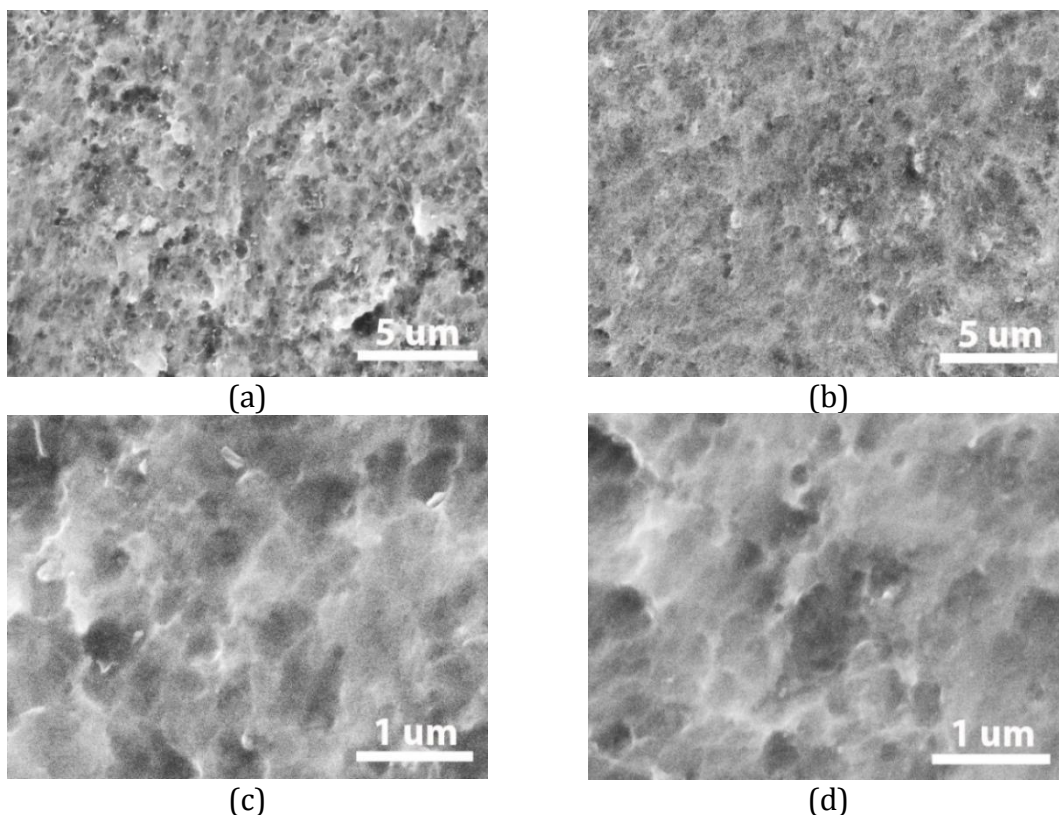
9.2. MATERIJALI DOBIJENI HPT POSTUPKOM

9.2.1. Mikrostrukturne karakteristike

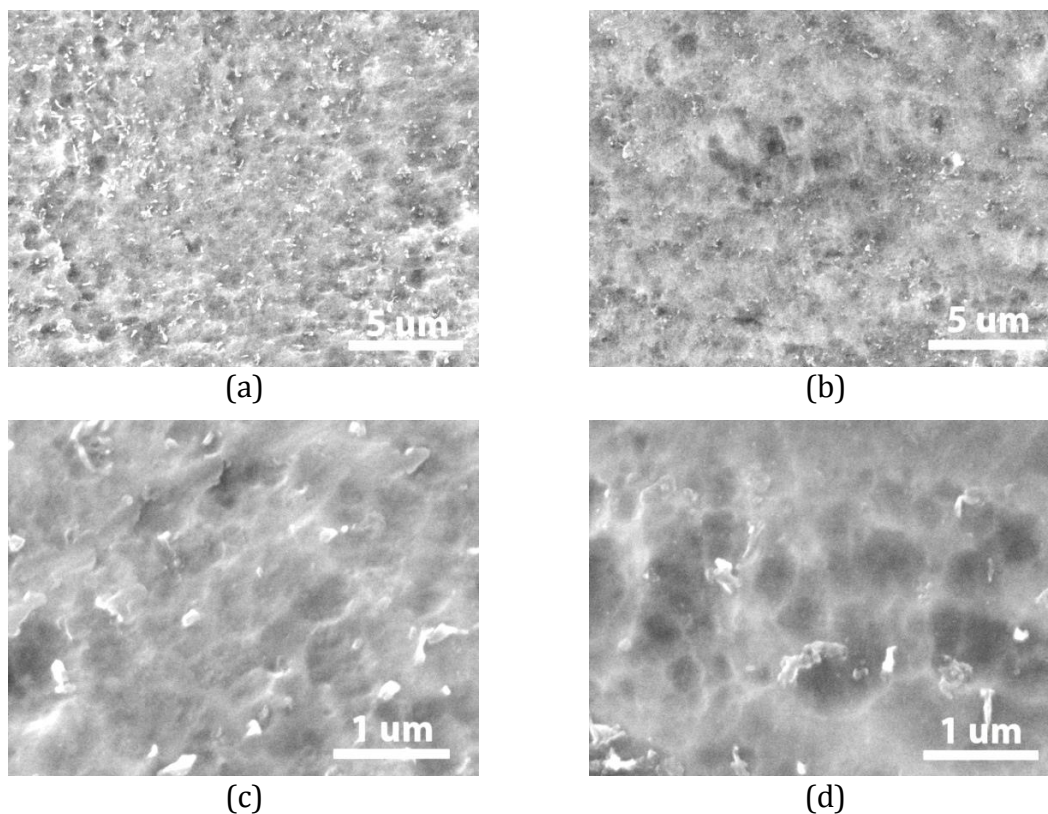
Mikrostruktura CPTi podvrgnutog HPT postupku pri različitom broju obrtaja, n , prikazana je na slikama 9.5-9.9. S obzirom na literaturno dostupnu činjenicu da stepen deformacije zavisi od prečnika uzorka, odnosno da je deformacija najmanja u centru i da se povećava ka ivici uzorka, urađena je SEM analiza mikrostrukture materijala u centru i na ivici svakog uzorka.



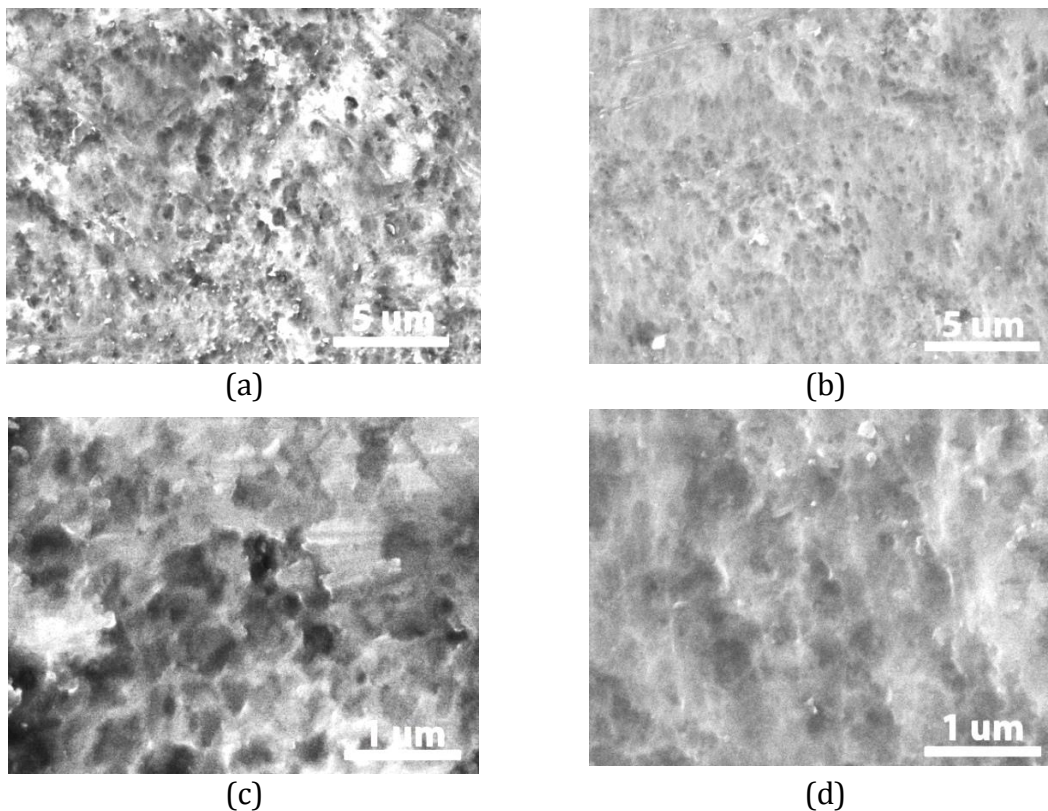
Slika 9.5 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG CPTi za $n=0$: centar (a) i ivica (b) uzorka.



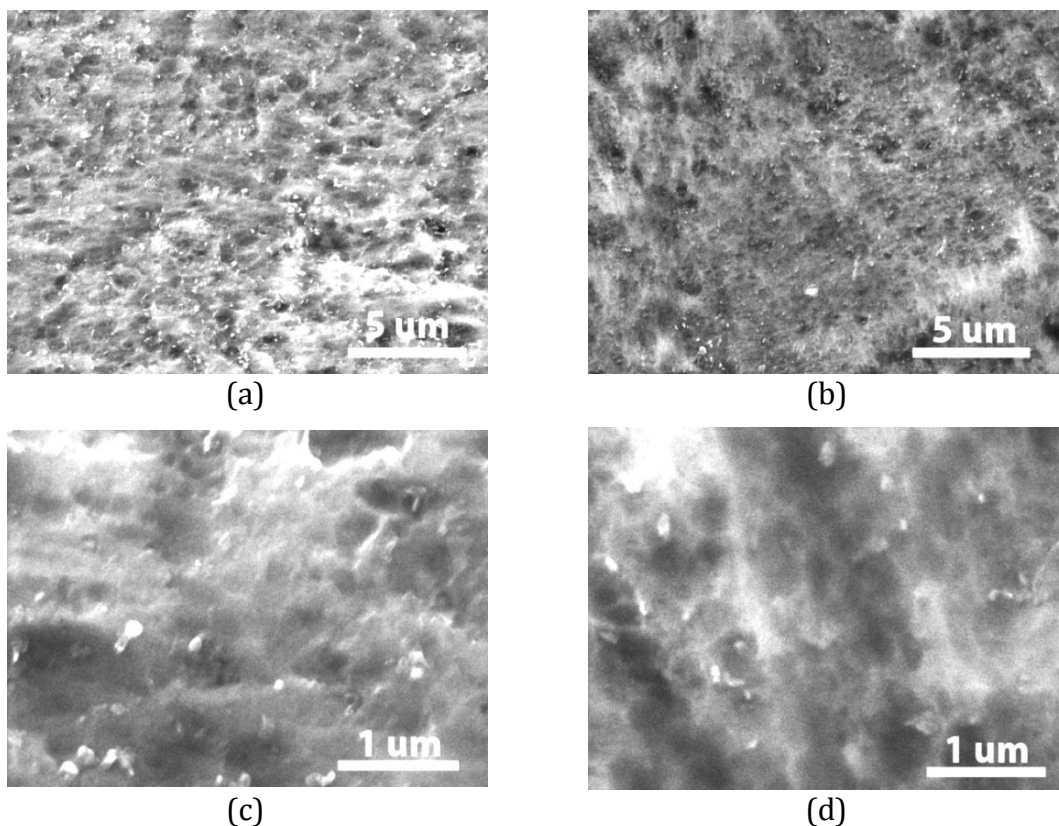
Slika 9.6 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG CPTi za $n=1/4$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



Slika 9.7 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG CPTi za $n=1$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



Slika 9.8 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG CPTi za $n=5$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



Slika 9.9 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG CPTi za $n=11$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.

Kao što se na slici 9.5 može primetiti, primenom visokog pritiska bez uvijanja (za $n=0$) dolazi do promene mikrostrukture CPTi. Zapravo, delovanjem pritiska od 7,8 GPa na sobnoj temperaturi dolazi do promene oblika zrna, odnosno α zrna koja su u inicijalnoj strukturi okarakterisana kao ravnoosna postaju izduženija. Kod uzoraka CPTi podvrgnutih HPT postupku sa različitim brojem obrtaja primećuje se postojanje globularnih α zrna, tako da primena HPT postupka nesumnjivo dovodi do promene mikrostrukture CPTi. Pored toga, kada se uporede SEM mikrofotografije centra i ivice uzoraka CPTi podvrgnutih HPT postupku sa različitim brojem obrtaja ($\frac{1}{4}$, 1, 5 i 11) primećuje se da se veća usitnjenost zrna javlja na ivici u poređenju sa središnjim delom uzoraka. Ovaj trend smanjivanja veličine zrna od centra ka ivici uzoraka primećen je kod svih UFG CPTi uzoraka dobijenih HPT postupkom pri različitom broju obrtaja i u skladu je sa jednačinom 7.1. Naime, sa povećanjem rastojanja od centra uzorka deformacija se povećava, a veća vrednost deformacije je u vezi sa formiranjem sitnijih zrna.



Osim značajnog uticaja vrednosti rastojanja od centra uzorka na veličinu zrna, rezultati pokazuju i uticaj broja obrtaja na stepen usitnjenosti mikrostrukture. Zapravo, sa povećanjem broja obrtaja HPT postupka od $\frac{1}{4}$ do 5, veličina zrna se smanjuje. Međutim, upoređivanjem strukture CPTi za $n=5$ (slika 9.8) i CPTi za $n=11$ (slika 9.9) jasno se vidi da su kod uzorka kod koga je primenjeno 11 obrtaja zrna veće veličine u poređenju sa zrnima kod uzorka kod koga je primenjeno 5 obrtaja. Prosečna veličina zrna ispitivanih UFG CPTi materijala, u centru, na ivici i na celom uzorku, prikazana je u tabeli T.9.2.

Tabela T.9.2 Prosečna veličina zrna UFG CPTi.

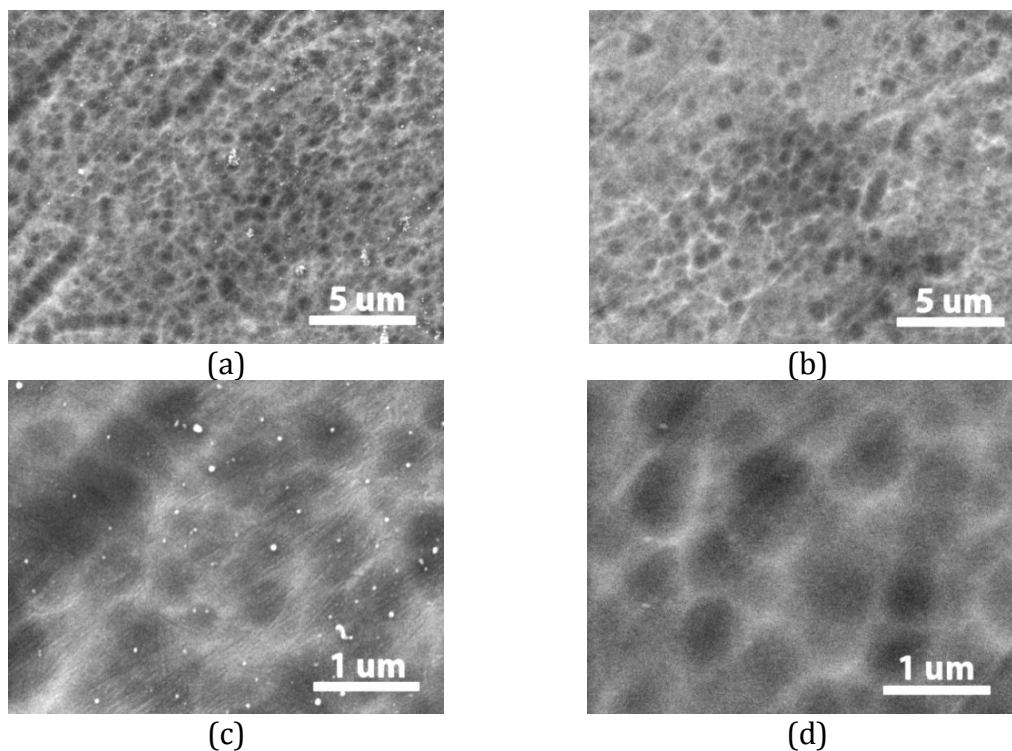
| Broj obrtaja | | $\frac{1}{4}$ | 1 | 5 | 11 |
|--|----------------------|---------------|--------------|-------------|--------------|
| Prosečna veličina zrna, VZ_{pros} [nm] | Centar | 456 | 410 | 281 | 470 |
| | Ivica | 383 | 370 | 269 | 410 |
| | Ceo uzorak \pm SD* | 420 \pm 52 | 390 \pm 28 | 275 \pm 8 | 440 \pm 42 |

*SD – standardna devijacija

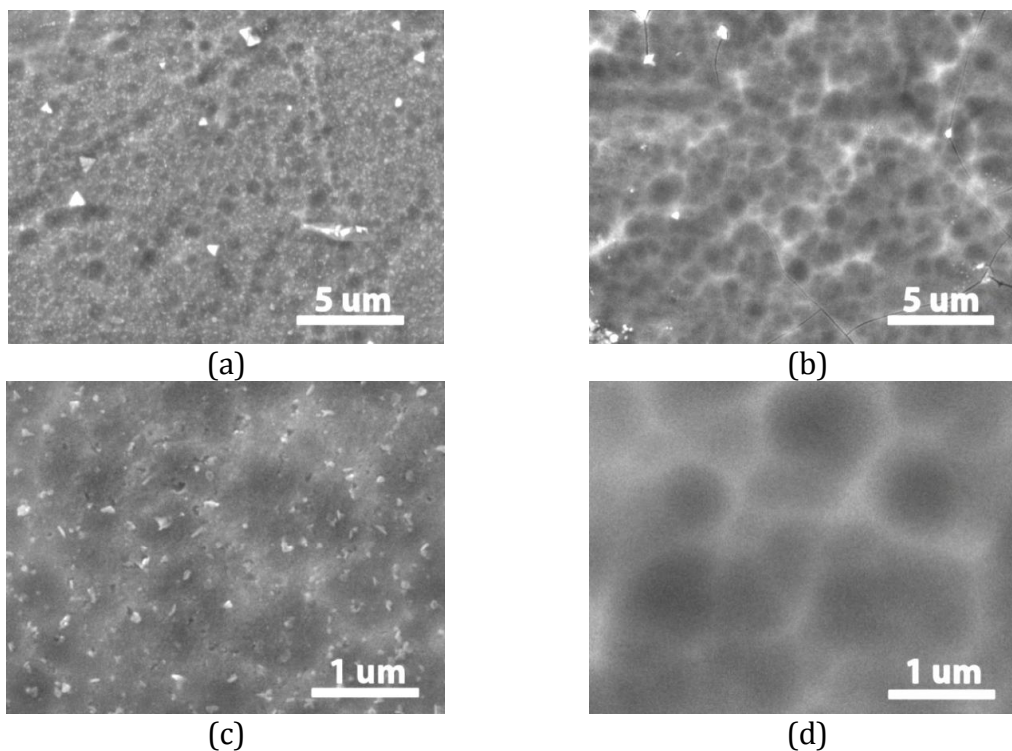
Povećanjem broja obrtaja sa $\frac{1}{4}$ na 1, prosečna veličina zrna se smanjuje za 30 nm, dok dalje povećanje broja obrtaja do 5, dovodi do smanjenja prosečne veličine zrna za još 115 nm. Dalje uvođenje deformacije ne dovodi do usitnjavanja mikrostrukture, već se kod uzorka dobijenog na 11 obrtaja prosečna veličina zrna (440 nm) povećava 1,6 puta u poređenju sa uzorkom koji je podvrgnut HPT postupku na 5 obrtaja (275 nm). Osim toga, vrednost standardne devijacije je najmanja za uzorak dobijen primenom 5 rotacija što pokazuje da je dobijena mikrostruktura HPT obrađenog materijala veoma homogena.



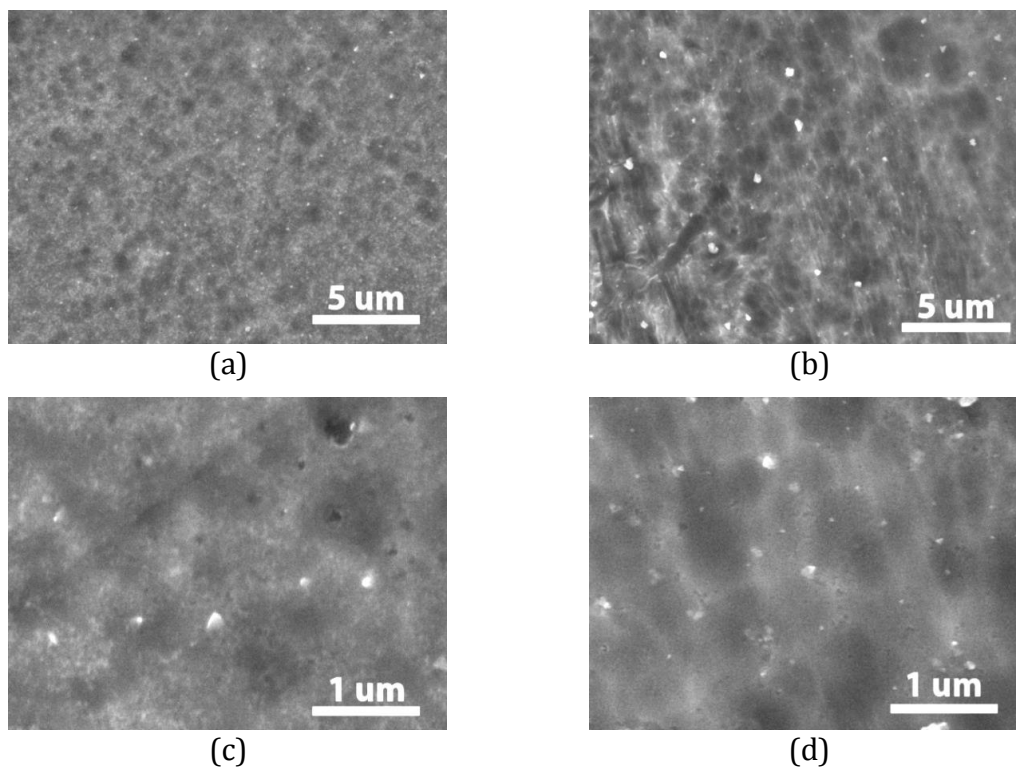
Mikrostruktura Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnute HPT postupku pri različitom broju obrtaja prikazana je na slikama 9.10-9.14.



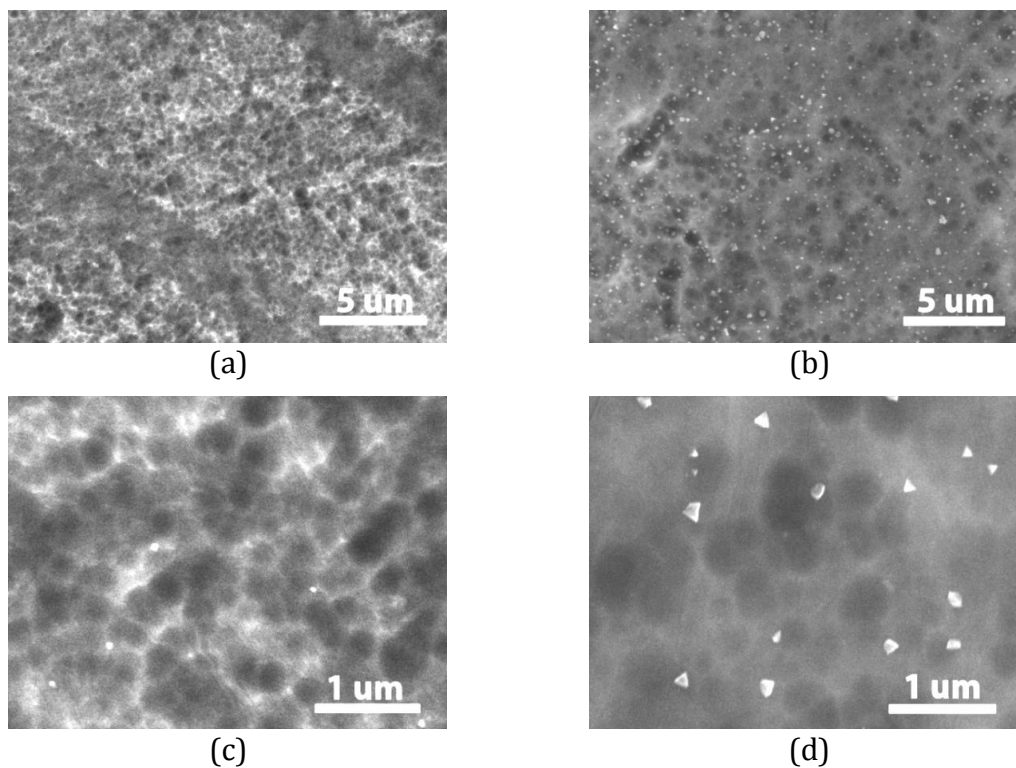
Slika 9.10 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG Ti-13Nb-13Zr legure za $n=0$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



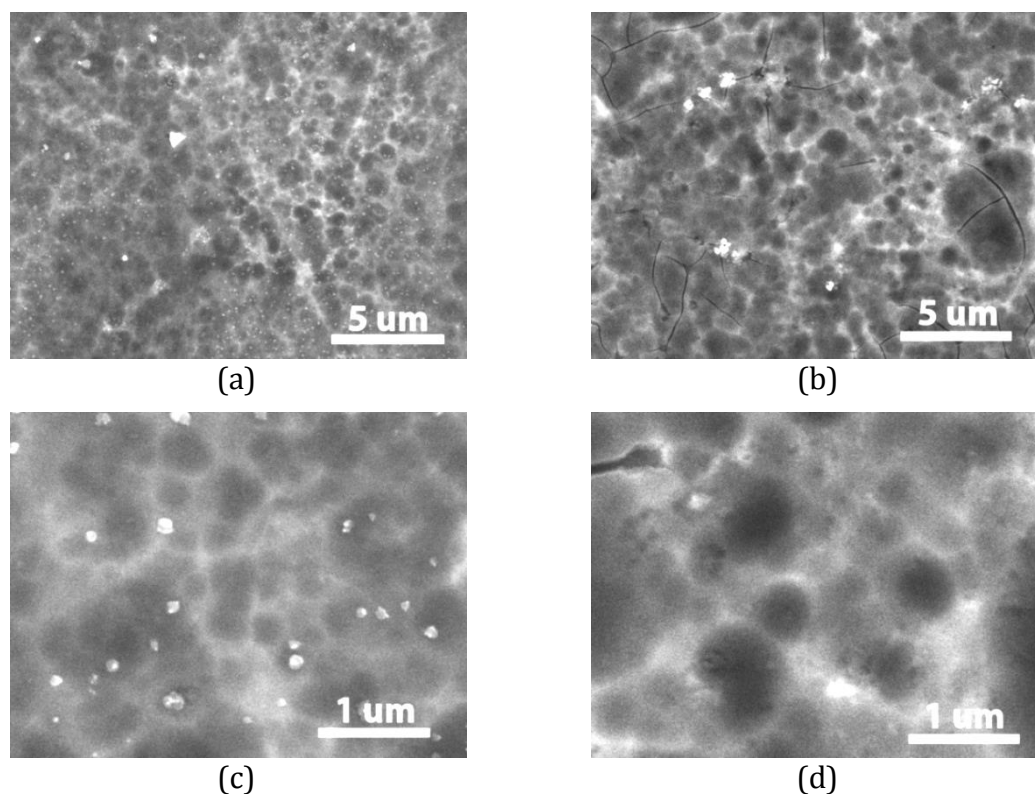
Slika 9.11 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG Ti-13Nb-13Zr legure za $n=1/4$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



Slika 9.12 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG Ti-13Nb-13Zr legure za $n=1$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



Slika 9.13 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG Ti-13Nb-13Zr legure za $n=5$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.



Slika 9.14 SEM mikrofotografije mikrostrukture UFG Ti-13Nb-13Zr legure za $n=11$: centar (a), (c) i ivica (b), (d) uzorka.

Primena HPT postupka kod Ti-13Nb-13Zr legure dovodi do transformacije acikularnih α zrna prisutnih u inicijalnoj strukturi u globularna α zrna koja su dominantna u strukturi kod svih ispitivanih uzoraka UFG Ti-13Nb-13Zr legure. Mikrostruktura UFG CPTi je finija na ivici u poređenju sa središnjim delom uzoraka, dok se kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure javlja potpuno suprotan trend, odnosno sitnija zrna se uočavaju u centru uzoraka a ne na ivici. Izuzetak predstavlja uzorak UFG Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnut HPT postupku za $n=1$ kod koga su zrna za oko 40 nm sitnija na ivici u poređenju sa središnjim delom. Prosečna veličina zrna ispitivanih uzoraka UFG Ti-13Nb-13Zr legure, u centru, na ivici i na celom uzorku, prikazana je u tabeli **T.9.3**.

Tabela T.9.3 Prosečna veličina zrna UFG Ti-13Nb-13Zr legure.

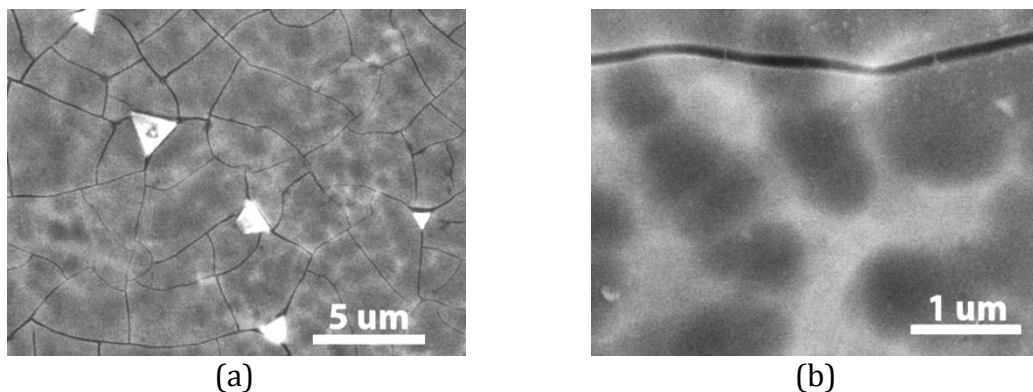
| Broj obrtaja | | ¼ | 1 | 5 | 11 |
|--|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Prosečna veličina zrna, VZ_{pros} [nm] | Centar | 560 | 550 | 320 | 350 |
| | Ivica | 580 | 510 | 340 | 440 |
| | Ceo uzorak \pm SD* | 570 \pm 35 | 530 \pm 21 | 330 \pm 14 | 395 \pm 64 |

*SD – standardna devijacija



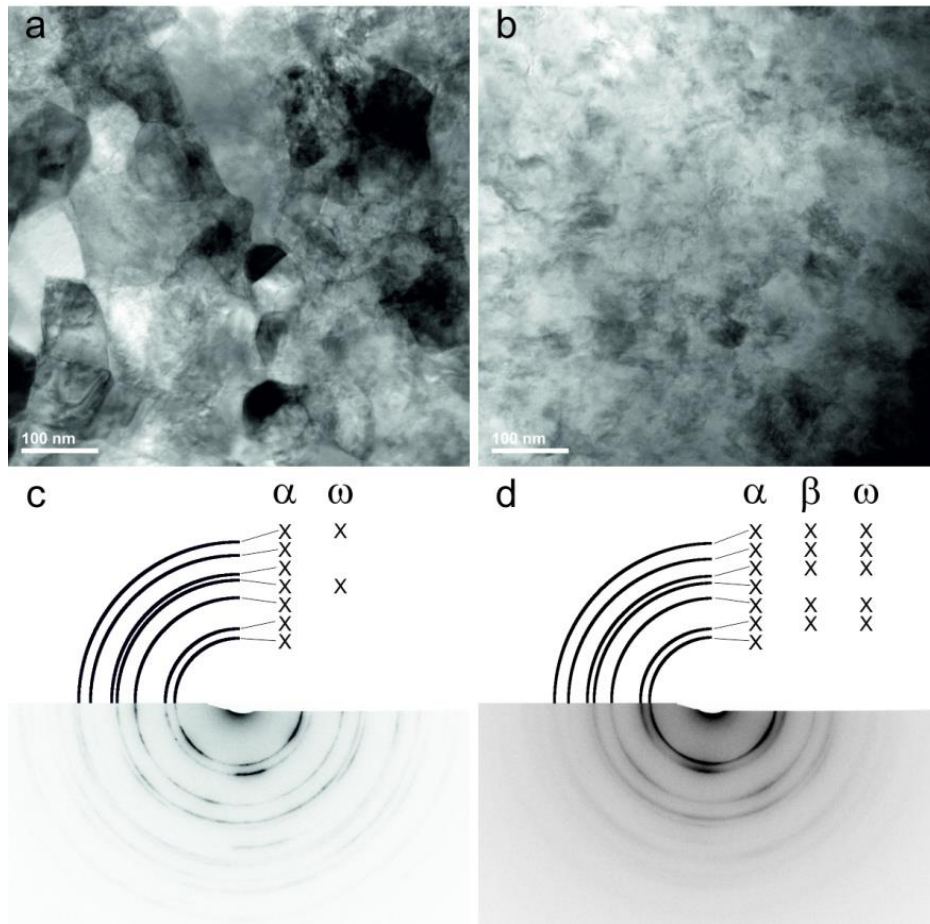
Sa povećanjem broja obrtaja od $\frac{1}{4}$ preko 1 do 5, prosečna veličina zrna se smanjuje, kako u centru, tako i na ivici uzoraka. Prosečna veličina zrna na celom uzorku za $n=\frac{1}{4}$ iznosi 570 nm i povećanjem broja obrtaja na 1 i na 5, prosečna veličina zrna se smanjuje za 40 nm i za još 200 nm, dok se kod uzorka kod koga je primenjeno 11 rotacija detektuju za 65 nm veća zrna (395 nm) u poređenju sa zrnima uzorka podvrgnutom HPT postupku za 5 rotacija (330 nm). Prema tome, i kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure se primećuje isti trend kao i kod UFG CPTi, odnosno povećanje broja obrtaja do određene vrednosti dovodi do smanjenja veličine zrna, a nakon postizanja zasićenja, dalje povećanje deformacije povećanjem broja obrtaja ne dovodi do daljeg usitnjavanja mikrostrukture. Jasno se vidi da se najmanja veličina zrna dobija kod uzorka UFG Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnute HPT postupku na 5 obrtaja kod koje je pregledom SEM mikrofotografija uočeno zrno najmanje veličine od 220 nm. Pored toga, najveće odstupanje od prosečne veličine zrna se javlja kod uzorka UFG Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnute HPT postupku za $n=11$ (oko 16%), dok se najmanje odstupanje javlja kod uzorka koji je deformisan primenom 5 rotacija (oko 4%). Mala vrednost standardne devijacije kod uzorka za $n=5$ se povezuje sa homogenom raspodelom veličine zrna odnosno homogenom mikrostrukturom navedenog materijala.

Detaljnou analizom SEM mikrofotografija svih uzoraka snimljenih na više različitih mesta može se zaključiti da je najhomogenija mikrostruktura materijala dobijena tretiranjem uzoraka HPT postupkom na 5 obrtaja, kako UFG CPTi, tako i UFG Ti-13Nb-13Zr legure. To u stvari pokazuje da je kod navedenih uzoraka primenom HPT postupka postignuta najuniformnija raspodela veličine zrna. Upravo iz tih razloga, za dalja ispitivanja su izabrani uzorci materijala dobijeni HPT postupkom na 5 obrtaja. Pored toga, od značaja je pomenuti da obradom materijala HPT postupkom na 11 obrtaja, osim što dolazi do povećanja prosečne veličine zrna, dolazi i do pojave intenzivnog oštećenja materijala, odnosno do pojave pukotina, što se može videti na slici **9.15**.



Slika 9.15 Oštećenje Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnute HPT postupku na $n=11$.

U cilju boljeg sagledavanja mikrostrukture izvršena je TEM analiza uzoraka podvrgnutih HPT postupku obrade na 5 obrtaja, a koji su korišćeni u daljim ispitivanjima. Slike **9.16a** i **9.16b** pokazuju pojedinačna zrna čija je veličina u okviru opsega koji odgovara UFG materijalima. Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure se može primetiti da granice zrna nisu jasno definisane već imaju blago zamućen izgled, koji je posledica visokog unutrašnjeg naprezanja koje se često javlja na granicama zrna kod materijala podvrgnutih SPD postupcima obrade [242]. Primenom SAD metode dobijene su mape elektronske difrakcije odnosno mape realne kristalne strukture za UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr leguru prikazane na slikama **9.16c** i **9.16d**, pri čemu je oznakom x napravljena veza između svakog pojedinačnog difrakcionog prstena i faze kojoj difrakcioni prsten odgovara. Na mapama elektronske difrakcije se mogu primetiti mnogobrojne tačke kružno raspoređene što je karakteristično za ultrafinu mikrostrukturu sa visokougaonim granicama zrna i značajno širenje tačaka potvrđuje prisustvo visokih unutrašnjih naprezanja [17]. SAD analizom je potvrđeno postojanje α faze kod UFG CPTi, dok se formiranje heksagonalne ω (omega) faze ne može sa sigurnošću potvrditi jer se difrakcioni prstenovi javljaju na istim pozicijama za α i ω fazu, kao što se može videti na slici **9.16c**. Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure se primećuje postojanje dve faze i to α i β , pri čemu se neke elektronske difrakcije mogu opisati kao novoformirana ω faza, iako se difrakcioni prstenovi ω faze poklapaju sa difrakcionim prstenovima α i β faza, slika **9.16d**.

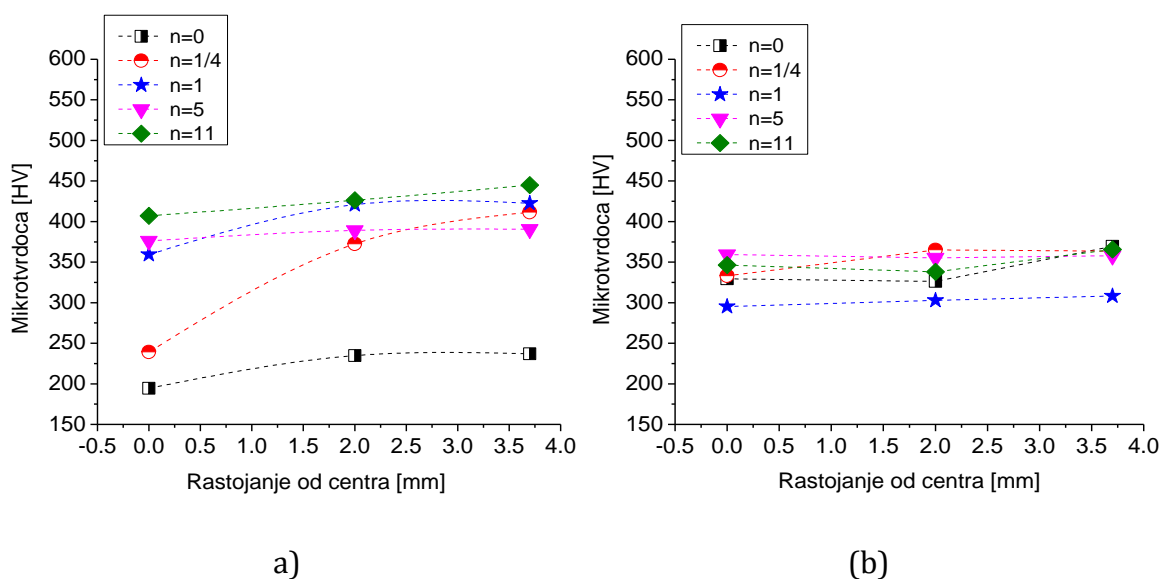


Slika 9.16 Mikrostruktura UFG CPTi (a) i UFG Ti-13Nb-13Zr legure (b) dobijene u STEM modu; mapa elektronske difrakcije za UFG CPTi (c) i UFG Ti-13Nb-13Zr leguru (d).



9.2.2. Tvrdoća

Kod materijala dobijenih HPT postupkom osnovno pitanje koje se postavlja je da li je dobijena struktura homogena. Stepem homogenosti HPT obrađenih materijala je analiziran određivanjem mikrotvrdoće duž prečnika uzorka, kao što je prikazano na slici 8.3. Zavisnost mikrotvrdoće od rastojanja od centra uzoraka UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnutih HPT postupku pri različitom broju obrtaja prikazana je na slici 9.17.



Slika 9.17 Mikrotvrdoća UFG CPTi (a) i UFG Ti-13Nb-13Zr legure (b).

Kod svih ispitivanih uzoraka UFG CPTi, mikrotvrdoća raste od centra ka ivici uzorka (slika 9.17a), pri čemu je porast vrednosti mikrotvrdoće najizraženiji za uzorak dobijen primenom HPT postupka za $n=1/4$, dok je najmanje izražen kod uzoraka dobijenih primenom 5 i 11 rotacija. Naime, kod uzorka UFG CPTi za $n=1/4$ mikrotvrdoća u centru iznosi ~ 239 HV a na ivici ~ 411 HV, na osnovu čega se vidi da promena mikrotvrdoće duž prečnika uzorka iznosi čak 172 HV. Kod UFG CPTi za $n=5$ tvrdoća raste od centra gde iznosi ~ 376 HV ka ivici gde iznosi ~ 391 HV, a za $n=11$ detektovan je porast mikrotvrdoće sa vrednosti od ~ 407 HV na vrednost od ~ 445 HV. Prema tome, porast vrednosti mikrotvrdoće od centra ka ivici uzorka je ~ 15 HV za CPTi koji je podvrgnut HPT postupku na 5 rotacija i ~ 38 HV za CPTi koji je podvrgnut HPT postupku na 11 rotacija.



Iz jednačine **7.1** se moglo zaključiti da će uzorci podvrgnuti HPT postupku biti nehomogene mikrostrukture i rezultati određivanja mikrotvrdoće dobijeni u okviru doktorske disertacije pokazuju da je ta pretpostavka tačna za male brojeve obrtaja u slučaju UFG CPTi. Primenom 5 obrtaja dostiže se ravnotežna vrednost mikrotvrdoće koja je u vezi sa strukturnom homogenošću materijala.

Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure se primećuje blagi porast vrednosti mikrotvrdoće od centra ka ivici uzoraka, kao što je prikazano na slici **9.17b**. Vrednosti mikrotvrdoće rastu od centra ka ivici uzoraka i to za ~31 HV, ~13 HV i ~19 HV kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure za $\frac{1}{4}$, 1 i 11 rotacija, respektivno. Ipak, vrednost mikrotvrdoće je gotovo uniformna duž prečnika uzorka UFG Ti-13Nb-13Zr legure dobijene primenom 5 rotacija, što potvrđuje homogenost navedenog uzorka.

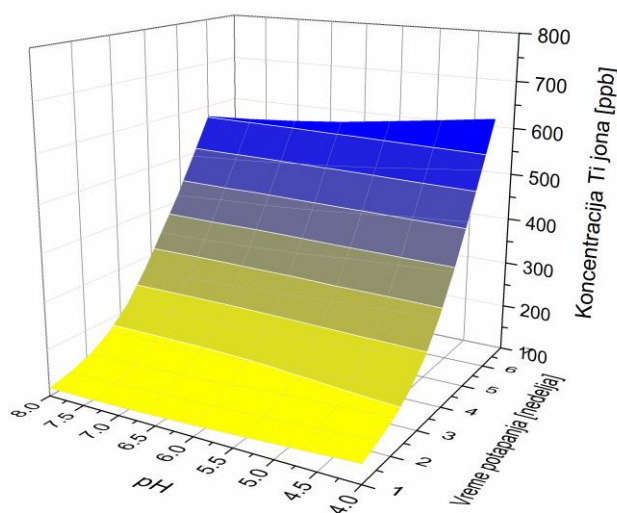


9.3. OTPUŠTANJE JONA

9.3.1. Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade

9.3.1.1. Uticaj pH vrednosti i vremena potapanja na otpuštanje jona

Otpuštanje jona iz CPTi, Ti-6Al-4V i Ti-13Nb-13Zr legura prikazano je na slikama 9.18-9.20, dok je otpuštanje jona iz komercijalne *Wironit®* legure, koja je korišćena u cilju poređenja u grupi materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, prikazano na slici 9.21.

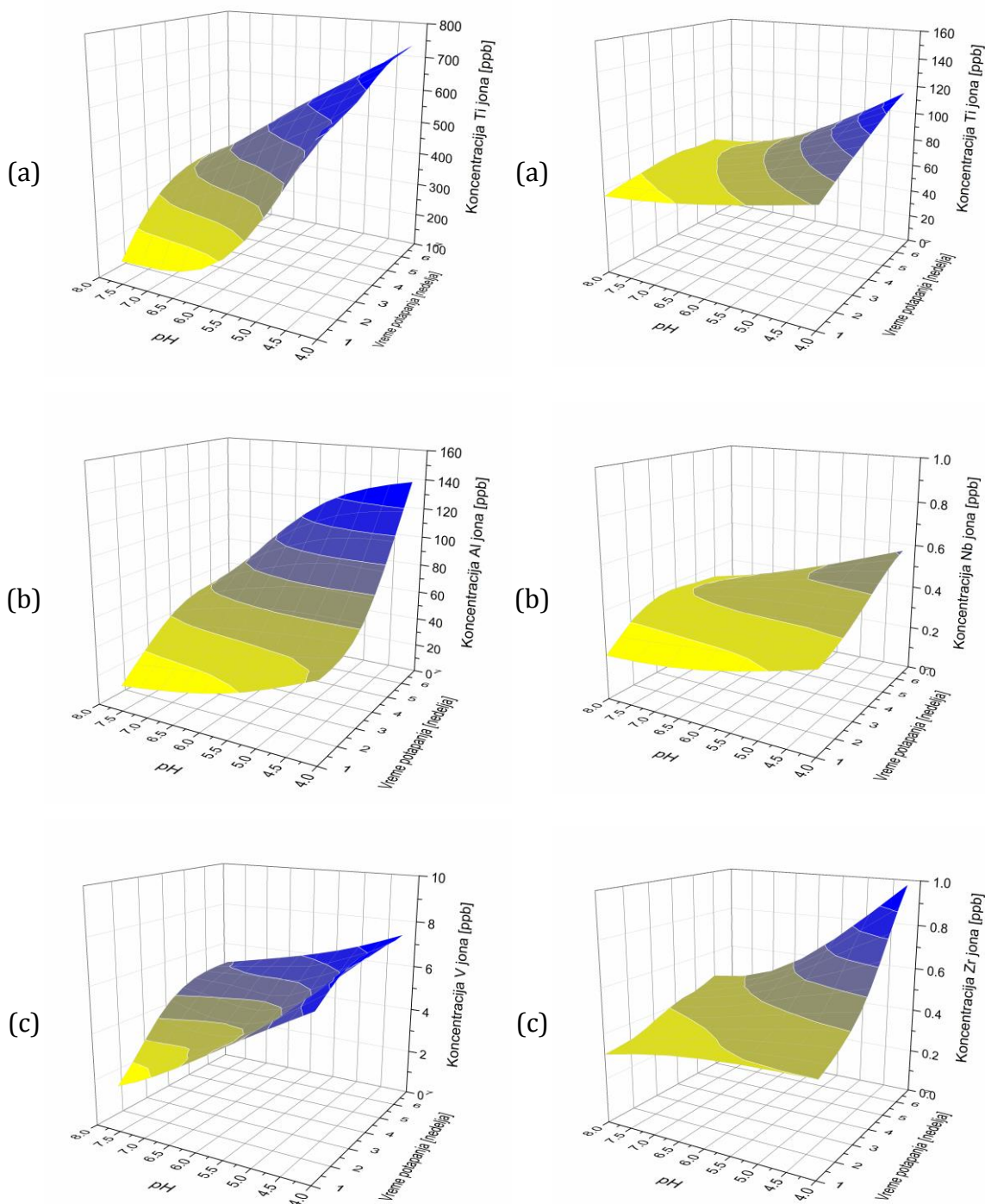


Slika 9.18 Otpuštanje Ti jona iz CPTi.

Kod CPTi koncentracija otpuštenih Ti jona gotovo linearno raste sa povećanjem vremena potapanja za sve ispitivane pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke, kao što je prikazano na slici 9.18. Tako npr. na pH vrednosti 4,0 koncentracija otpuštenih Ti jona iznosi 140 ppb posle 1 nedelje, 1,6 puta je veća posle 3 nedelje (220 ppb) i 4,6 puta posle 6 nedelja (640 ppb). Pomenuti trend povećanja koncentracije otpuštenih Ti jona sa povećanjem vremena potapanja se može primetiti i u rastvorima veštačke pljuvačke pH vrednosti 5,5 i 7,5. Pored vremena potapanja, primećuje se da pH vrednost rastvora ima veliki uticaj na otpuštanje jona, odnosno, sa smanjenjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona. Naime, najveća koncentracija otpuštenih Ti jona je konstatovana na pH vrednosti 4,0 za sva ispitivana vremena potapanja. Posle 1 i 3 nedelje, koncentracija otpuštenih Ti jona je 1,2 puta veća u rastvoru



veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 u poređenju sa pH 7,5, dok se posle 6 nedelja primećuje povećanje koncentracije otpuštenih Ti jona sa 570 ppb za pH=7,5 na 640 ppb za pH=4,0.



Slika 9.19 Otpuštanje jona iz Ti-6Al-4V legure: Ti (a), Al (b) i V (c).

9.20 Otpuštanje jona iz Ti-13Nb-13Zr legure: Ti (a), Nb (b) i Zr (c).

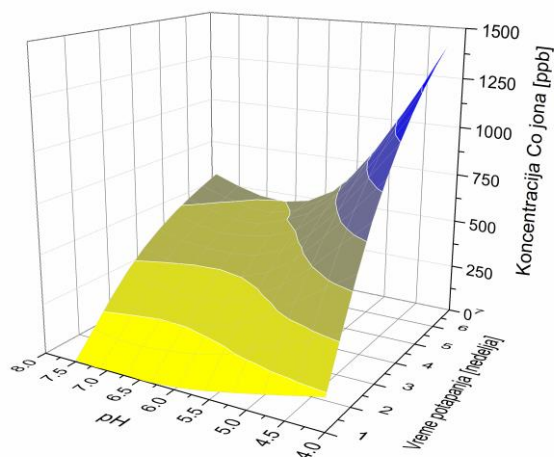


Kod Ti-6Al-4V legure se sa smanjenjem pH vrednosti povećava koncentracija otpuštenih jona. Zapravo, koncentracija otpuštenih Ti jona je 3,2 puta veća na pH vrednosti 4,0 nego na pH vrednosti 7,5 nakon 1 nedelje i 2 puta nakon 3 i 6 nedelja. Može se primetiti da je uticaj pH vrednosti na otpuštanje jona veći kod Ti-6Al-4V legure nego kod CPTi, odnosno koncentracija Ti jona kod CPTi postepeno raste sa smanjenjem pH vrednosti za sva vremena potapanja, dok je kod Ti-6Al-4V legure taj porast izraženiji (slika **9.19a**). Pored toga, koncentracija otpuštenih Ti jona iz Ti-6Al-4V legure se povećava sa povećanjem vremena potapanja, pri čemu je promena postepena u rastvorima pH vrednosti 4,0 i 7,5, dok je povećanje koncentracije otpuštenih Ti jona značajno sa povećanjem vremena potapanja u rastvoru pH 5,5. Kada se upoređi otpuštanje Ti jona iz CPTi i Ti-6Al-4V legure u rastvoru pH vrednosti 4,0, primetno je povećanje koncentracije otpuštenih Ti jona koja je 3,9; 3,0 i 1,2 puta veća nakon 1, 3 i 6 nedelja, respektivno, u slučaju Ti-6Al-4V legure u odnosu na CPTi. Najveća izmerena vrednost koncentracije otpuštenih Ti jona iz Ti-6Al-4V legure iznosi 750 ppb nakon 6 nedelja u rastvoru veštačke pljuvačke pH 4,0, dok je kod CPTi izmerena vrednost za 110 ppb manja, odnosno iznosi 640 ppb. Osim toga, udeo Al u Ti-6Al-4V leguri iznosi 6 mas.%, dok je udeo otpuštenih jona Al u ukupnoj koncentraciji otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure 10-19% u zavisnosti od uslova ispitivanja. Osim toga, otpuštanje jona Al je intenzivnije u poređenju sa otpuštanjem V jona, odnosno koncentracija otpuštenih jona V ne prelazi 8 ppb u svim razmatranim slučajevima (slika **9.19c**), dok koncentracija jona Al dostiže vrednost od 142 ppb nakon 6 nedelja na pH vrednosti od 4,0 (slika **9.19b**). Naime, udeo otpuštenih V jona u ukupnoj koncentraciji otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure iznosi 0,7-1,2% u zavisnosti od eksperimentalnih uslova.

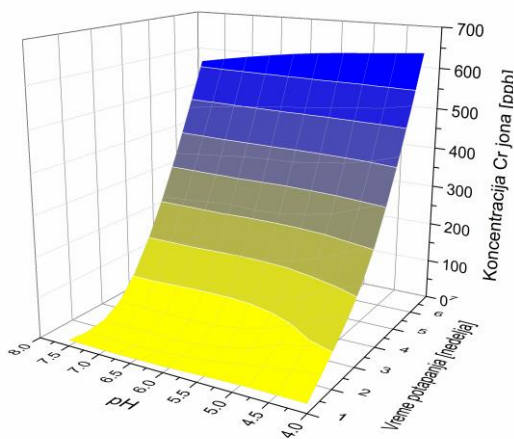
Otpuštanje jona iz Ti-13Nb-13Zr legure se takođe odvija po prethodno navedenim principima, odnosno koncentracija otpuštenih jona se povećava sa smanjenjem pH vrednosti i sa povećanjem vremena izloženosti legure medijumu. Primetno je da je koncentracija Ti jona, koji se otpuštaju iz Ti-13Nb-13Zr legure, značajno manja od koncentracije otpuštenih Ti jona iz CPTi i Ti-6Al-4V legure. Najveća koncentracija otpuštenih Ti jona iz Ti-13Nb-13Zr legure je zabeležena na pH vrednosti 4,0 nakon 6 nedelja i iznosi 120 ppb (slika **9.20a**). Ova koncentracija je 5,3 i 6,2 puta manja od koncentracije otpuštenih Ti jona iz CPTi i Ti-6Al-4V



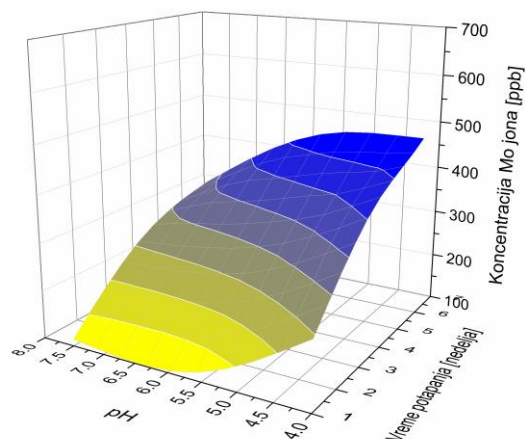
legure pri navedenim uslovima, respektivno. Koncentracije otpuštenih Nb i Zr jona ne prelaze vrednost od 1 ppb pri svim ispitivanim uslovima što se može videti na dijagramima prikazanim na slikama **9.20b** i **9.20c**. Udeo Nb jona u ukupnoj koncentraciji otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure iznosi 0,4-0,6%, dok je udeo Zr jona 0,4-0,8% u zavisnosti od uslova ispitivanja. Ukoliko se uporedi otpuštanje Nb i Zr jona sa jedne strane i Al i V jona sa druge strane može se reći da je ukupno otpuštanje Nb i Zr jona 114 puta manje od otpuštanja Al i V jona u najekstremnijem ispitivanom slučaju odnosno u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 nakon 6 nedelja.



(a)



(b)



(c)

Slika 9.21 Koncentracija otpuštenih jona iz Wironit® legure: Co (a), Cr (b) i Mo (c).



Joni Cr se otpuštaju iz *Wironit*® legure prateći isti trend kao i joni Ti iz CPTi (slike **9.21b** i **9.18**) i koncentracije otpuštenih jona nakon 6 nedelja u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 su približno iste (652 ppb Cr jona i 640 ppb Ti jona). U najvećoj meri se otpuštaju Co joni iz *Wironit*® legure koji dostižu koncentraciju od 1443 ppb u najkiselijoj sredini nakon 6 nedelja, slika **9.21a**. Koncentracija otpuštenih Mo jona raste sa porastom vremena potapanja i smanjenjem pH vrednosti i dostiže vrednost od 484 ppb, slika **9.21c**. S obzirom na to da je udeo Mo samo 5 mas.% u *Wironit*® leguri, može se reći da je otpuštanje jona Mo značajno. Bitno je pomenuti da je posle 1 nedelje u svim ispitivanim rastvorima izmerena veća koncentracija otpuštenih jona Mo u poređenju sa koncentracijom otpuštenih jona Cr i Co, iako je u sastavu legure Mo prisutan u najmanjem udelu. Kada se posmatra udeo pojedinačnih jona u ukupnoj koncentraciji otpuštenih jona iz *Wironit*® legure mogu se primetiti velike fluktuacije, pa tako udeo otpuštenih Co jona u ukupnoj koncentraciji otpuštenih jona iz *Wironit*® legure iznosi 4-62%, udeo Cr jona 5-38%, dok je udeo Mo jona 19-85% u zavisnosti od eksperimentalnih uslova.

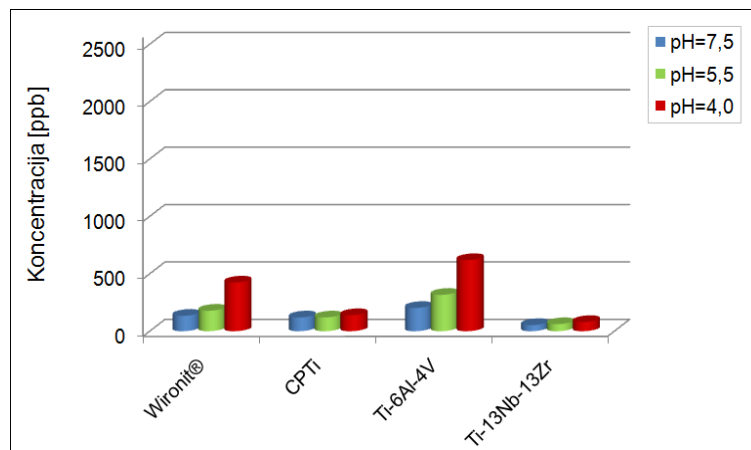
U cilju detaljne analize uticaja karakteristika sredine u kojoj se materijal nalazi i dužine izlaganja materijala agresivnoj sredini na ukupno otpuštanje jona na slici **9.22** prikazana je ukupna koncentracija svih otpuštenih jona iz materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade u rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti za različito vreme potapanja. Kao što se na slici **9.22a** može videti pH vrednost ima značajan uticaj na otpuštanje jona u slučaju *Wironit*® i Ti-6Al-4V legura, dok je kod CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure otpuštanje jona gotovo uniformno pri različitim pH vrednostima nakon 1 nedelje, odnosno primećuje se neznatan porast koncentracije otpuštenih jona sa smanjenjem pH vrednosti. Nakon 1 nedelje izloženosti materijala rastvoru pH vrednosti 4,0, ukupna koncentracija otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure je veća 1,5 puta od ukupne koncentracije otpuštenih jona iz *Wironit*® legure, 4,4 puta od koncentracije Ti jona otpuštenih iz CPTi, i približno 7,8 puta od ukupne koncentracije otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure. Nakon 3 nedelje (slika **9.22b**) i 6 nedelja (**slika 9.22c**) u rastvoru pH 4,0, najviše jona otpušta *Wironit*® legura, pri čemu ukupna koncentracija svih otpuštenih jona dostiže vrednost od 1435 ppb nakon 3 nedelje i 2580 ppb nakon 6



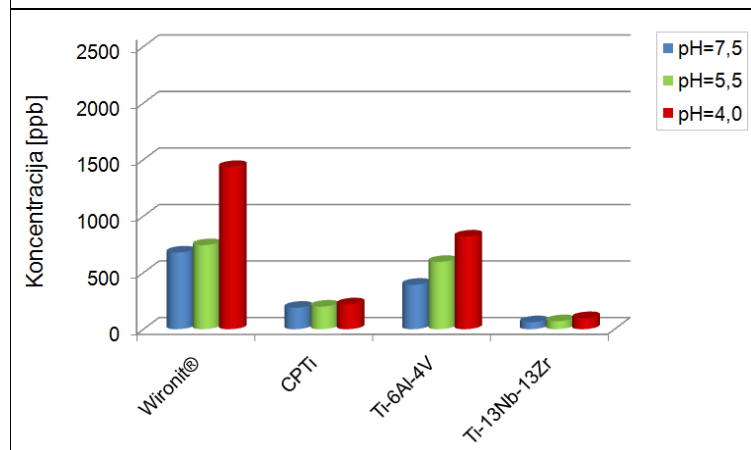
nedelja. Takođe, kod *Wironit*® legure se jasno vidi da pH vrednost od 4,0 dovodi do skokovitog porasta koncentracije otpuštenih jona, pa se može reći da je ovo kritična pH vrednost. Ukupna koncentracija otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure je nakon 3 nedelje potapanja 8,4 i 3,7 puta veća od ukupne koncentracije otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure i CPTi, respektivno, dok je nakon 6 nedelja 7,7 i 1,5 puta veća. Sa povećanjem vremena potapanja razlika između ukupne koncentracije otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure sa jedne strane i CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure sa druge strane se smanjuje, ali je i nakon 6 nedelja potapanja razlika primetna. Dobijeni rezultati pokazuju da promena pH vrednosti ima mnogo manji uticaj na ukupno otpuštanje jona iz Ti-13Nb-13Zr legure i CPTi nego što je to slučaj kod *Wironit*® i Ti-6Al-4V legura. Osim toga, povećanje vremena potapanja utiče na povećano otpuštanje jona iz svih ispitivanih materijala, pri čemu se najmanji uticaj primećuje kod Ti-13Nb-13Zr legure.



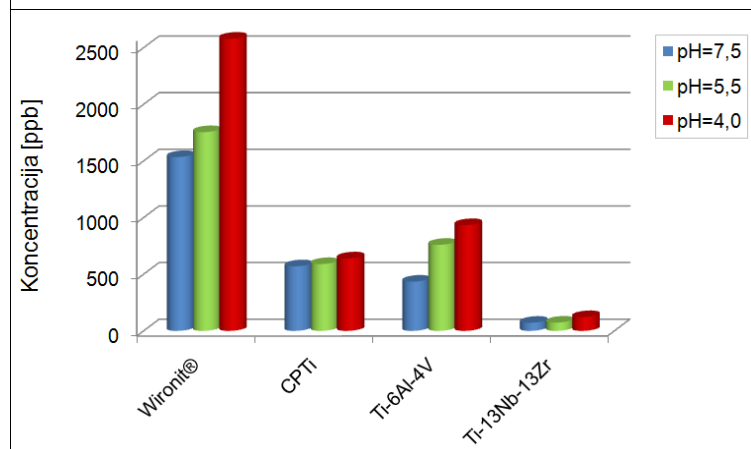
(a)



(b)



(c)

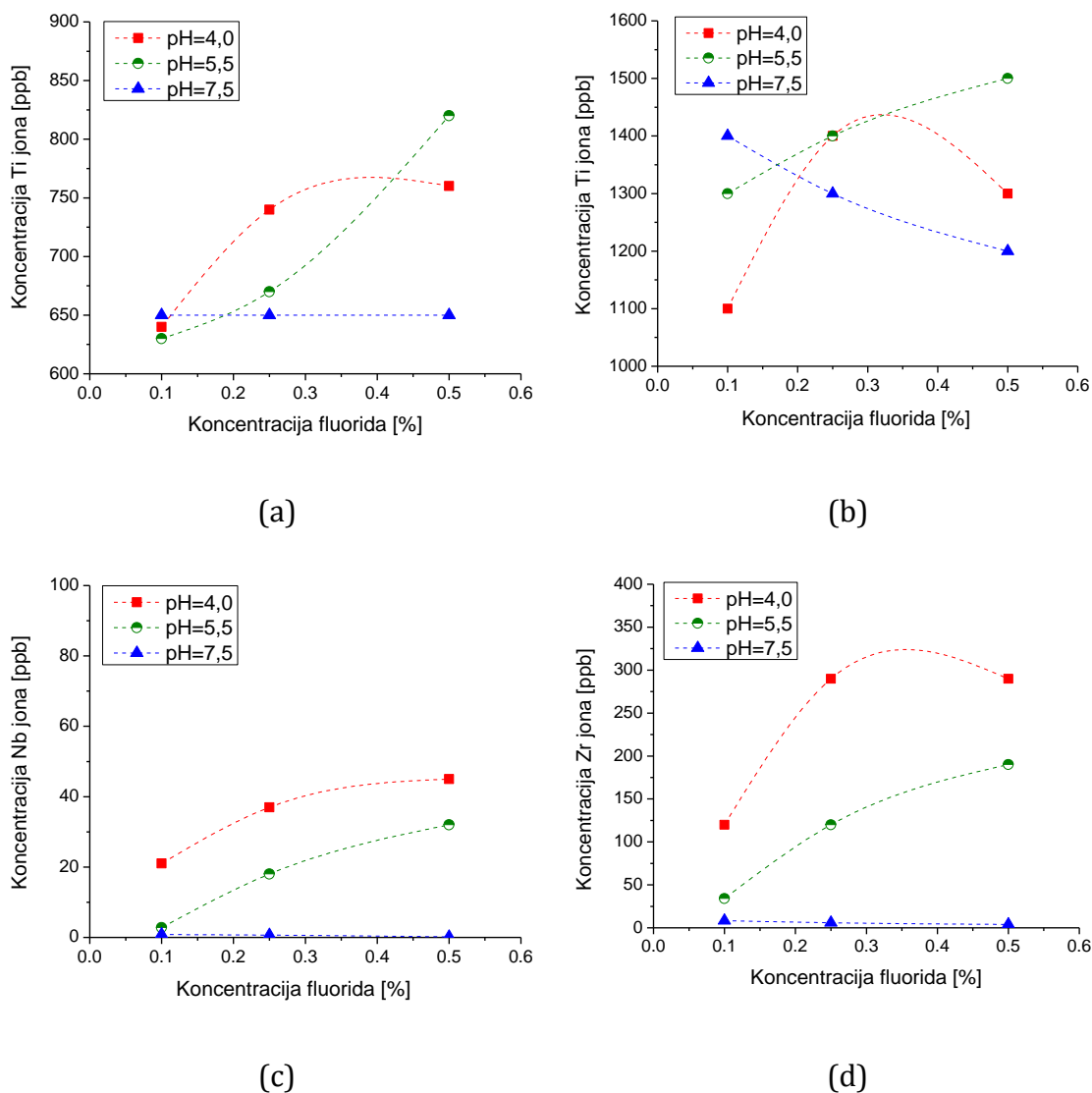


Slika 9.22 Zavisnost ukupne koncentracije svih otpuštenih jona od pH vrednosti rastvora nakon: 1 (a), 3 (b) i 6 (c) nedelja.



9.3.1.2. Uticaj fluorida na otpuštanje jona

Fluoridi su prisutni u velikom broju tečnosti za ispiranje usta i pastama za zube, pa je tokom istraživanja posebna pažnja posvećena ispitivanju uticaja fluorida na otpuštanje jona iz metalnih materijala dobijenih konvencionalnim metodama, a koji se razmatraju kao materijali za izradu dentalnih implanata. Ispitivane su koncentracije fluorida od 0,1%, 0,25% i 0,5%, jer su te koncentracije najčešće zastupljene u komercijalnim preparatima za oralnu higijenu. Na slici 9.23 data je zavisnost koncentracije otpuštenih jona iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure od koncentracije fluorida prisutnih u rastvoru veštačke pljuvačke na različitim pH vrednostima nakon 7 dana.



Slika 9.23 Otpuštanje Ti jona iz CPTi (a) i Ti (b), Nb (c) i Zr (d) jona iz Ti-13Nb-13Zr legure.



Čak i pri najmanjoj koncentraciji fluorida u rastvoru veštačke pljuvačke primetno je značajno povećanje koncentracije otpuštenih Ti jona iz CPTi (slika 9.23a) u poređenju sa rastvorom veštačke pljuvačke bez fluorida. Naime, koncentracija otpuštenih Ti jona u rastvoru veštačke pljuvačke sa 0,1% fluorida iznosi 630-650 ppb, dok koncentracija Ti jona u rastvoru veštačke pljuvačke bez prisustva fluorida iznosi 120-140 ppb u zavisnosti od pH vrednosti. U rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 koji sadrži 0,1%; 0,25% i 0,5% fluorida koncentracija otpuštenih Ti jona je 4,6; 5,3 i 5,4 puta veća u poređenju sa koncentracijom ovih jona koja se otpušta u rastvoru veštačke pljuvačke koji ne sadrži fluoride (140 ppb, slika 9.18). Prema tome, u rastvoru pH vrednosti 4,0, sa povećanjem koncentracije fluorida dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih Ti jona, pri čemu nakon izrazitog početnog porasta, koncentracija Ti jona teži vrednosti od ~750 ppb. U rastvoru pH vrednosti 5,5, takođe se primećuje porast koncentracije otpuštenih jona sa povećanjem koncentracije fluorida prisutnih u rastvoru, pri čemu je u ovom slučaju porast veoma izražen i koncentracija otpuštenih jona ne dostiže ravnotežnu vrednost, već pokazuje tendenciju daljeg rasta. Za razliku od rastvora veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 i 5,5, u rastvoru pH vrednosti 7,5, nakon početnog povećanja koncentracije do koga dovodi samo prisustvo fluorida (koncentracija Ti jona u rastvoru sa 0,1% fluorida je 5,4 puta veća od koncentracije Ti jona otpuštenih u rastvoru koji ne sadrži fluoride), dalje povećanje koncentracije fluorida ne dovodi do promena u koncentraciji otpuštenih Ti jona. Naime, u svim ispitivanim rastvorima veštačke pljuvačke pH vrednosti 7,5 sa različitim sadržajem fluorida koncentracija otpuštenih Ti jona iznosi ~650 ppb, što navodi na zaključak da povećanje koncentracije fluorida u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke ne utiče na koncentraciju otpuštenih Ti jona iz CPTi.

Prisustvo fluorida u rastvoru veštačke pljuvačke izuzetno utiče na povećanje koncentracije otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure. Zapravo, koncentracija Ti jona otpuštenih u rastvoru veštačke pljuvačke pH 4,0 sa prisutnim fluoridima je 14-18 puta veća od koncentracije Ti jona otpuštenih iz Ti-13Nb-13Zr legure u rastvoru bez fluorida. Značajno povećanje koncentracije otpuštenih Ti jona u rastvoru veštačke pljuvačke sa fluoridima u poređenju sa rastvorom koji ne sadrži fluoride se primećuje za sve ispitivane pH vrednosti. Nakon početnog povećanja



koncentracije do koga dovodi samo prisustvo fluorida, u rastvoru pH 7,5 koncentracija Ti jona opada sa vrednosti 1400 ppb na vrednost 1200 ppb sa povećanjem sadržaja fluorida sa 0,1% na 0,5%, u rastvoru pH 5,5 koncentracija Ti jona raste od 1300 ppb do 1500 ppb sa povećanjem sadržaja fluorida sa 0,1% na 0,5%, dok u rastvoru pH 4,0 koncentracija sa 1100 ppb raste do 1400 ppb, a zatim opada na vrednost od 1300 ppb sa povećanjem koncentracije fluorida sa 0,1% preko 0,25% do 0,5%.

U rastvorima veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 i 5,5 primećuje se trend povećanja koncentracije otpuštenih Nb i Zr jona sa povećanjem sadržaja fluorida, dok u rastvoru pH vrednosti 7,5, povećanje koncentracije fluorida ima zanemarljivo mali uticaj na koncentraciju otpuštenih Nb i Zr jona. Međutim, treba naglasiti da koncentracija Nb i Zr jona u rastvoru veštačke pljuvačke bez fluorida nije prelazila 1 ppb (slike **9.20b** i **9.20c**), dok u prisustvu fluorida koncentracija Nb dostiže vrednost ~45 ppb, a koncentracija Zr čak ~290 ppb u najkiselijoj sredini.

Osim toga, primetno je da kada su u rastvoru veštačke pljuvačke prisutni fluoridi, otpuštanje Ti jona ne prati ranije ustanovljen trend da sa porastom pH vrednosti dolazi do smanjenja koncentracije otpuštenih jona, dok se otpuštanje Nb i Zr jona smanjuje sa povećanjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke u prisustvu fluorida. Navedeni rezultati pokazuju da sa povećanjem koncentracije fluorida uglavnom dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona, ali je teško ustanoviti zajednički uticaj prisustva fluorida i pH vrednosti rastvora na otpuštanje jona.

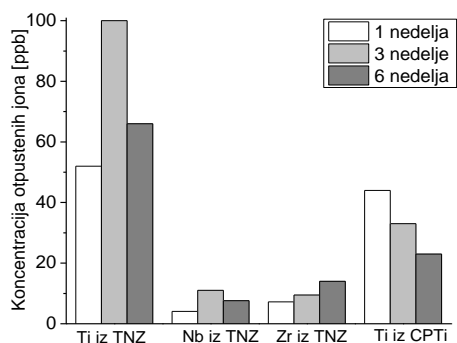


9.3.1.3. Uticaj sastava medijuma na otpuštanje jona

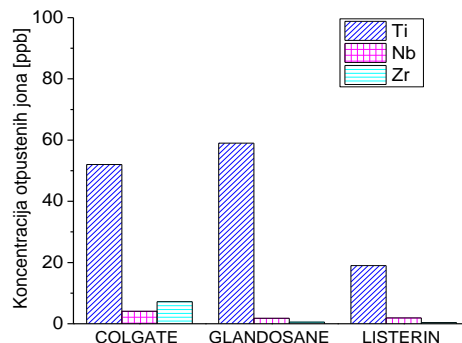
Pri analizi otpuštanja jona neophodno je uzeti u razmatranje i sastav medijuma imajući u vidu njegov značajan uticaj na degradaciju materijala. Otpuštanje jona iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure u komercijalnim rastvorima za ispiranje usta (*Colgate Plax Ice*®, pH 6,0; *Glandosane*®, pH 5,15 i *Listerin*®, pH 4,25) prikazano je na slikama **9.24** i **9.25**.

Najveći stepen otpuštanja jona se javlja u rastvoru *Colgate Plax Ice*®, pri čemu Ti joni otpušteni iz CPTi dostižu koncentraciju od 44 ppb, dok kod Ti-13Nb-13Zr legure najveća koncentracija Ti jona iznosi 100 ppb, Nb jona 11 ppb i Zr jona 14 ppb (slika **9.24a**). U rastvoru *Glandosane*® koncentracija otpuštenih Ti jona iz Ti-13Nb-13Zr legure iznosi 69 ppb, a iz CPTi 30 ppb (slika **9.24b**), dok je u rastvoru *Listerin*® koncentracija Ti jona otpuštenih iz Ti-13Nb-13Zr legure i CPTi 27 ppb i 19 ppb, respektivno (slika **9.24c**). Prema tome, Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje veću sklonost ka otpuštanju jona u pomenutim rastvorima u poređenju sa CPTi.

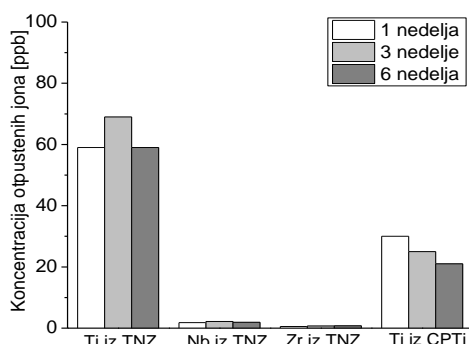
U rastvorima *Colgate Plax Ice*® i *Glandosane*® sa povećanjem vremena potapanja dolazi do smanjenja koncentracije otpuštenih Ti jona iz CPTi, do povećanja koncentracije otpuštenih Zr jona iz Ti-13Nb-13Zr legure, dok je koncentracija otpuštenih Ti i Nb jona iz Ti-13Nb-13Zr legure veća posle 3 nedelje potapanja u poređenju sa koncentracijom izmerenom nakon 6 nedelja. Samo u rastvoru *Listerin*® koncentracija svih otpuštenih jona raste sa povećanjem vremena potapanja odnosno primećuje se trend koji je ustanovljen ispitivanjem otpuštanja jona u rastvoru veštačke pljuvačke.



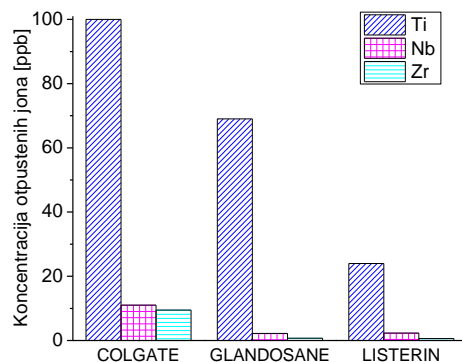
(a)



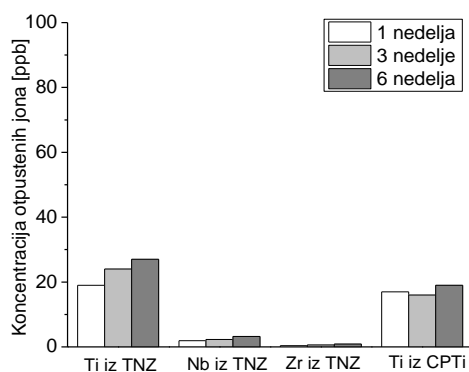
(a)



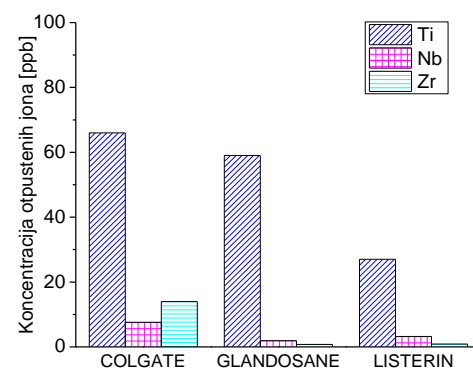
(b)



(b)



(c)



(c)

Slika 9.24 Zavisnost koncentracije otpuštenih jona iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure u rastvorima Colgate Plax Ice® (a), Glandosane® (b) i Listerin® (c) od vremena potapanja.

Slika 9.25 Otpuštanje jona iz Ti-13Nb-13Zr legure u medijumima različitog sastava nakon 1 (a), 3 (b) i 6 (c) nedelja.

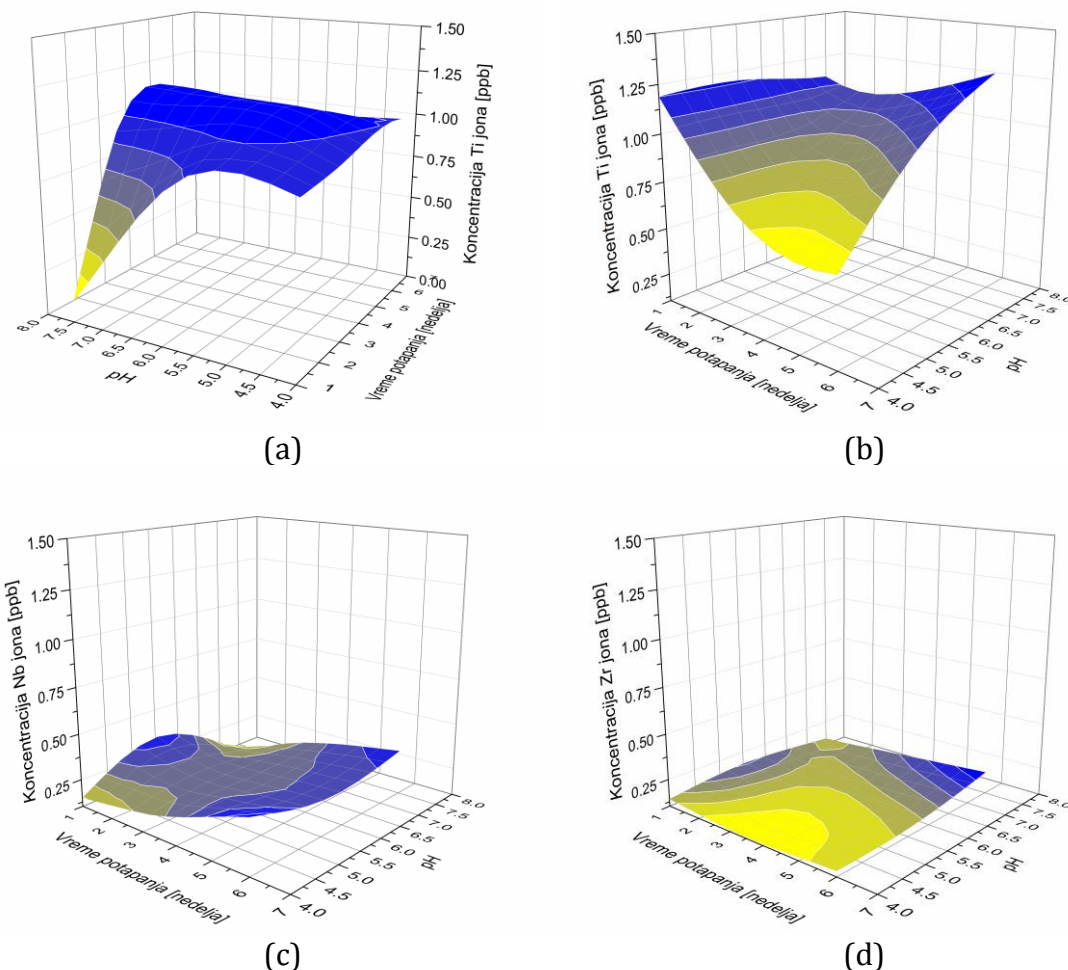


Osim toga, primetno je da je nakon 1 nedelje koncentracija otpuštenih Ti jona iz Ti-13Nb-13Zr legure najveća u rastvoru *Glandosane*® i iznosi 59 ppb (slika **9.25a**), dok se posle 3 i 6 nedelja najviše Ti jona otpušta u rastvoru *Colgate Plax Ice*® i to 100 ppb i 66 ppb, respektivno (slike **9.25b** i **9.25c**). Takođe, koncentracija Nb i Zr jona dostiže najveću vrednost u rastvoru *Colgate Plax Ice*®, nakon svih ispitivanih vremena potapanja. Prema tome, rastvor *Colgate Plax Ice*® iako ima najveću pH vrednost u poređenju sa ostalim ispitivanim rastvorima, pokazuje najveći negativni efekat na otpuštanje jona, odnosno sastav rastvora je takav da favorizuje otpuštanje jona. Pored toga, koncentracija otpuštenih Zr jona je manja od koncentracije otpuštenih Nb jona u rastvorima *Glandosane*® i *Listerin*®, dok u rastvoru *Colgate Plax Ice*® prosečna koncentracija otpuštenih Nb i Zr jona iznosi ~8 ppb i ~10 ppb, respektivno.



9.3.2. Materijali dobijeni HPT postupkom

Otpuštanje jona u rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnutih HPT postupku prikazano je na slici 9.26.



Slika 9.26 Otpuštanje Ti jona iz UFG CPTi (a) i Ti (b), Nb (c) i Zr (d) jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure.

Koncentracija Ti jona otpuštenih iz UFG CPTi se povećava sa smanjenjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke i sa povećanjem vremena potapanja, što se može videti na slici 9.26a. Osim vrednosti od 0,12 ppb koja je zabeležena posle 1 nedelje u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 7,5, koncentracija otpuštenih Ti jona u svim ostalim slučajevima iznosi ~ 1 ppb. Koncentracija otpuštenih Ti jona dostiže ravnotežno stanje nakon 3 nedelje u svim rastvorima pa sa daljim povećanjem vremena potapanja ne dolazi do značajne promene koncentracije otpuštenih jona.



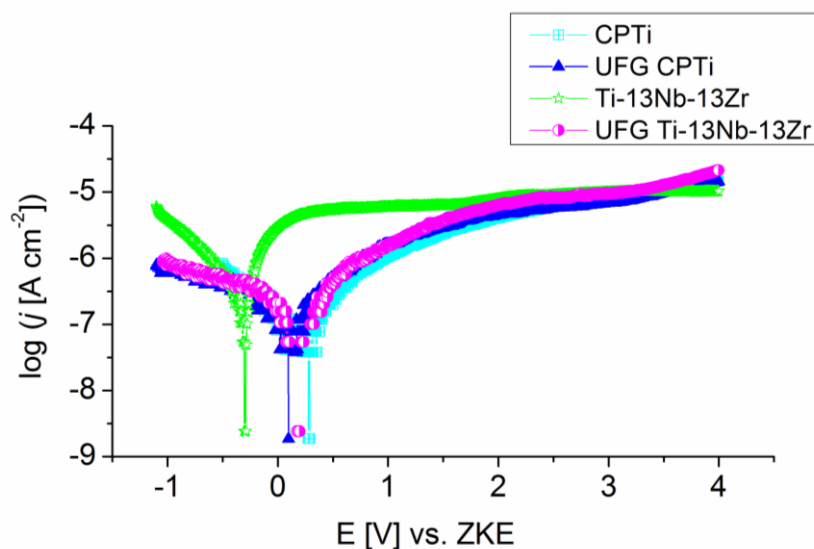
Za razliku od otpuštanja Ti jona iz UFG CPTi, otpuštanje Ti jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure prati potpuno suprotan trend (slika **9.26b**). Naime, koncentracija otpuštenih Ti jona se smanjuje sa povećanjem vremena potapanja, pa u rastvoru pH vrednosti 4,0 koncentracija Ti jona iznosi 1,2 ppb nakon 1 nedelje i 0,6 ppb nakon 6 nedelja. Takođe, niže koncentracije otpuštenih jona su zabeležene u kiselijim rastvorima, odnosno koncentracija otpuštenih Ti jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure se smanjuje sa smanjenjem pH vrednosti i nakon 6 nedelja koncentracija Ti jona iznosi 1,3 ppb, 1,0 ppb i 0,6 ppb u rastvorima pH vrednosti 7,5, 5,5 i 4,0, respektivno. Koncentracija otpuštenih Ti jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure je nešto veća od koncentracije Ti jona otpuštenih iz UFG CPTi, ali ne prelazi vrednost od 1,3 ppb.

Vreme potapanja i pH vrednost imaju zanemarljivo mali uticaj na otpuštanje Nb i Zr jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure (slike **9.26c** i **9.26d**). Najveća zabeležena koncentracija Nb jona iznosi 0,4 ppb posle 6 nedelja u rastvoru pH 4,0, a Zr jona 0,2 ppb posle 6 nedelja u rastvoru pH 7,5. Može se primetiti da je koncentracija otpuštenih Nb jona nešto veća od koncentracije otpuštenih Zr jona, iako je njihov udeo u leguri isti.



9.4. ELEKTROHEMIJSKA ISPITIVANJA

U cilju detaljne analize korozivne otpornosti ispitivani materijali su podvrgnuti elektrohemijским ispitivanjima u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 7,5. Potenciodinamičke polarizacione krive CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure pre i posle HPT postupka su prikazane na slici 9.27.



Slika 9.27 Polarizacione krive ispitivanih materijala u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke.

Rezultati polarizacionih ispitivanja pokazuju manju korozivnu postojanost krupnozrne Ti-13Nb-13Zr legure u poređenju sa ovom legurom u sitnozrnom stanju, dok se CPTi i UFG CPTi odlikuju sličnom korozivnom stabilnošću. Vrednosti korozivnog potencijala i gustine struje korozije za ispitivane materijale su prikazane u tabeli T.9.4.

Tabela T.9.4 Elektrohemijски parametri ispitivanih materijala u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke.

| Materijal | $E_{kor} \pm SD$ [mV(ZKE)] | $j_{kor} \pm SD$ [nA·cm ⁻²] |
|------------------|-------------------------------|--|
| CPTi | 226±23 | 38±5 |
| UFG CPTi | 134±18 | 40±11 |
| Ti-13Nb-13Zr | -300±21 | 110±12 |
| UFG Ti-13Nb-13Zr | 213±28 | 53±5 |



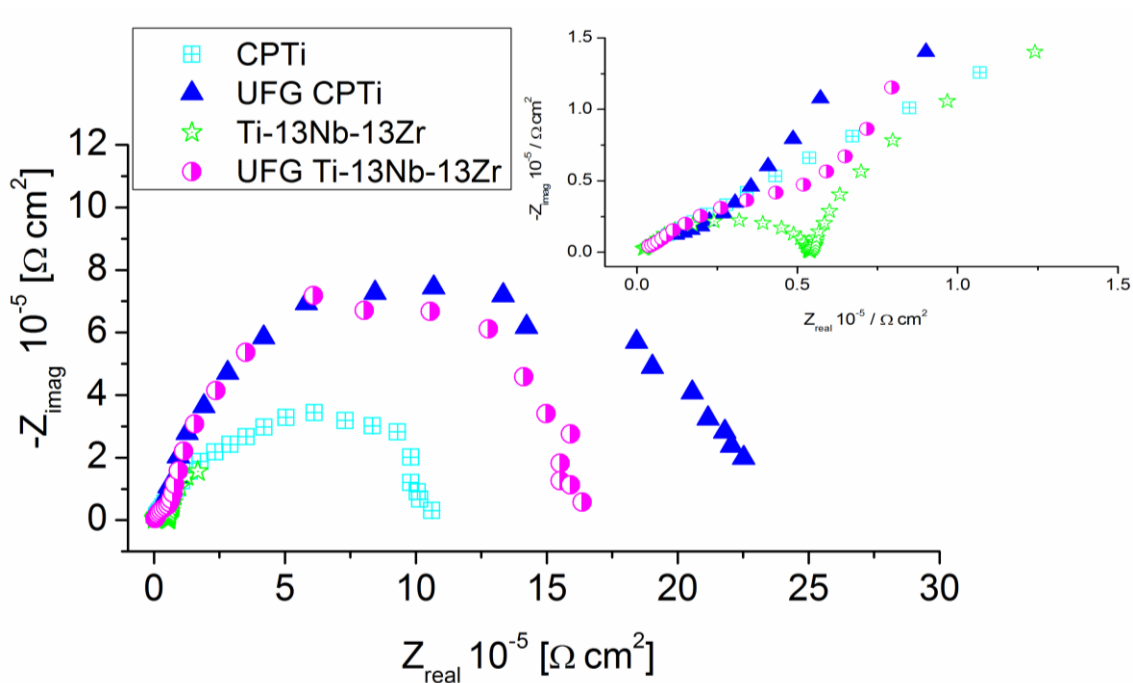
UFG Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje 2 puta manju vrednost gustine struje korozije ($53 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$) u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom ($110 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$) i samim tim veću korozionu stabilnost, pa se može reći da primena HPT postupka, kojim se usitnjava mikrostruktura materijala, u velikoj meri utiče na koroziono ponašanje Ti-13Nb-13Zr legure. Polarizaciona kriva za Ti-13Nb-13Zr leguru, koja je pomerena u smeru negativnijih potencijala, pokazuje da gustina struja dostiže vrednost od $6,5\cdot 10^{-6} \text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$ do 1,0 V(ZKE) i ostaje skoro nepromenjena do 4,0 V(ZKE), što je pokazatelj pasivnog ponašanja. Pomenuti rezultati u kombinaciji sa veoma niskom vrednošću gustine struje korozije (reda veličine $10^{-8} \text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$) navode na zaključak da se Ti-13Nb-13Zr legura ipak odlikuje dobrom korozionom stabilnošću.

Za razliku od Ti-13Nb-13Zr legure, HPT postupak nema izražen uticaj na koroziono ponašanje CPTi u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke. Naime, CPTi i UFG CPTi pokazuju isti stepen korozije na šta ukazuju vrednosti gustine struje korozije ($38 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ za CPTi i $40 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ za UFG CPTi). Osim toga, CPTi i UFG CPTi pokazuju manju podložnost koroziji u poređenju sa legurama titana sitnozrne i krupnozrne mikrostrukture. Kako pozitivne vrednosti korozionog potencijala ukazuju na formiranje stabilnog oksidnog filma na površini metalnog materijala, može se reći da CPTi, UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura pokazuju veću korozionu postojanost u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom.

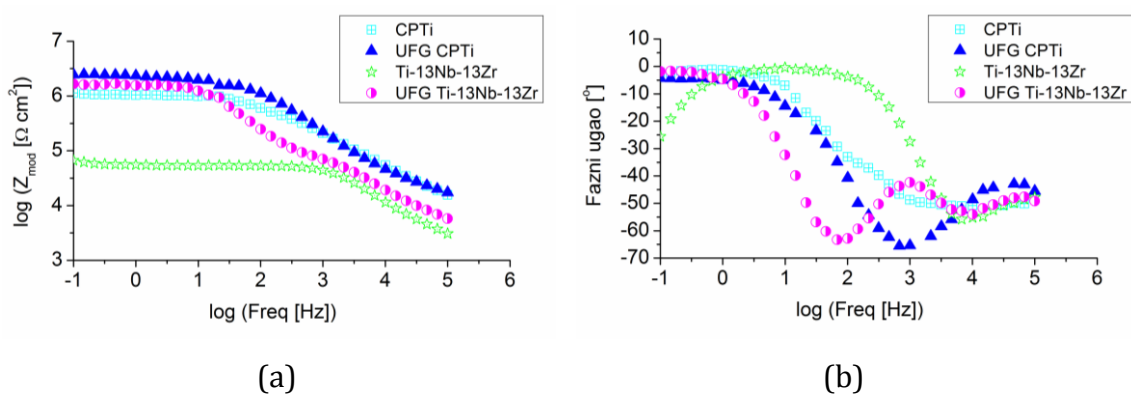
Više podataka o debljini, kompaktnosti i stabilnosti pasivnog filma daju EIS rezultati prikazani na slikama **9.28** i **9.29**. Nyquist-ov dijagram, prikazan na slici **9.28**, pokazuje polukružnu zavisnost između realne (Z_{real}) i imaginarnе (Z_{imag}) impedansne komponente. Veličina prečnika polukruga na EIS dijagramima ukazuje na veličinu otpornosti, a broj polukrugova na broj vremenskih konstanti. Za UFG materijale je dobijen mnogo veći prečnik polukruga u odnosu na CG materijale što je indikator boljih zaštitnih karakteristika oksidnog filma obrazovanog na površini UFG materijala. Na osnovu prikazanih rezultata može se reći da zaštitna svojstva oksidnog filma opadaju u sledećem nizu: UFG CPTi>UFG Ti-13Nb-13Zr>CPTi>Ti-13Nb-13Zr. Iako su vrednosti Z_{real} i Z_{imag} za Ti-13Nb-13Zr leguru najmanje, može se reći da se Ti-13Nb-13Zr legura ipak odlikuje dobrom korozionom otpornošću, jer



je prvi polukrug praćen formiranjem drugog nepotpunog polukruga, što se može videti u gornjem desnom uglu na slici 9.28.



Slika 9.28 Nyquist-ov dijagram za ispitivane materijale u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke.



Slika 9.29 Bode-ov moduo dijagram (a) i Bode-ov fazni dijagram (b) za ispitivane materijale u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke.



Bode-ov dijagram, prikazan na slici **9.29a** pokazuje da se na niskim frekvencijama dobijaju visoke vrednosti impedanse reda veličine $10^4 \Omega \cdot \text{cm}^2$ za Ti-13Nb-13Zr leguru i $10^6 \Omega \cdot \text{cm}^2$ za ostale materijale. Pored toga, uočava se da su ukupne impedansne vrednosti za UFG materijale više nego u slučaju CG materijala. Ove vrednosti ukazuju na formiranje pasivnog filma sa izuzetnim zaštitnim svojstvima. Slično kapacitivno ponašanje na niskim frekvencijama sa konstantnim faznim uglom od oko -5° , tipično za pasivne materijale, pokazuju CPTi, UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura, dok Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje značajno manji fazni ugao od oko -25° na niskim frekvencijama koji se povećava do 0° na srednjim frekvencijama (slika **9.29b**). Rezultati za Ti-13Nb-13Zr leguru na niskim frekvencijama pokazuju smanjenje zaštitnih karakteristika pasivnog oksidnog filma, dok na visokim frekvencijama dolazi do povećanja debljine pasivnog oksidnog filma. Svi materijali, osim Ti-13Nb-13Zr legure, na srednjim vrednostima frekvencija pokazuju smanjenje faznog ugla što se povezuje sa formiranjem poroznog sloja oksidnog filma na površini materijala. Na visokim frekvencijama, fazni ugao se smanjuje do vrednosti od oko -70° u slučaju UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure i vrednosti od oko -50° u slučaju CPTi, što je tipično za pasivne materijale. Negativnije vrednosti faznih uglova zabeležene za UFG materijale ukazuju na veću kompaktnost pasivnog filma formiranog na njihovoj površini. Vrednosti faznog ugla oko 0° , u širokom opsegu frekvencija od 1 do 100 Hz, za Ti-13Nb-13Zr leguru ukazuju na njenu značajno manju korozionu otpornost. Takođe, dve odvojene oblasti frekvencija se dobijaju za sve ispitivane materijale što ukazuje na postojanje dve vremenske konstante karakteristične za dvoslojan oksidni film. Vrednosti izračunatih impedansnih parametara, prikazanih u tabeli **T.9.5**, su dobijene korišćenjem modela dvoslojnog filma koji je prikazan na slici **8.6**. Dobijene vrednosti "Goodness of Fit" parametra su reda veličine 10^{-3} što ukazuje na dobro slaganje eksperimentalno dobijenih rezultata i rezultata dobijenih simulacijom.



Tabela T.9.5 Impedansni parametri ispitivanih materijala u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke.

| Materijal | R_s [$\Omega \cdot \text{cm}^2$] | Unutrašnji barijerni sloj | | | Spoljašnji porozni sloj | | |
|------------------|---|--------------------------------------|--|------|--------------------------------------|--|------|
| | | R_b [$\Omega \cdot \text{cm}^2$] | CPE_b | | R_p [$\Omega \cdot \text{cm}^2$] | CPE_p | |
| | | | Y_o [$\text{S}^n \Omega^{-1} \text{cm}^{-2}$] | n | | Y_o [$\text{S}^n \Omega^{-1} \text{cm}^{-2}$] | n |
| CPTi | 796 | $1,05 \cdot 10^6$ | $8,15 \cdot 10^{-9}$ | 0,65 | $5,76 \cdot 10^4$ | $5,61 \cdot 10^{-9}$ | 0,69 |
| UFG CPTi | 1691 | $2,22 \cdot 10^6$ | $6,85 \cdot 10^{-10}$ | 0,93 | $5,53 \cdot 10^4$ | $4,57 \cdot 10^{-9}$ | 0,70 |
| Ti-13Nb-13Zr | 2460 | $4,23 \cdot 10^5$ | $5,23 \cdot 10^{-5}$ | 0,92 | $5,23 \cdot 10^4$ | $5,51 \cdot 10^{-9}$ | 0,88 |
| UFG Ti-13Nb-13Zr | 3942 | $1,56 \cdot 10^6$ | $7,64 \cdot 10^{-9}$ | 0,93 | $9,28 \cdot 10^4$ | $5,18 \cdot 10^{-9}$ | 0,84 |

Otpornost unutrašnjeg barijernog sloja pasivnog oksidnog filma, R_b , za sve ispitivane materijale, je za jedan do dva reda veličine veća od otpornosti spoljašnjeg poroznog sloja, R_p , što pokazuje da kompaktni barijerni sloj ima bolje zaštitne karakteristike od poroznog sloja. Dobijeni rezultati pokazuju da se barijerni sloj odlikuje većom otpornošću od poroznog sloja nezavisno od sastava materijala i mikrostrukturnog stanja. R_b UFG materijala je veća od R_b CG materijala, što ukazuje na bolju korozionu postojanost materijala koji su dobijeni HPT postupkom. Iako je R_p istog reda veličine za sve materijale, može se primetiti da je R_p vrednost kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure 1,8 puta veća u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom, što ukazuje na manju poroznost oksidnog filma kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure.

Kapacitivnost poroznog sloja, CPE_p , je veća od kapacitivnosti barijernog sloja, CPE_b , za sve ispitivane materijale, osim za Ti-13Nb-13Zr leguru, kod koje je čak za 4 reda veličine manja. CPE_p vrednost je približno ista za CG i UFG Ti-13Nb-13Zr leguru, što ukazuje na obrazovanje spoljašnjeg sloja oksidnog filma približno iste debljine kod Ti-13Nb-13Zr legure u oba mikrostrukturna stanja. Naime, debljina oksidnog filma, d [m], je obrnuto proporcionalna kapacitivnosti C [F] [12]:

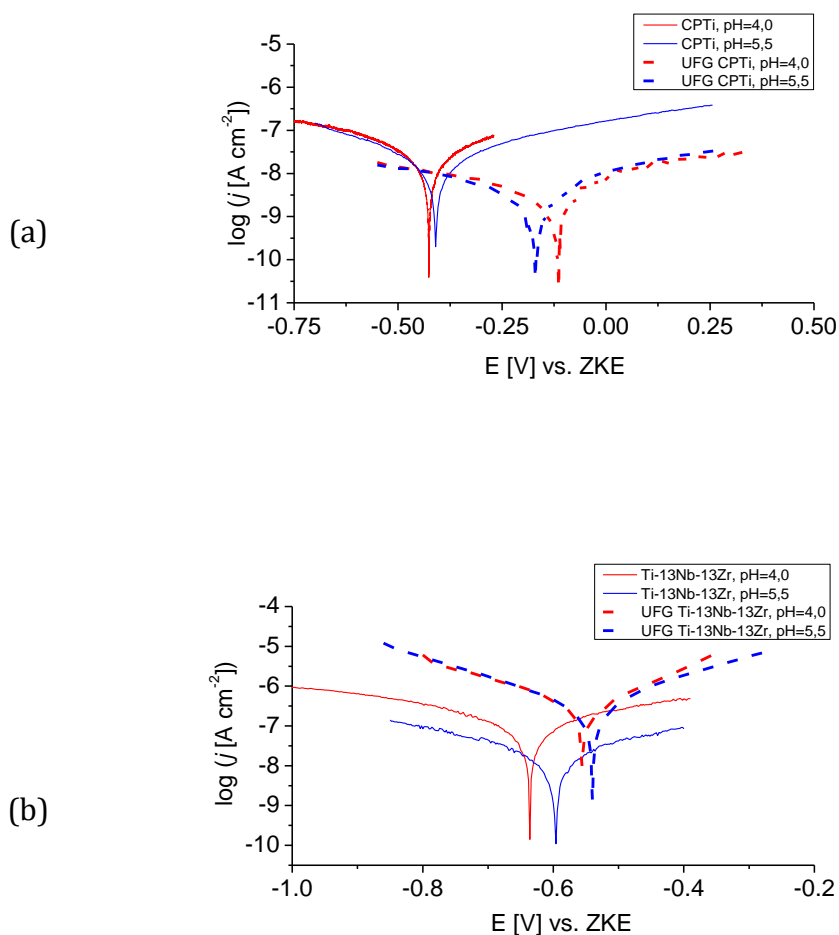
$$d = \varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot \frac{A}{C} \quad (9.1)$$

gde je ε dielektrična konstanta oksida, ε_0 je dielektrična konstanta vakuuma [$8,85 \times 10^{-12} \text{ Fm}^{-1}$] i A je efektivna površina [m^2]. Debljina oksidnog filma formiranog na površini UFG materijala je veća od debljine oksidnog filma na CG materijalima i to ide u prilog objašnjenja veće korozione otpornosti UFG materijala u odnosu na CG materijale.



Prikazani rezultati nesumnjivo pokazuju da se UFG materijali odlikuju većom korozionom otpornošću u poređenju sa CG materijalima u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke.

U cilju utvrđivanja uticaja pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke na korozionu otpornost materijala na bazi titana dobijenih konvencionalnim i HPT postupcima izrade izvršena su elektrohemijaska ispitivanja u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 i 5,5. Dobijene polarizacione krive su prikazane na slici **9.30**, dok su odgovarajuće vrednosti korozionog potencijala i gustine struje korozije prikazane u tabeli **T.9.6**.



Slika 9.30 Polarizacione krive CPTi i UFG CPTi (a) i legura Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr (b) u rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti.



Tabela T.9.6 Elektrohemijski parametri ispitivanih materijala u rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti.

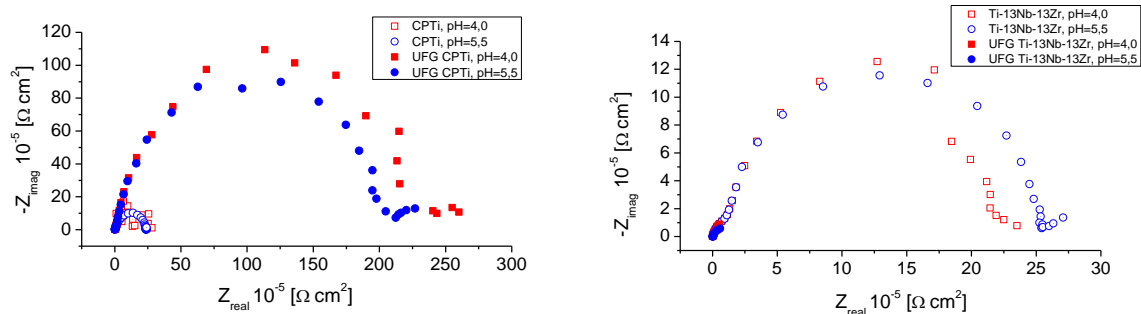
| Materijal | pH vrednost | | | |
|------------------|------------------------|-------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| | 4,0 | | 5,5 | |
| | E_{kor} [mV(ZKE)] | j_{kor} [nA·cm ⁻²] | E_{kor} [mV(ZKE)] | j_{kor} [nA·cm ⁻²] |
| CPTi | 98 | 39 | -410 | 7,1 |
| UFG CPTi | -115 | 0,7 | -165 | 0,6 |
| Ti-13Nb-13Zr | -635 | 32 | -600 | 2,8 |
| UFG Ti-13Nb-13Zr | -555 | 71 | -540 | 63 |

Sa povećanjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke sa 4,0 na 5,5 dolazi do povećanja korozione postojanosti svih ispitivanih materijala na šta ukazuju dobijene vrednosti gustine struje korozije. Naime, kod materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade povećanje pH vrednosti dovodi do smanjenja gustine struje korozije za red veličine, dok kod materijala dobijenih HPT postupkom gustina struje korozije, iako je istog reda veličine, ima nižu vrednost u rastvoru veštačke pljuvačke pH 5,5 nego u rastvoru pH 4,0.

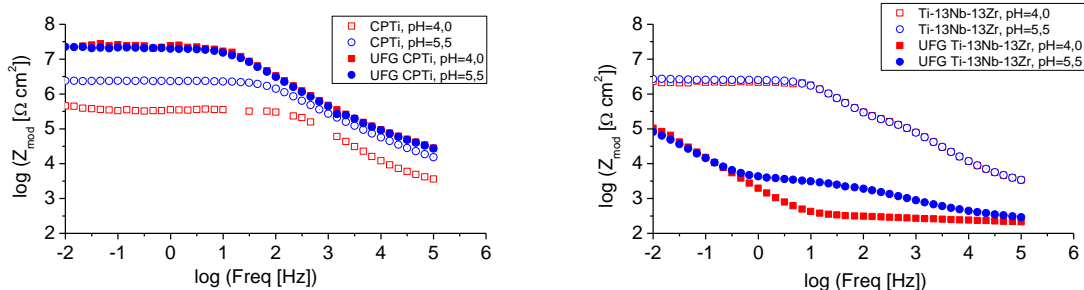
UFG CPTi u poređenju sa CPTi pokazuje za jedan do dva reda veličine manju gustinu struje korozije u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 5,5 i 4,0. Dobijeni rezultati ističu da primena HPT postupka dovodi do poboljšanja korozione stabilnosti CPTi u svim ispitivanim rastvorima veštačke pljuvačke. Pomenuti trend poboljšanja korozione postojanosti CPTi prevođenjem krupnozrne u sitnozrnu mikrostrukturu primenom HPT postupka se ne može ustanoviti u slučaju Ti-13Nb-13Zr legure u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 i 5,5. Naime, UFG Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje veće vrednosti gustine struje korozije u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom.

Kako su vrednosti gustine struje korozije za sve ispitivane materijale u rastvoru veštačke pljuvačke reda veličine 10^{-10} - 10^{-8} A·cm⁻² može se zaključiti da se materijali na bazi titana krupnozrne i sitnozrne mikrostrukture odlikuju izuzetnom korozionom stabilnošću u agresivnoj sredini.

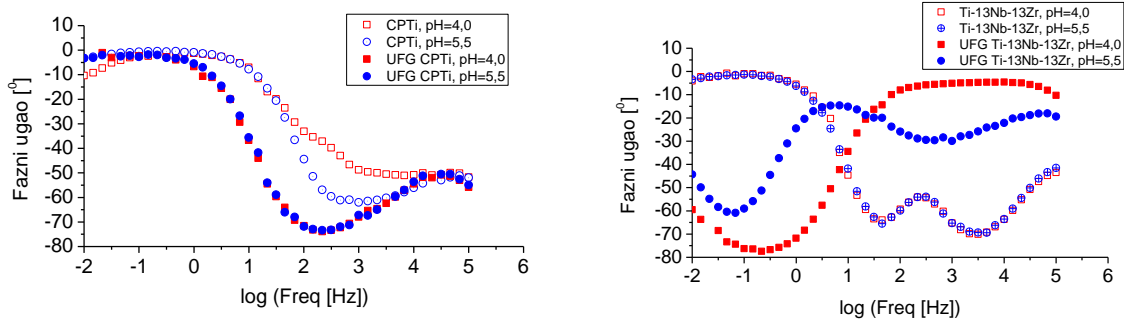
Rezultati sprovedenih EIS ispitivanja su prikazani na slici **9.31**.



(a)



(b)



(c)

Slika 9.31 Nyquist-ov dijagram (a), Bode-ov moduo dijagram (b) i Bode-ov fazni dijagram (c) za ispitivane materijale u rastvoru veštačke pljuvačke različite pH vrednosti.

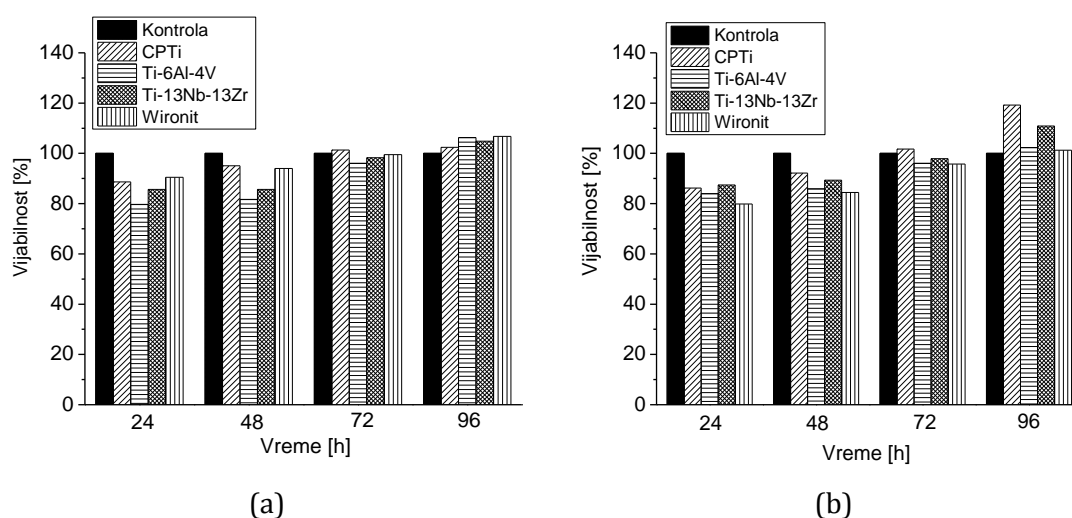


9.5. BIOKOMPATIBILNOST

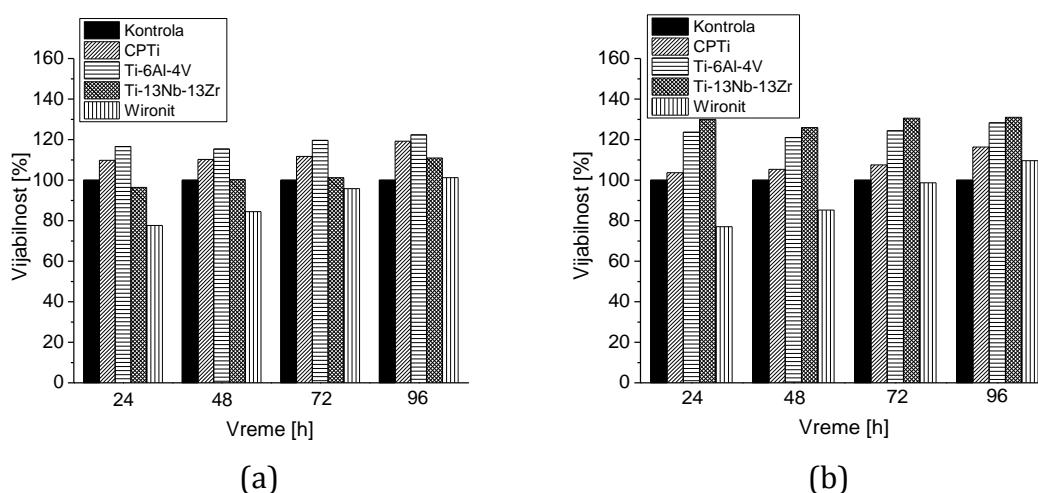
9.5.1. Testovi citotoksičnosti

9.5.1.1. Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade

Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade su podvrgnuti testovima citotoksičnosti da bi se stekla što je moguće realnija slika u vezi ponašanja ispitivanih materijala u ljudskom organizmu. Vijabilnost, *K*, L-929 i MRC-5 ćelija u kontaktu sa ispitivanim materijalima nakon 24h, 48h, 72h i 96h određena MTT i DET testovima prikazana je na slikama 9.32 i 9.33.



Slika 9.32 Rezultati MTT testa za materijale dobijene konvencionalnim postupcima: L-929 (a) i MRC-5 (b) ćelije.



Slika 9.33 Rezultati DET testa za materijale dobijene konvencionalnim postupcima: L-929 (a) i MRC-5 (b) ćelije.



Najmanju srednju vrednost vijabilnosti nakon 24h od oko 80% pokazuju L-929 ćelije na površini Ti-6Al-4V legure (slika **9.32a**), dok L-929 ćelije na površini ostalih ispitivanih materijala pokazuju veću srednju vrednost vijabilnosti i to od 86-90%. Takođe, i nakon 48h i 72h L-929 ćelije na površini Ti-6Al-4V legure pokazuju najmanji stepen preživljavanja u poređenju sa ćelijama na ostalim ispitivanim materijalima. Rangiranje materijala na osnovu frakcije preživelih L-929 ćelija za navedeni vremenski period se može prikazati sledećim nizom: Ti-6Al-4V < Ti-13Nb-13Zr < *Wironit*® ~ CPTi. Međutim, stepen preživljavanja L-929 ćelija u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima nakon 96h približno je jednak i veći je od stepena preživljavanja ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom. Zapravo, srednja vrednost vijabilnosti se nakon 96h kreće u opsegu 102-107%.

Posle 24h srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija u kontaktu sa ispitivanim materijalima iznosi 80-87% (slika **9.32b**). Nakon 48h, 72h i 96h srednja vrednost ćelijske vijabilnosti raste u sledećem nizu: *Wironit*® ~ Ti-6Al-4V < Ti-13Nb-13Zr < CPTi. Nakon 72h srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima je približno jednaka srednjoj vrednosti vijabilnosti ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom i kreće se u opsegu 96-102%. Sa daljim povećanjem vremena izlaganja dolazi do povećanja srednjih vrednosti ćelijske vijabilnosti tako da je nakon 96h srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija na površini ispitivanih materijala veća u poređenju sa kontrolnim materijalom i to za 1%, 2%, 11% i 19% za *Wironit*®, Ti-6Al-4V, Ti-13Nb-13Zr i CPTi, respektivno.

Rezultati DET testa (slika **9.33a**) pokazuju da je srednja vrednost vijabilnosti L-929 ćelija najmanja u kontaktu sa *Wironit*® legurom nakon svih vremena ispitivanja. Veća srednja vrednost vijabilnosti L-929 ćelija je zabeležena u kontaktu sa Ti-13Nb-13Zr legurom i CPTi, dok je najveća srednja vrednost vijabilnosti L-929 ćelija registrovana u slučaju Ti-6Al-4V legure. Razlika u stepenu preživljavanja L-929 ćelija u kontaktu sa ispitivanim materijalima je najviše izražena nakon 24h, kada srednja vrednost ćelijske vijabilnosti iznosi oko 117% za Ti-6Al-4V leguru i oko 110% za CPTi, dok u kontaktu sa legurama Ti-13Nb-13Zr i *Wironit*® iznosi oko 96% i 78%, respektivno. Nakon 48h, 72h i 96h, razlika u srednjim vrednostima vijabilnosti između navedenih materijala se smanjuje. Pored toga, rezultati pokazuju postepeno povećanje srednje vrednosti ćelijske vijabilnosti sa



povećanjem kontaktnog vremena i nakon 96h je dostignuta vrednost od oko 122% za Ti-6Al-4V leguru i oko 119% za CPTi.

Rezultati DET testa sa MRC-5 ćelijama (slika **9.33b**) pokazuju da srednja vrednost ćelijske vijabilnosti raste u sledećem nizu: *Wironit*® < CPTi < Ti-6Al-4V < Ti-13Nb-13Zr. Srednja vrednost ćelijske vijabilnosti u kontaktu sa *Wironit*® legurom je značajno manja u poređenju sa ostalim ispitivanim materijalima. Frakcija preživelih MRC-5 ćelija u slučaju CPTi, Ti-6Al-4V i Ti-13Nb-13Zr legura je veća od frakcije preživelih ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom već nakon 24h. Razlika u stepenu preživljavanja MRC-5 ćelija u kontaktu sa ispitivanim materijalima je najviše izražena nakon 24h, kada srednja vrednost ćelijske vijabilnosti na Ti-13Nb-13Zr leguri iznosi oko 130% odnosno 1,3; 1,1 i 1,7 puta je veća od srednje vrednosti ćelijske vijabilnosti na CPTi, Ti-6Al-4V i *Wironit*® leguri, respektivno. Nakon 96h srednja vrednost vijabilnosti ćelija u kontaktu sa ispitivanim materijalima je veća u poređenju sa kontrolnim materijalom i to za 10% u slučaju *Wironit*®, 16% u slučaju CPTi, 28% u slučaju Ti-6Al-4V legure i 31% u slučaju Ti-13Nb-13Zr legure. Prema tome, rezultati nedvosmisleno pokazuju da Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje izuzetnu citokompatibilnost sa MRC-5 ćelijama nakon svih kontaktnih vremena.

L-929 ćelije imaju nešto niži stepen preživljavanja u poređenju sa MRC-5 ćelijama u kontaktu sa ispitivanim materijalima. Međutim, uočene razlike u rezultatima ispitivanja, koje potiču od različitih vrsta ćelija korišćenih u eksperimentima, su zanemarljivo male.

Dobijeni rezultati MTT i DET testova pokazuju da ispitivani materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade ne ispoljavaju citotoksični efekat u kontaktu sa MRC-5 i L-929 ćelijama. Takođe, indeks obezbojavanja i indeks liziranja imaju vrednost nula, tako da ispitivani materijali nisu citotoksični ni prema ADT testu.

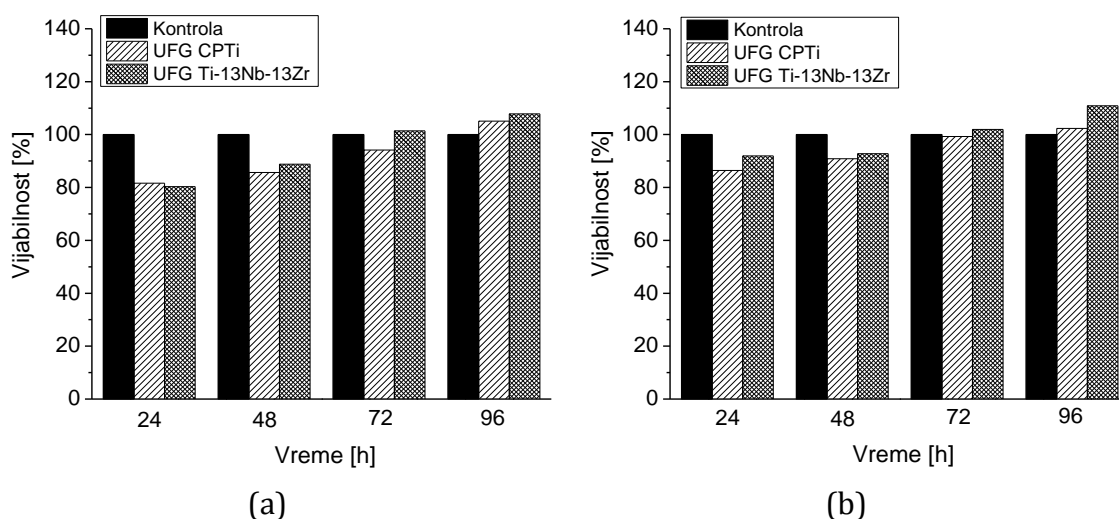


9.5.1.2. Materijali dobijeni HPT postupkom

Frakcije preživelih L-929 i MRC-5 ćelija u kontaktu sa UFG materijalima, dobijene kao rezultat izvedenog MTT testa, prikazane su na slici 9.34.

Frakcija preživelih L-929 ćelija nakon 24h iznosi oko 80% i za UFG CPTi i za UFG Ti-13Nb-13Zr leguru. Sa povećanjem kontaktnog vremena dolazi do porasta frakcije preživelih ćelija. Nakon 48h, 72h i 96h L-929 ćelije pokazuju veću srednju vrednost vijabilnosti u kontaktu sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom u odnosu na UFG CPTi, pri čemu je srednja vrednost vijabilnosti veća u poređenju sa kontrolnim materijalom tek nakon 96h kada iznosi 105% za UFG CPTi i 108% za UFG Ti-13Nb-13Zr leguru (slika 9.34a).

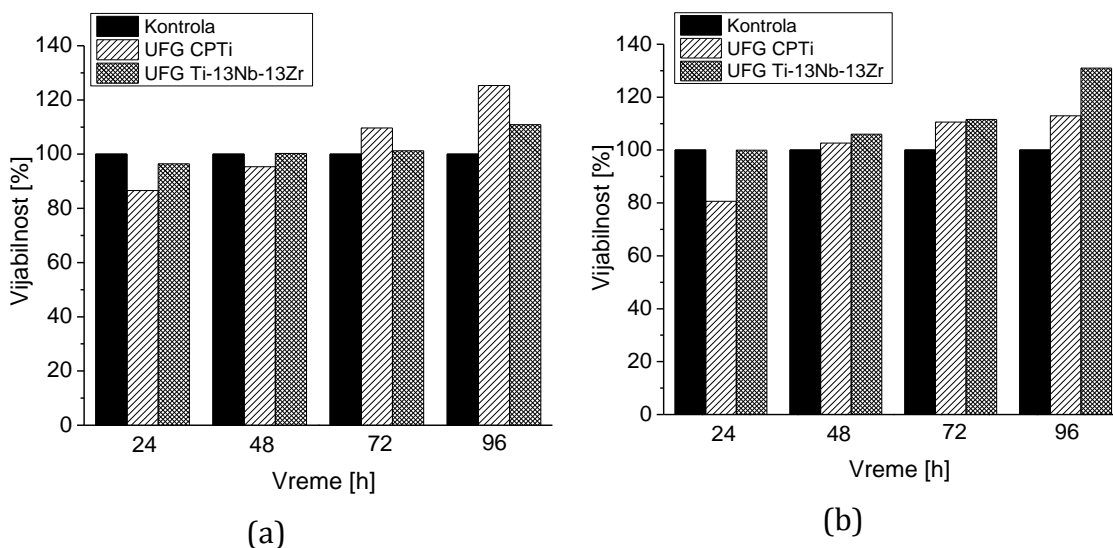
MRC-5 ćelije pokazuju sličan trend kao i L-929 ćelije, s tim što je srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija nakon svih ispitivanih vremena veća kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure u poređenju sa UFG CPTi. Nakon 96h frakcija preživelih MRC-5 ćelija u kontaktu sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom je za 9% i 11% veća od frakcije preživelih MRC-5 ćelija u kontaktu sa UFG CPTi i kontrolnim materijalom, respektivno, kao što je prikazano na slici 9.34b.



Slika 9.34 Rezultati MTT testa za materijale dobijene HPT postupkom: L-929 (a) i MRC-5 (b) ćelije.



Rezultati DET testa izvedenim korišćenjem L-929 ćelija (slika 9.35a) pokazuju da je nakon 24h i 48h srednja vrednost vijabilnosti ćelija veća u slučaju UFG Ti-13Nb-13Zr legure u odnosu na UFG CPTi, dok je nakon 72h i 96h srednja vrednost vijabilnosti ćelija veća u kontaktu sa UFG CPTi nego sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom i to za 9% nakon 72h i za 14% nakon 96h. Za razliku od L-929 ćelija, MRC-5 ćelije prate trend utvrđen MTT testom, odnosno srednja vrednost vijabilnosti ćelija u kontaktu sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom je veća nego u kontaktu sa UFG CPTi nakon svih kontaktnih vremena (slika 9.35b). Srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija u kontaktu sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom dostiže srednju vrednost vijabilnosti ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom već nakon 24h, dok je čak za 31% veća nakon 96h.



Slika 9.35 Rezultati DET testa za materijale dobijene HPT postupkom: L-929 (a) i MRC-5 (b) ćelije.

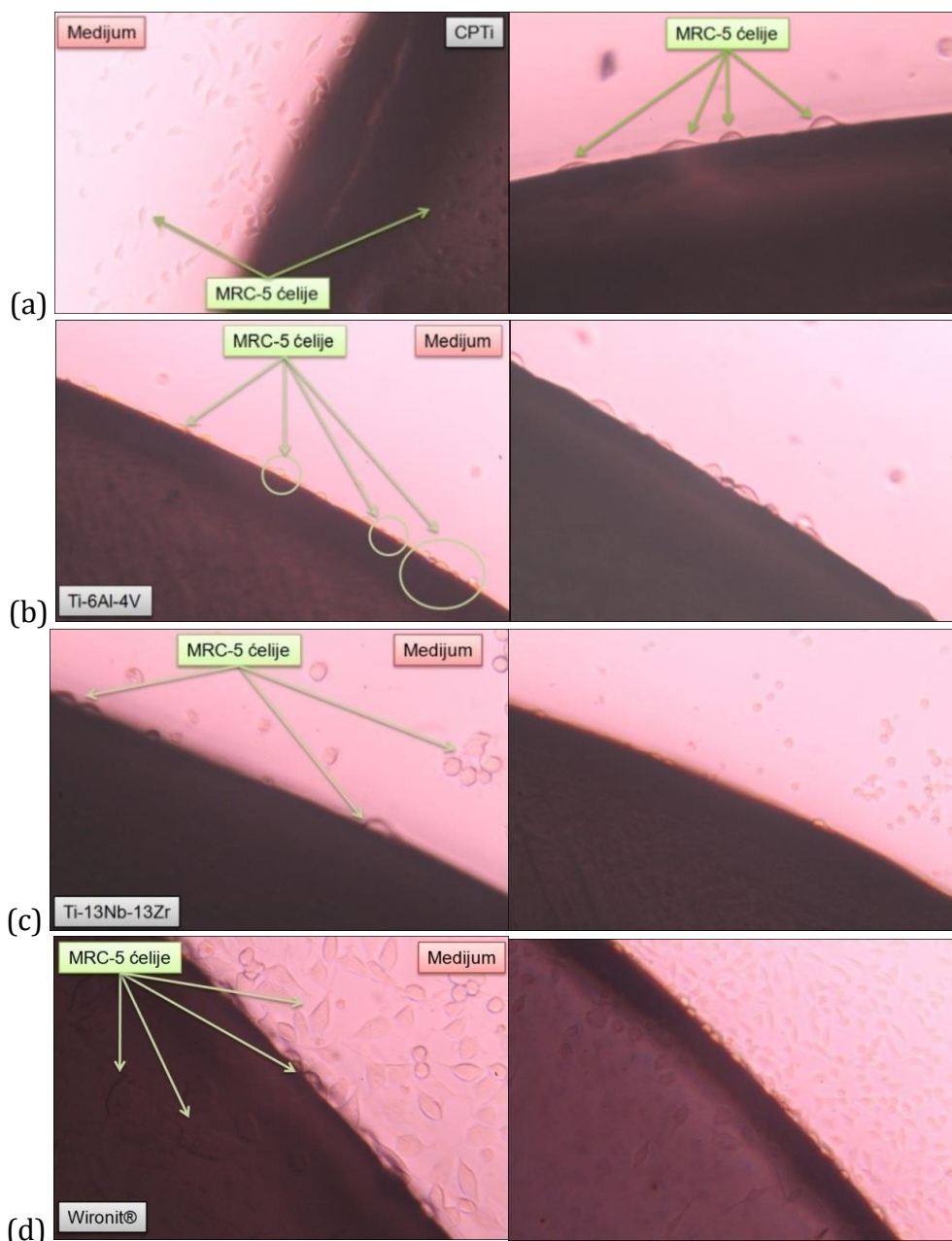
Rezultati izvedenog ADT testa jasno pokazuju da UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura ne ispoljavaju citotoksični efekat, jer su indeks obezbojavanja i indeks liziranja jednaki nuli.



9.5.2. Morfologija ćelija

9.5.2.1. Materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade

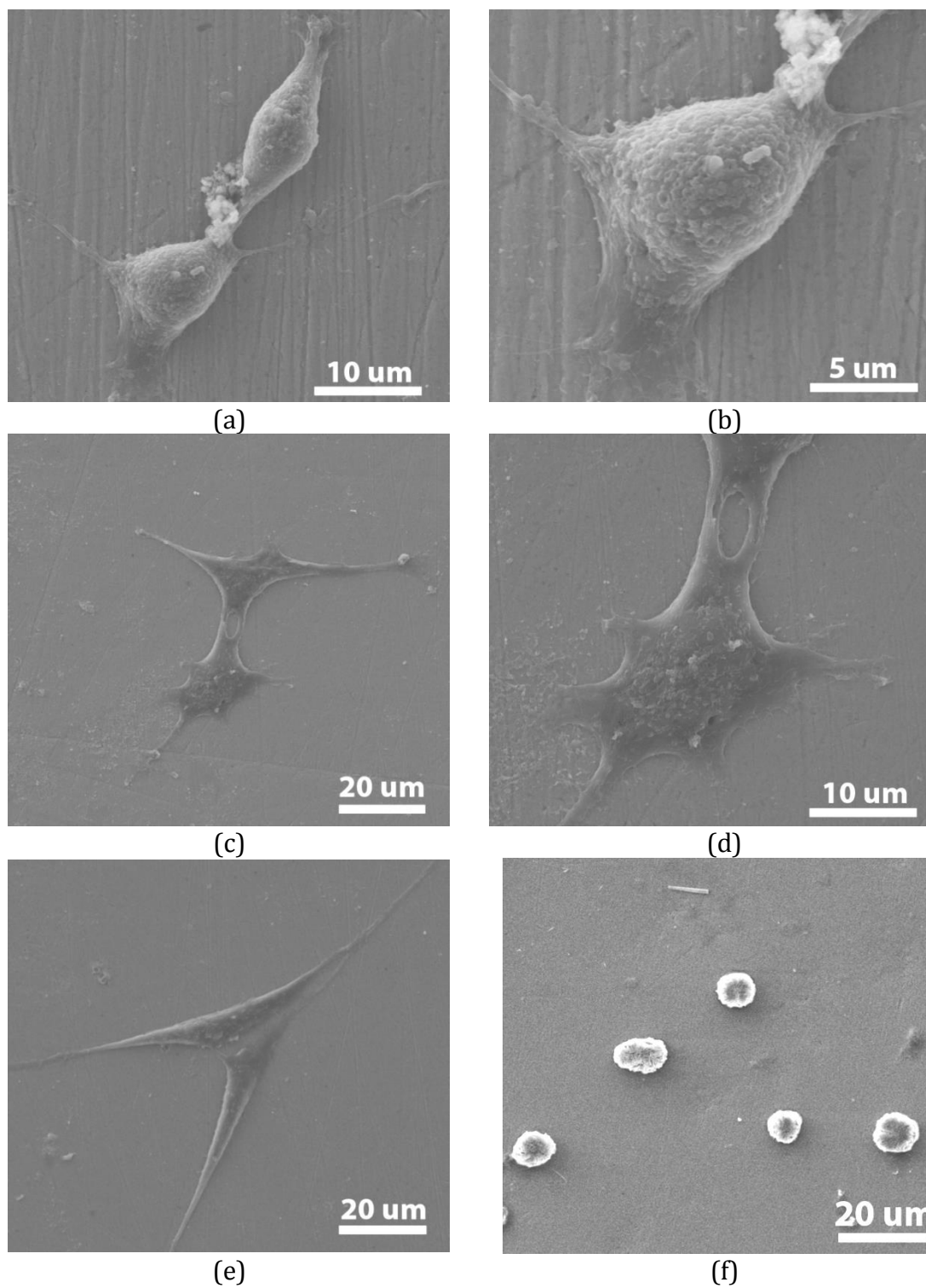
Mikrofotografije MRC-5 ćelija u kontaktu sa ispitivanim materijalima dobijenim konvencionalnim postupcima izrade prikazane su na slici 9.36, dok je SEM analiza ovih ćelija prikazana na slikama 9.37-9.40.



Slika 9.36 MRC-5 ćelije u kontaktu sa CPTi (a); Ti-6Al-4V (b); Ti-13Nb-13Zr (c) i Wironit® (d).



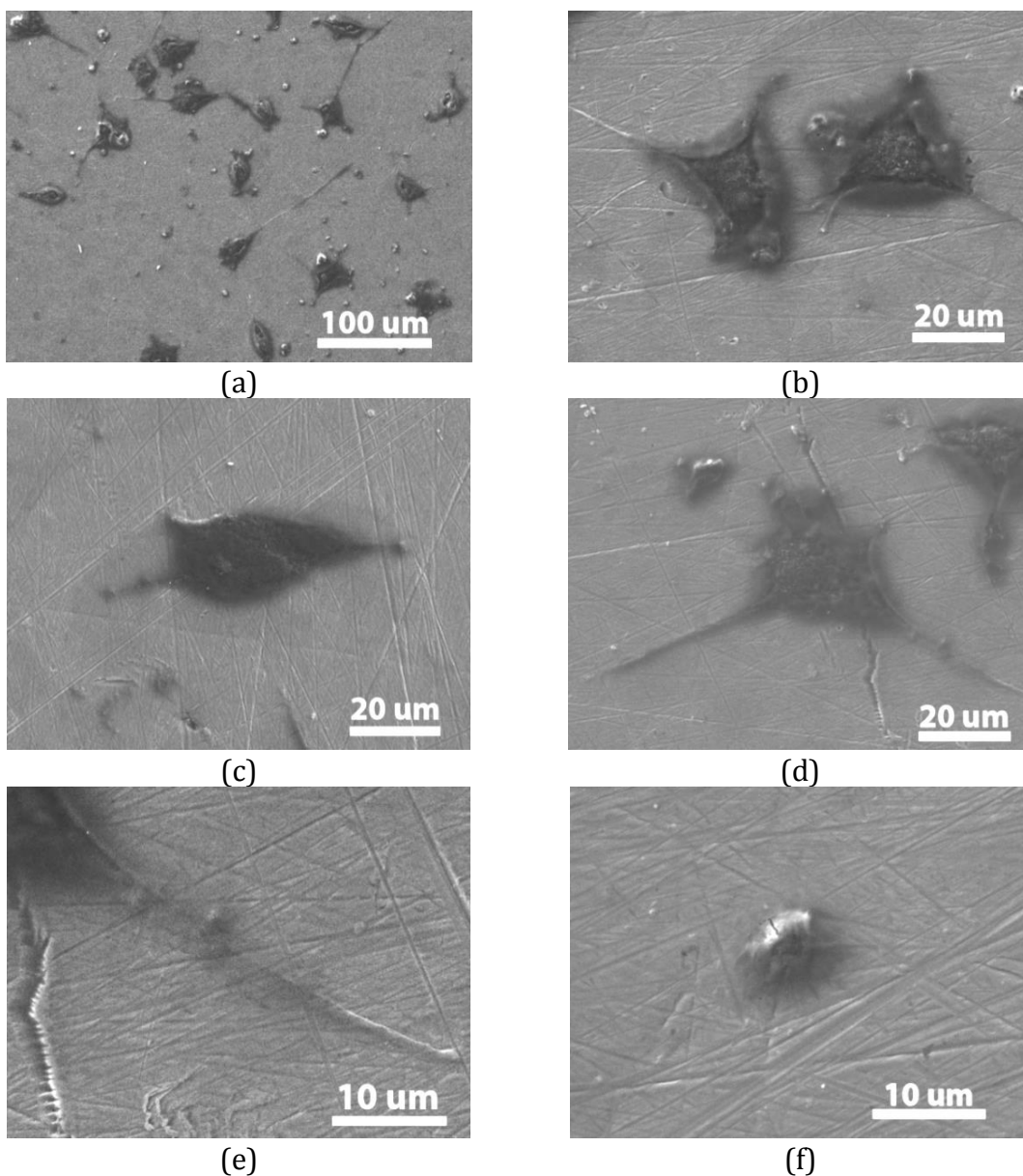
MRC-5 ćelije mogu imati različite oblike kao što su vretenasti, okrugli, izduženi, trouglasti i zvezdasti [257, 258]. Na površini CPTi se mogu primetiti vretenaste, zvezdaste i trouglaste MRC-5 ćelije, kao što je prikazano na slici **9.37**. Ćelije su međusobno povezane citoplazmatičnim nastavcima i nalaze se u paru (slike **9.37a**; **9.37c**; **9.37e**). Citoplazmatični nastavci su razvijeni i omogućavaju međusobno povezivanje ćelija, kao i vezivanje ćelija za površinu (slike **9.37b** i **9.37d**). Pored toga, primećene su i ćelije koje su okrugle i skupljene, bez i jednog citoplazmatičnog nastavka (slika **9.37f**). Ove ćelije predstavljaju negativan granični slučaj. Međutim, analizom cele površine uzoraka CPTi nije primećeno prisustvo velikog broja ovakvih ćelija.



Slika 9.37 SEM mikrofotografije MRC-5 ćelija na površini CPTi.



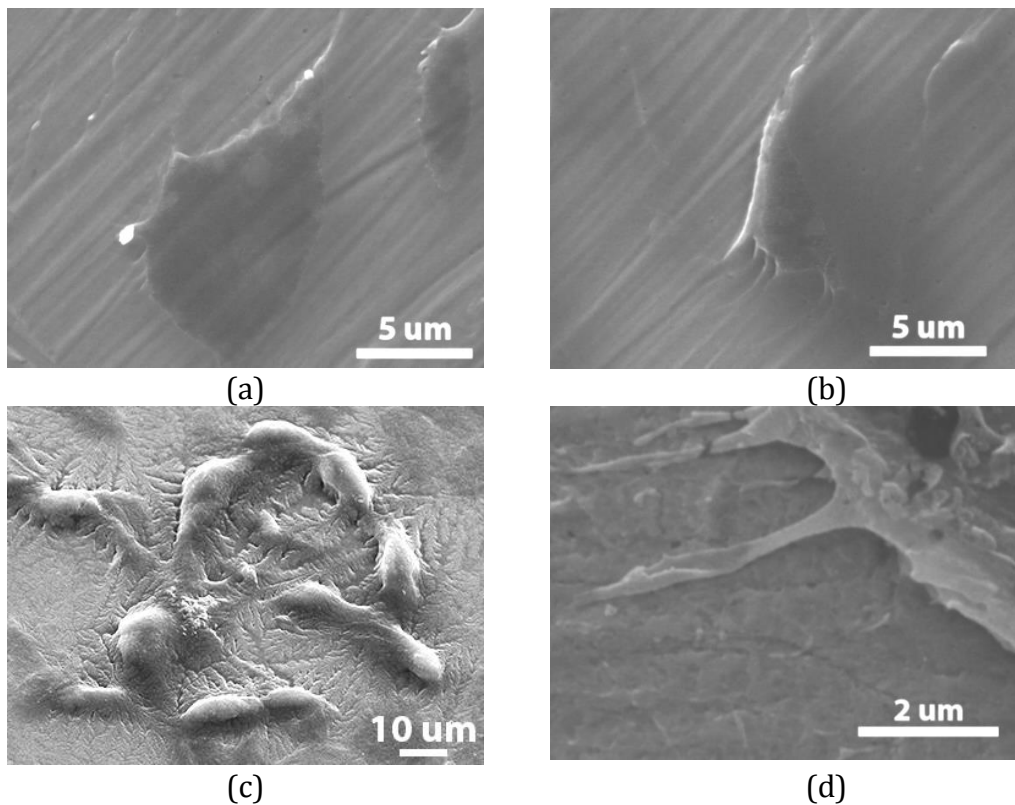
Na površini Ti-6Al-4V legure se mogu uočiti MRC-5 ćelije karakterističnog trouglastog (slika 9.38b) i izduženog vretenastog oblika (slika 9.38c) sa izraženim citoplazmatičnim nastavcima (slike 9.38d i 9.38e). Pored toga, primećeno je prisustvo ćelija koje su okrugle i skupljene bez citoplazmatičnih nastavaka (slika 9.38f), što nije poželjno kod materijala koji se razvijaju za primenu u ljudskom organizmu. Međutim, pregledom cele površine uzorka Ti-6Al-4V legure uočeno je mnogo više voluminoznih metabolički aktivnih ćelija nego okruglih i nerazvijenih ćelija.



Slika 9.38 SEM mikrofotografije MRC-5 ćelija na površini Ti-6Al-4V legure.

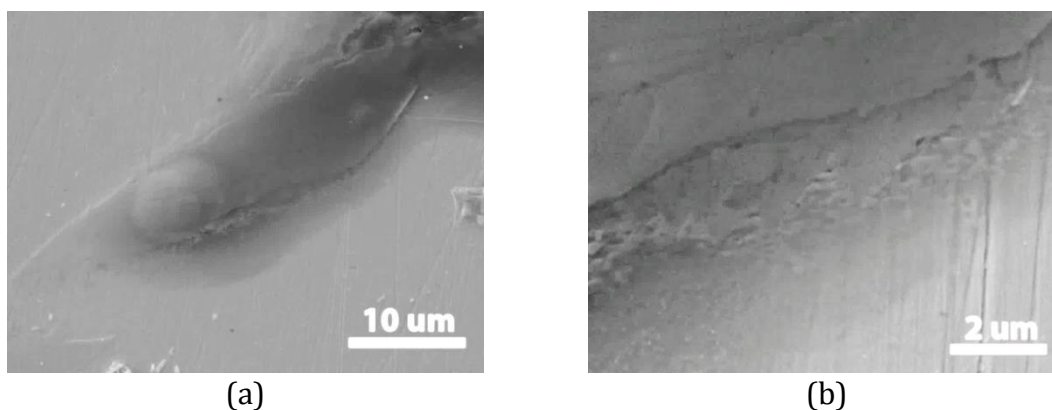


Slika 9.39 pokazuje MRC-5 ćelije na površini Ti-13Nb-13Zr legure koje su ovalnog, izduženog i trouglastog oblika. Ćelije su međusobno povezane sa težnjom da izgrade tkivo (slika 9.39c) i pripojene su za površinu legure citoplazmatičnim nastavcima (slika 9.39d).



Slika 9.39 SEM mikrofotografije MRC-5 ćelija na površini Ti-13Nb-13Zr legure.

MRC-5 ćelije na površini Wironit® legure su izdužene i vretenaste, kao što je prikazano na slici 9.40a. Pregledom površine vidi se da su ćelije dobro raširene i adherirane na površini (slika 9.40b).

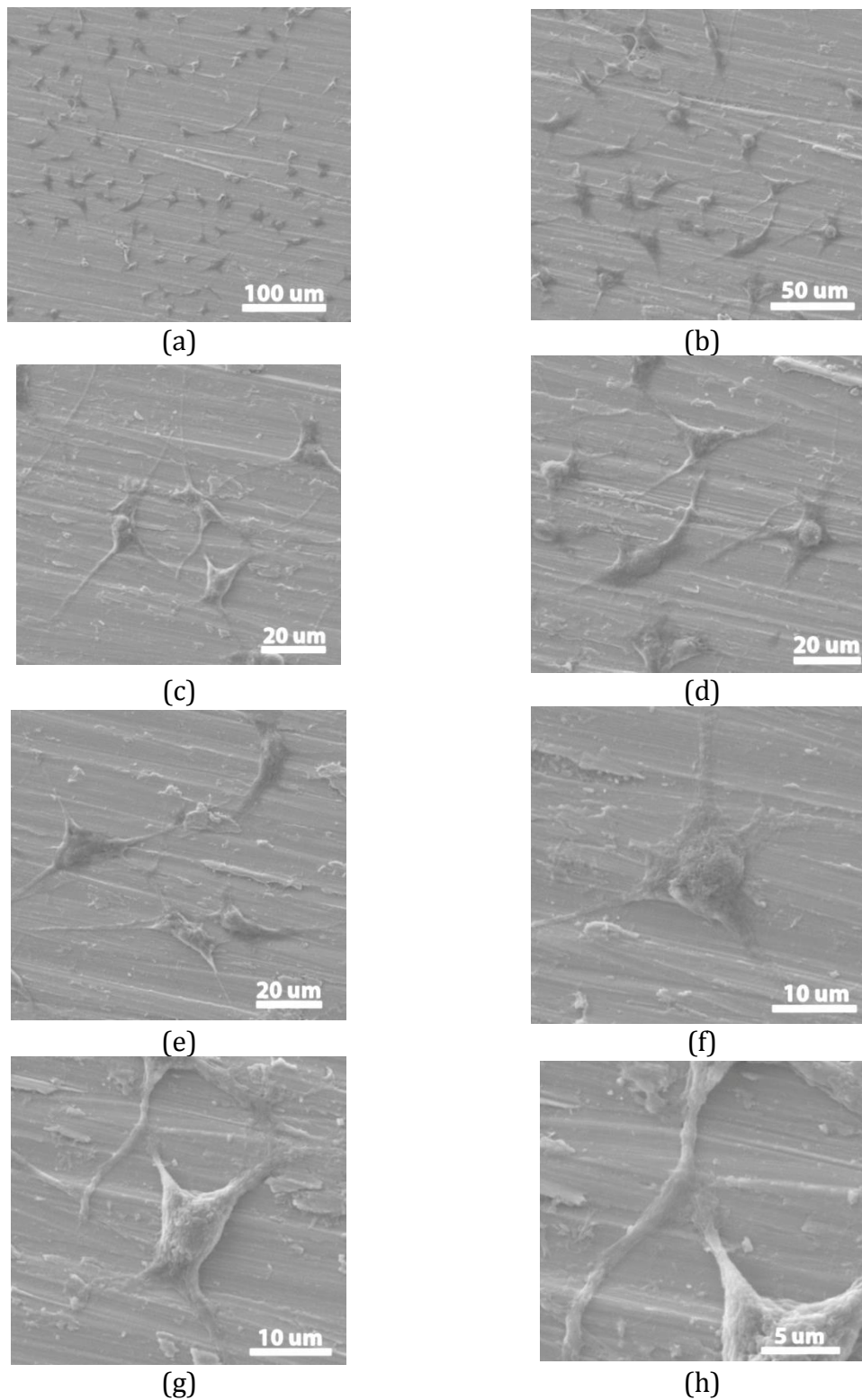


Slika 9.40 SEM mikrofotografije MRC-5 ćelija na površini Wironit® legure.

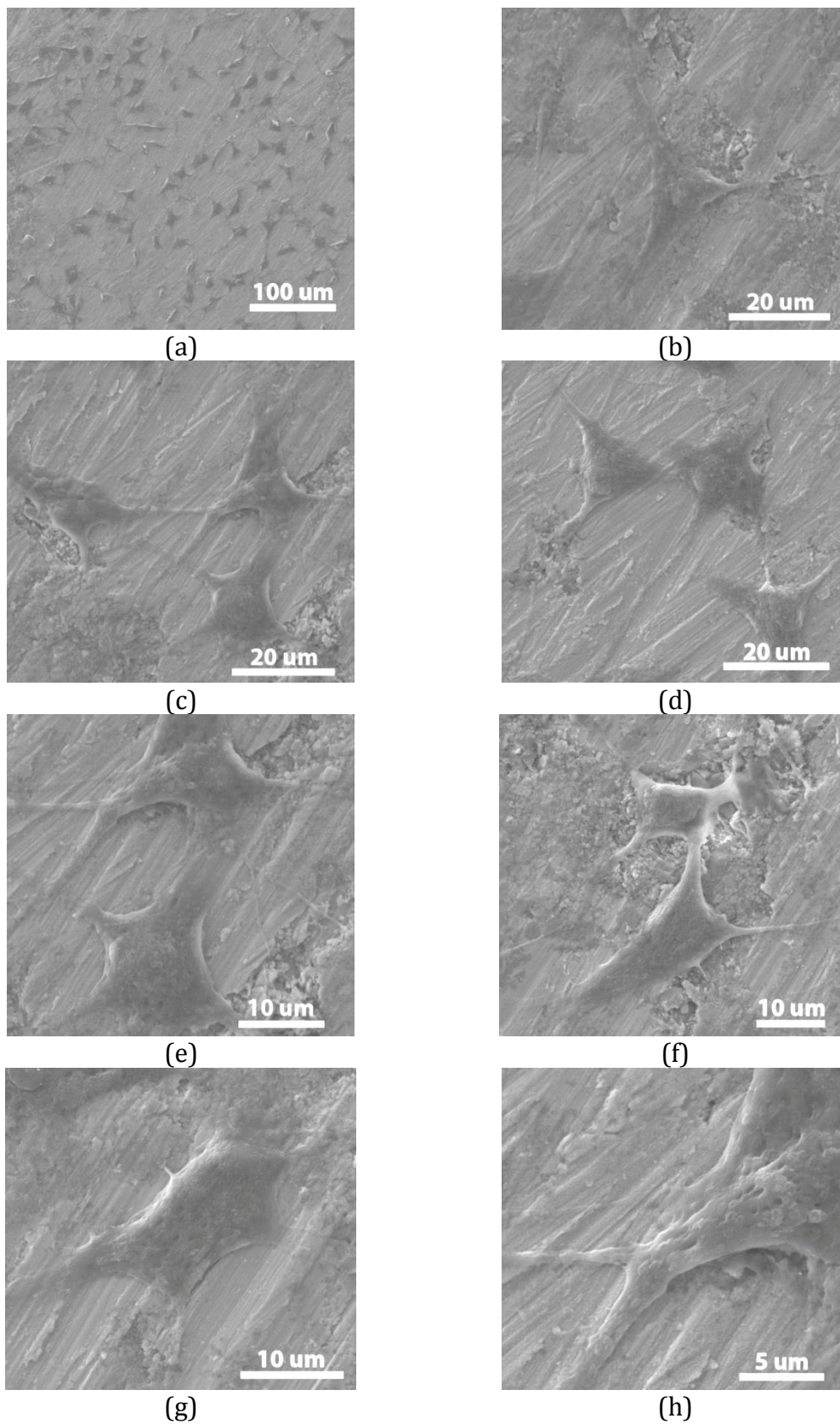


9.5.2.2. Materijali dobijeni HPT postupkom

Izgled humanih fibroblasta pluća, MRC-5 ćelija, na površini sitnozrnih materijala, dobijen primenom SEM, prikazan je na slikama 9.41 i 9.42.



Slika 9.41 SEM mikrofotografije MRC-5 ćelija na površini UFG CPTi.



Slika 9.42 SEM mikrofotografije MRC-5 ćelija na površini UFG Ti-13Nb-13Zr legure.



MRC-5 ćelije na površini sitnozrnih materijala su uglavnom trouglastog i zvezdastog oblika sa izraženim citoplazmatičnim nastavcima, kojima se sa jedne strane međusobno povezuju, a sa druge strane vezuju za materijal na kom se nalaze. SEM analiza ovih ćelija pokazuje njihovu voluminoznu prirodu, što je indikator metaboličke aktivnosti ćelija. Za razliku od krupnozrnih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, pregledom površine materijala sitnozrne mikrostrukture nisu uočene okrugle ćelije bez citoplazmatičnih nastavaka, što ukazuje na njihovu izrazitu biokompatibilnost.



10. DISKUSIJA

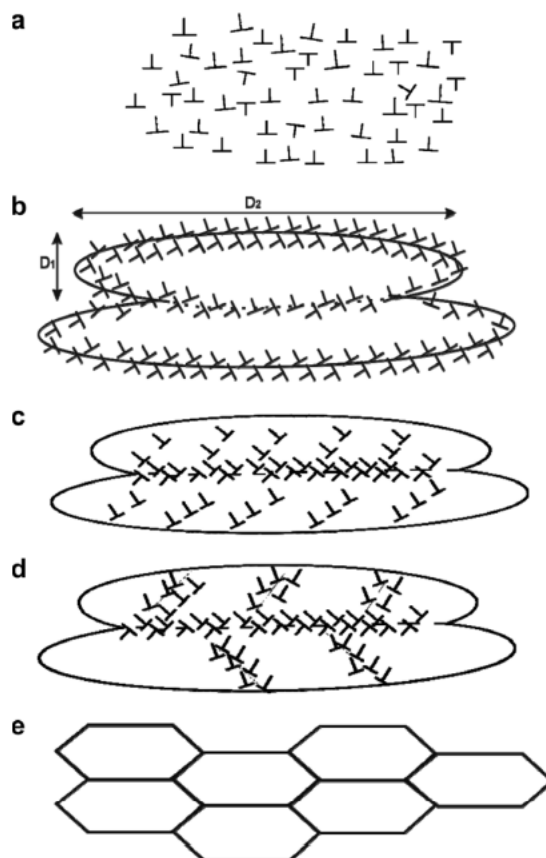
10.1. Izrada materijala na bazi titana sitnozrne mikrostrukture

Osnovni cilj razvoja metalnih materijala za primenu u biomedicini je izrada materijala koji će imati takve karakteristike da sa jedne strane može da obavlja svoju funkciju određeno vreme u agresivnoj biološkoj sredini i da sa druge strane bude kompatibilan sa ćelijama i tkivima ljudskog organizma. Kada se navedeni zahtevi posmatraju sa stanovišta metalnih materijala za izradu dentalnih implanata bitno je naglasiti da materijal treba da bude izuzetno otporan na korozionu sredinu kakva je usna duplja tako da ne dolazi do degradacije materijala i da implantni materijal obavljajući svoju funkciju ne dovodi do neželjenih reakcija u ljudskom organizmu koje bi mogle da ugroze zdravlje pacijenata. Poslednjih godina istraživanja su usmerena ka metalnim materijalima podvrgnutim SPD postupcima obrade tokom kojih se postiže usitnjavanje mikrostrukture koje dovodi do poboljšanja mehaničkih i bioloških karakteristika materijala. Za izradu materijala za biomedicinsku primenu najčešće se koriste HPT, ECAP i ARB postupci, pri čemu se kao najbitnija prednost HPT postupka u poređenju sa ostalim SPD postupcima izdvaja mogućnost postizanja veoma visokih vrednosti smicajnih deformacija [231]. Ovakva deformacija metala omogućava postizanje željenih karakteristika materijala za izradu dentalnih implanata.

U okviru doktorske disertacije su primenom HPT postupka pod pritiskom od 7,8 GPa na sobnoj temperaturi dobijeni materijali sitnozrne mikrostrukture UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura, pri čemu je variran broj obrtaja (0, ¼, 1, 5 i 11) u cilju utvrđivanja uticaja broja obrtaja na stepen usitnjenosti mikrostrukture. CPTi je jednofazni materijal u čijoj strukturi na sobnoj temperaturi mogu da se primete samo ravnoosna α zrna (slika 9.1). CPTi se obično podvrgava toplom valjanju, kovanju i termičkim tretmanima u α oblasti [259]. Prema podacima dostupnim u literaturi tipična temperatura procesiranja CPTi je oko 800°C [259, 260]. Međutim, objavljene studije pokazuju da čak i kada se CPTi izloži temperaturama koje su više od temperature fazne transformacije (iznad 882,5°C) i brzom hlađenju iz β oblasti, neće biti sprečena transformacija β faze u α fazu, što rezultuje nastankom



mikrostrukture koju čini samo α faza [260]. Zapravo, pokazano je da se $\beta \rightarrow \alpha$ transformacija ne može sprečiti bez obzira na promenu brzine hlađenja. Potpuna $\beta \rightarrow \alpha$ transformacija dovodi do formiranja mikrostrukture u kojoj su dominantna samo α zrna, pri čemu morfologija (veličina i oblik) ovih zrna, kao i oblik granica zrna mogu da budu različiti. Primena HPT postupka dovodi do promene mikrostrukture ovog materijala tako što u početnoj fazi primenom visokog pritiska bez uvijanja dolazi do izduženja α zrna (slika 9.5), a zatim se primenom visokog pritiska u kombinaciji sa uvijanjem formiraju ultrafina globularna α zrna (slike 9.6-9.9). Elias i saradnici [20] su u svojoj studiji pokazali da SPD predstavlja efektivan način za dobijanje UFG strukture CPTi. Prema ovoj grupi autora, UFG struktura nastaje razbijanjem originalnih zrna i sukcesivnom rotacijom subzrna u nova ultrafina zrna povećanjem mizorijentacije (razlike u kristalografskoj orijentaciji) između susednih zrna. Mehanizam formiranja ultrafina zrna je detaljno opisan od strane Mishra i saradnika [261]. Slika 10.1 na pojednostavljen način prikazuje razvoj mikrostrukture tokom SPD postupaka deformisanja. Naime, na samom početku procesa deformisanja javlja se slučajna distribucija dislokacija (slika 10.1a). Ovakav slučajan raspored dislokacija, kao konfiguracija visoke energije, omogućava formiranje izduženih kristalografskih ćelija (slika 10.1b). Kako se proces deformisanja nastavlja dolazi do povećanja mizorijentacija i ćelije postaju izdužena subzrna (slika 10.1c). Ova izdužena subzrna podvrgnuta plastičnom deformisanju se dalje razbijaju na još sitnija subzrna (slika 10.1d). Na kraju procesa dolazi do reorijentacije granica subzrna i izdužena subzrna se dalje razbijaju formirajući približno ravnoosna ultrafina zrna (slika 10.1e). Za opisani postupak, koji je karakterističan za SPD metode, se u literaturi koriste različiti nazivi, kao što su rotaciona dinamička rekristalizacija, formiranje geometrijski neophodnih granica i kontinualna rekristalizacija [262].



Slika 10.1 Shematski prikaz razvoja mikrostrukture tokom SPD postupaka: slučajna distribucija dislokacija (a); formiranje izduženih kristalografskih ćelija; $D_2 \gg D_1$ (b); dislokacije su blokirane granicama subzrna (c); razbijanje izduženih subzrna (d); reorijentacija granica subzrna i formiranje ultrafinih zrna (e) [261].

Mikrostruktura Ti-13Nb-13Zr legure u livenom stanju se sastoji iz α i β faze, pri čemu acikularna α faza dominira u strukturi (slika 9.2). Poznato je da prisustvo Nb, čak i u malom masenom udelu u leguri (2,5 mas.%), stabilizuje visokotemperaturnu β fazu, dok je Zr izomorfan i sa α i sa β fazom i kao neutralni legirajući element nema uticaj na temperaturu fazne transformacije [263]. Prema tome, može se reći da su kod Ti-13Nb-13Zr legure na sobnoj temperaturi prisutne obe faze pri čemu se primećuje visoki udeo niskotemperaturne α faze [264]. Primena HPT postupka kod Ti-13Nb-13Zr legure dovodi do transformacije acikularnih u globularna zrna i postiže se značajno usitnjavanje mikrostrukture (slike 9.10-9.14). Treba napomenuti da se nakon primene HPT postupka detektuju zrna manje veličine čije granice nisu jasno definisane. Ovakve zamućene granice zrna su posledica postojanja jakih unutrašnjih naprezanja [265]. Perez i saradnici [266] su Ti-13Nb-13Zr leguru plastično deformisali primenom HPT postupka na



sobnoj temperaturi, pri čemu su za deformisanje koristili različite vrednosti pritiska (1; 4,5 i 6 GPa) sa ciljem ispitivanja njegovog uticaja na mikrostrukturu. Naime, nakon primene pritiska od 1 GPa dobijaju se usitnjena α zrna unutar β zrna, pri čemu su α zrna acikularne morfologije isto kao u inicijalnom materijalu. Povećanje pritiska na 4,5 GPa dovodi do savijanja α zrna zbog visoke vrednosti napona, dok primenjeni pritisak od 6 GPa dovodi do formiranja globularnih α zrna, što je u skladu sa rezultatima prikazanim u disertaciji. Valiev i saradnici [266] su u svojoj studiji izveli nekoliko veoma bitnih zaključaka u pogledu mikrostrukture HPT obrađenih materijala. Prema ovim autorima, granice zrna kod UFG materijala dobijenih HPT postupkom nisu jasno izražene i ne može da se uoči kontrast koji je karakterističan za dobro formirane granice zrna. Ovakav nedostatak jasnih kontura ukazuje na postojanje izuzetno velikog zaostalog napona u materijalu koji se javlja kao posledica uvođenja velike plastične deformacije. Pored toga, za UFG materijale je karakteristična pojava velikih mizorijentacija između susednih zrna. Wang i saradnici [243] su takođe dobili sitnozrnu mikrostrukturu CPTi primenom HPT postupka sa nejasnim i zamućenim granicama zrna. Međutim, podvrgavanje HPT deformisanog CPTi naknadnom livenju dovodi do formiranja zrna nešto veće veličine ali sa jasno definisanim granicama.

U okviru doktorske disertacije primenom SAD metode je potvrđeno postojanje α faze kod UFG CPTi i α i β faze kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure, dok se formiranje ω faze ne može sa sigurnošću potvrditi (slike **9.16c** i **9.16d**). Edalati i saradnici [248] su dokumentovali skoro potpunu transformaciju α faze u ω fazu kod CPTi tokom primene HPT postupka pod pritiskom od 6 GPa na sobnoj temperaturi, dok formiranje β faze nije detektovano. Osim toga, primećeno je da se sa smanjenjem temperature procesiranja od sobne do kriogenske smanjuje udeo ω faze. Kod materijala na bazi titana, ω faza je metastabilna faza zasnovana na regularnoj heksagonalnoj strukturi rešetke sa tri atoma po jediničnoj ćeliji na pozicijama (0,0,0), (1/3,2/3,1/2) i (2/3,1/3,1/2), gde su a i c odgovarajući parametri kristalne rešetke u osnovnoj ravni i perpendikularno u odnosu na osnovnu ravan, respektivno i aksijalni odnos c/a iznosi $\sim 0,61$ [268]. Nasuprot ω fazi, α faza ima dva atoma po jediničnoj ćeliji na pozicijama (1/3,2/3,1/4) i (2/3,1/3,3/4) sa aksijalnim odnosom $c/a \sim 1,58$. U literaturi se mogu naći publikacije u kojima je



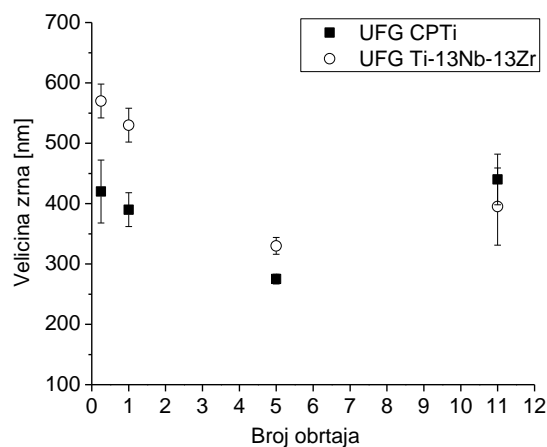
pokazana $\alpha \rightarrow \omega$ transformacija kod CPTi koji je podvrgnut HPT postupku pri različitim pritiscima od 3 GPa [269], 4 GPa [270], 5 GPa [271] i 6 GPa [248]. Prema Edalati i saradnicima [270] primenjeni pritisak je važan faktor za prevođenje α faze u ω fazu. Takođe, Shirooyeh i saradnici [241] su u svojoj studiji pokazali da dolazi do $\alpha \rightarrow \omega$ transformacije kada se CPTi podvrgne HPT postupku pod pritiskom od 6 GPa čak i za $n=1/4$, dok su Zhilyaev i Langdon [231] detektovali veliki procenat ω faze kod CPTi koji je izložen pritisku od 6 GPa ali za broj obrtaja iznad 10. Rezultati dobijeni sprovedenim ispitivanjima u okviru ove doktorske disertacije ne mogu sa sigurnošću da potvrde formiranje ω faze kod UFG CPTi, jer se difrakcioni prstenovi dobijeni SAD analizom poklapaju za α i ω fazu. Pregledom literature pronađeni su radovi koji pokazuju odsustvo ω faze kod HPT deformisanog CPTi-2 delovanjem pritiska od 6 GPa i 10 rotacija, što je objašnjeno upotrebom CPTi sa visokim sadržajem kiseonika (0,25 mas.%) [272]. Poznato je da je prisustvo kiseonika efikasno u suzbijanju $\alpha \rightarrow \omega$ fazne transformacije povećanjem relativne energije ω faze i energetske barijere za transformaciju [273]. Iste zaključke su izveli i Todaka i saradnici [271] koji su naveli da povećanje sadržaja kiseonika sprečava $\alpha \rightarrow \omega$ transformaciju, dok povećanje deformacije favorizuje navedenu faznu transformaciju. Pored toga, ova grupa autora je navela da se metastabilna ω faza formirana primenom HPT postupka reverzno transformiše u α fazu već na 150°C. Slično, Huang i saradnici [274] su pokazali da ω faza formirana HPT postupkom nestaje tokom desetominutnog žarenja na temperaturi od 200°C. Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure primenom SAD metode u ovoj disertaciji je detektovano postojanje obe faze, α i β , kao i u inicijalnom materijalu, dok se neki difrakcioni prstenovi mogu povezati sa novoformiranom ω fazom. Perez i saradnici [266] nisu detektovali ω fazu u mikrostrukturi UFG Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnute HPT postupku na pritisku od 1 GPa nakon 3 rotacije na sobnoj temperaturi. Međutim, oni su pokazali da se ω faza pojavljuje u procentu od 17,4% uz 40,5% α faze i 42,1% β faze nakon primene pritiska od 4,5 GPa, dok povećanje pritiska na 6 GPa dovodi do povećanja udela ω faze na 21,1%, dok su udeli α i β faza 36,5% i 42,1%, respektivno.

Na stepen usitnjenosti mikrostrukture značajno utiču mnogobrojni faktori, kao što su prečnik i debljina uzoraka, primenjeni pritisak, temperatura i broj obrtaja



(rotacija) klipa. Rezultati dobijeni sprovedenim istraživanjima u ovoj disertaciji na prvom mestu pokazuju da je veličina zrna različita duž prečnika uzoraka podvrgnutih HPT postupku, što je u skladu sa istraživanjem sprovedenim od strane Zhilyaev i Langdon [231]. Kod UFG CPTi veličina zrna je manja na ivici u poređenju sa središnjim delom uzorka, što je u skladu sa činjenicom da se deformacija povećava sa povećanjem rastojanja od centra uzorka kod primene HPT postupka. Sa povećanjem deformacije koja linearno raste sa povećanjem rastojanja od centra uzorka dolazi do povećanja gustine dislokacija, a veća gustina dislokacija je u vezi sa formiranjem sitnijih zrna [275]. Međutim, kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure je primećen potpuno drugačiji trend, odnosno zrna su za 20-90 nm sitnija u centru nego na ivici uzoraka, osim za uzorak dobijen za $n=1$ kod koga su zrna za 40 nm sitnija na ivici u poređenju sa centralnim delom uzorka. Treba pomenuti da je usled zamućenja granica zrna kod UFG materijala teško precizno odrediti veličinu zrna [242].

Očigledno je da HPT proces dovodi do usitnjavanja mikrostrukture čak i ako se uzme u obzir da veličina zrna nije najpreciznije određena usled zamućenja granica zrna. U okviru doktorske disertacije je pokazan i značajan uticaj broja obrtaja primenjenog HPT postupka na stepen usitnjenosti mikrostrukture materijala. Zavisnost prosečne veličine zrna sa standardnom devijacijom od broja obrtaja klipa tokom HPT postupka ispitivanih uzoraka UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure prikazana je na slici 10.2.



Slika 10.2 Zavisnost veličine zrna ($\pm SD$) UFG materijala od broja obrtaja primenjenog HPT postupka.



Povećanje broja obrtaja do određene vrednosti dovodi do smanjenja veličine zrna, dok dalje povećanje broja obrtaja iznad tzv. optimalnog broja obrtaja rezultuje formiranjem krupnijih zrna. Kao optimalna vrednost broja obrtaja u disertaciji je identifikovana vrednost od 5 obrtaja na kojoj su kod UFG CPTi dobijena zrna veličine 275 nm, a kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure zrna veličine 330 nm. Dalje povećanje broja obrtaja sa 5 na 11 dovodi do formiranja krupnijih zrna, pa je kod UFG CPTi veličina zrna 440 nm, a kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure 395 nm. Razvoj mikrostrukture jednofaznog materijala podvrgnutog HPT postupku pokazuje relativno uniformno ponašanje, odnosno sa povećanjem deformacije strukturni elementi se smanjuju kontinualno do određene kritične vrednosti deformacije iznad koje ne dolazi do daljeg usitnjavanja mikrostrukture. Treba naglasiti da ovaj fenomen, primećen tokom HPT postupka, ne zavisi od vrste materijala i procesnih parametara [276]. Objašnjenje ovog fenomena leži u činjenici da primenom visokog hidrostatičkog pritiska u kombinaciji sa uvijanjem dolazi do pojave velikih deformacija u uzorku, koje rezultuju pojavom velike gustine dislokacija. Nakon primene broja obrtaja iznad optimalnog, usled izuzetno velike gustine dislokacija i velikih vrednosti zaostalog napona dolazi do grupisanja sitnijih zrna pri čemu se formiraju krupnija zrna. Za izabrani optimalni broj obrtaja može se reći da dovodi do formiranja zasićene mikrostrukture i dalje povećanje broja obrtaja ne dovodi dalje do usitnjavanja mikrostrukture. Pinheiro i saradnici [277] su ispitivali uticaj parametara HPT postupka na mikrostrukturu Ti-6Al-7Nb legure i došli do zaključka da primena 3 rotacije dovodi do zasićenja (saturacije) mikrostrukture i povećanje broja obrtaja iznad 3 ne dovodi do njenog daljeg usitnjavanja. Zapravo kada se materijal podvrgne HPT postupku za $n=3$ deformacioni proces dostiže kvazi-ravnotežno stanje sa procesom oporavka i dobijaju se zrna veličine 97 nm, pa dalje povećanje deformacije ne dovodi do stvaranja sitnijih zrna, već se za $n=5$ dobijaju zrna veličine 107 nm.

Pregledom literature se može videti da su mnogi istraživači primenjivali HPT postupak deformisanja titana i njegovih legura sa cijem izrade UFG mikrostrukture i veličina zrna koju su dobili primenom određenih procesnih parametara HPT postupka prikazana je u tabeli **T.10.1**.



Tabela T.10.1 Pregled HPT procesiranja CPTi i legura titana [230, 240-243, 248, 266, 267, 270-272, 277-280].

| Materijal | Parametri HPT postupka | | | | Veličina zrna | | Mikrotrvrdoća [HV] | Referenca |
|-----------------|------------------------|----------------|------------------|--------------|-----------------|--------------|--------------------|-------------------------------|
| | Broj obrtaja | Pritisak [GPa] | Temperatura [°C] | Brzina [rpm] | Inicijalna [μm] | Finalna [nm] | | |
| Ti-24Nb-4Zr-8Sn | 1 | 3 | ST* | 1 | - | 50-500 | 200-300 | Sharman i saradnici [230] |
| | 50 | | | | | 20-50 | | |
| CPTi-4** | 10 | 6 | 70-450 | - | 40 | 105-120 | 455 | Islamgaliev i saradnici [240] |
| CPTi-2 | 10 | 6 | ST* | 1 | 45 | 150 | 390 | Shirooyeh i saradnici [241] |
| CPTi | 5 | 5 | ST* | - | 50 | 120 | 280 | Sergueeva i saradnici [242] |
| CPTi | 10 | 3 | ST* | - | 8,6 | 130 | 305 | Wang i saradnici [243] |
| CPTi | 10 | 6 | 26,85 (ST*) | 1 | - | 118±58 | 350 | Edalati i saradnici [248] |
| | | | -173,15 | | | 54±24 | 370 | |
| Ti-13Nb-13Zr | 3 | 1 | ST* | 3 | - | 500 | 223 | Perez i saradnici [266] |
| | | 4,5 | | | | 200 | 364 | |
| | | 6 | | | | 20 | 412 | |
| CPTi | 5 | 5 | ST* | - | - | 120 | - | Valiev i saradnici [267] |
| CPTi | ½-10 | 1,2 | ST* | 0,2 i 0,5 | - | 200 | 265 | Edalati i saradnici [270] |
| | | 6 | | | | 150 | | |
| CPTi | 10 | 1,5-5 | ST* | 0,2 | - | 100-200 | 255-377 | Todaka i saradnici [271] |
| CPTi | 10 | 3 | ST* | - | 8,6 | 130±18 | 305 | Wang i saradnici [272] |
| | | 6 | | | | 105±12 | 320 | |
| Ti-6Al-7Nb | 2 | 5 | ST* | - | 300-500 | 160 | 223 | Pinheiro i saradnici [277] |
| | 3 | | | | | 97 | 333 | |
| | 5 | | | | | 107 | 340 | |
| Ti-6Al-4V*** | 20 | 6 | ST* | 1 | 10,1 | 130 | 365 | Wang i Langdon [278] |
| CPTi | 5 | 6 | ST* | - | 9 | 10-50 | - | Faghihi i saradnici [279] |
| CPTi | 5 | 2 | 26,85 | 0,2 | 10 | 160 | 248 | Podolskiy i saradnici [280] |
| | | | -196,15 | | | 100 | 278 | |

*ST- sobna temperatura

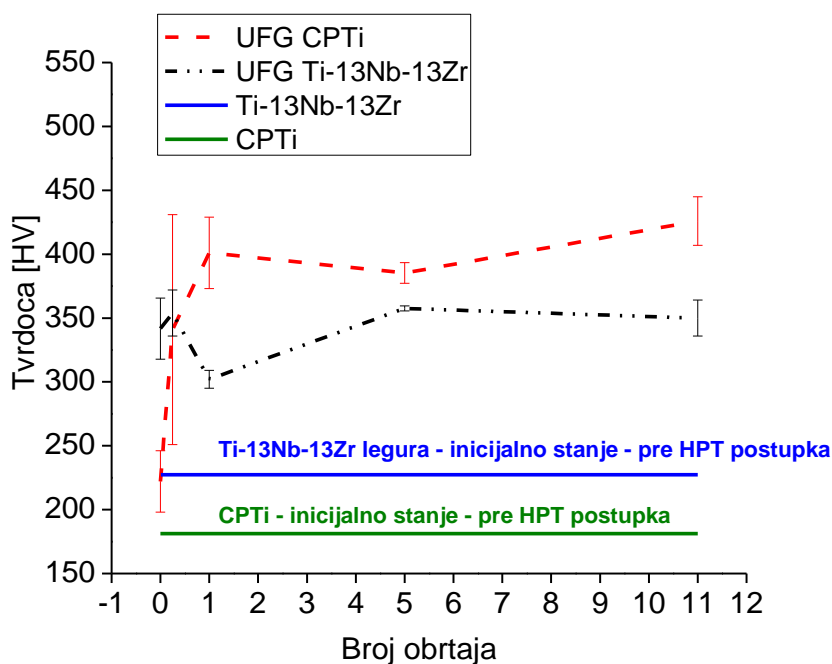
**CPTi podvrgnut ECAP postupku na 430°C i kovanju na 280°C pre HPT postupka

***Ti-6Al-4V se sastoji iz 85% ravnoosne α faze i 15% lamelarne (α+β) faze



Upoređivanjem inicijalne veličine zrna i veličine zrna nakon HPT postupka može se uočiti da primena HPT postupka dovodi do značajnog usitnjavanja mikrostrukture CPTi odnosno do redukcije veličine zrna iz opsega 8,6-50 μm do veličine zrna u opsegu 10-200 nm. Isti zaključak se može izvesti i za legure titana, pa se tako HPT postupkom dobijaju zrna veličine 97-160 nm kod Ti-6Al-7Nb [277], 130 nm kod Ti-6Al-4V [278] i 20-500 nm kod Ti-13Nb-13Zr legure [266].

U cilju uporedne analize vrednosti tvrdoće ispitivanih materijala pre i nakon primene HPT postupka, kao i analize uticaja broja obrtaja HPT postupka na tvrdoću, na slici 10.3 je data zavisnost tvrdoće sa standardnom devijacijom od broja obrtaja za UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr leguru, kao i vrednosti tvrdoće materijala u inicijalnom stanju.



Slika 10.3 Tvrdoća (\pm SD) materijala dobijenih konvencionalnim i HPT postupcima izrade.

Tvrdoća Ti-13Nb-13Zr legure u inicijalnom stanju, koja iznosi \sim 227 HV, je veća od tvrdoće CPTi u inicijalnom stanju, koja iznosi \sim 181 HV. Primena HPT postupka dovodi do povećanja vrednosti tvrdoće, pri čemu se primećuje znatno veći uticaj na tvrdoću kod HPT procesiranja CPTi u poređenju sa HPT procesiranjem Ti-13Nb-13Zr legure. U slučaju oba ispitivana materijala može se primetiti povećanje tvrdoće čak i kod uzoraka koji su podvrgnuti samo pritisku bez uvijanja ($n=0$).



Kod CPTi primenom samo pritiska bez uvijanja ($n=0$) prosečna vrednost tvrdoće iznosi ~ 222 HV što je vrednost za 41 HV veća od prosečne vrednosti tvrdoće uzorka CPTi u inicijalnom stanju. Sa primenom kombinacije uvijanja sa visokim pritiskom, kod CPTi se može primetiti značajan porast vrednosti tvrdoće, pa je tako prosečna vrednost tvrdoće uzorka podvrgnutog uvijanju za $n=1/4$ (~ 341 HV) 1,9 puta veća u poređenju sa tvrdoćom uzorka CPTi u inicijalnom stanju. Sa daljim povećanjem broja obrtaja vrednost tvrdoće se povećava u odnosu na inicijalnu vrednost i to 2,2; 2,1 i 2,4 puta za $n=1, 5$ i 11, respektivno. Ovo je u skladu sa istraživanjem koje su sproveli Wang i saradnici [272] u kome su istakli da se tvrdoća CPTi-2 povećava sa ~ 185 HV u inicijalnom stanju na ~ 305 HV nakon HPT postupka obrade pod pritiskom od 3 GPa i 10 rotacija na sobnoj temperaturi. Rezultati prikazani u okviru doktorske disertacije jasno pokazuju da vrednost tvrdoće nakon naglog porasta za $n=1/4$ postaje gotovo uniformna odnosno prosečna vrednost tvrdoće UFG CPTi uzoraka koji su dobijeni HPT deformacijom primenom 1, 5 i 11 obrtaja iznosi 404 ± 21 HV. Bitno je reći da se najveće odstupanje vrednosti tvrdoće od prosečne vrednosti po uzorku javlja kod UFG CPTi za $n=1/4$ i iznosi 26%, dok je najmanje odstupanje od 2% detektovano kod UFG CPTi za $n=5$.

Kod Ti-13Nb-13Zr legure primenom samo pritiska bez uvijanja ($n=0$) prosečna vrednost tvrdoće (~ 342 HV) je 1,5 puta veća u odnosu na tvrdoću Ti-13Nb-13Zr legure u inicijalnom stanju. Daljom analizom se može primetiti da je kod uzoraka dobijenih primenom $1/4, 5$ i 11 obrtaja vrednost tvrdoće uniformna, odnosno prosečna vrednost tvrdoće iznosi 354 ± 4 HV, dok se kod uzorka za $n=1$ može primetiti blagi pad tvrdoće do 302 ± 7 HV. Najmanje odstupanje vrednosti tvrdoće od prosečne vrednosti po uzorku, koje iznosi 0,6%, je zabeleženo za UFG Ti-13Nb-13Zr leguru za $n=5$ što potvrđuje da je primenom 5 rotacija i pritiska od 7,8 GPa na sobnoj temperaturi dobijena struktura izuzetne homogenosti. Takođe, vrednost tvrdoće uzorka podvrgnutog HPT postupku za $n=11$ je za ~ 8 HV manja u poređenju sa uzorkom dobijenim HPT postupkom za $n=5$, što je u skladu sa prethodno navedenim rezultatima da se za primenjenih 5 rotacija dostiže zasićenje mikrostrukture UFG Ti-13Nb-13Zr legure. Dobijeni rezultati su u skladu sa studijom sprovedenom od strane Wang i Langdon [278] koji su pokazali da se vrednost mikrotvrdoće Ti-6Al-4V legure povećava sa povećanjem broja rotacija



sve dok se ne dostigne vrednost zasićenja od 365 HV primenom HPT postupka za 20 rotacija. Pinheiro i saradnici [277] su pokazali da primenom HPT postupka za $n=3$ kod Ti-6Al-7Nb legure dolazi do zasićenja mikrostrukture što su potvrdili određivanjem tvrdoće koja za $n=3$ iznosi ~ 333 HV, dok za $n=5$ iznosi ~ 340 HV. Prema navedenim rezultatima povećanje broja obrtaja do optimalne vrednosti dovodi do povećanja tvrdoće nakon čega se postiže uniformna vrednost tvrdoće, jer dalja primena deformacije iznad kritične vrednosti (povećanje broja obrtaja iznad optimalnog) ne dovodi do usitnjavanja mikrostrukture, a samim tim ni do daljeg povećanja tvrdoće. Potvrdu ove tvrdnje dali su Kawasaki i saradnici [281] koji su određivanjem mikrotvrdoće ispitivali homogenost uzoraka komercijalno čistog aluminijuma (*eng.* Commercially Pure Aluminium, CPA1) dobijenog primenom pritiska od 6,0 GPa na sobnoj temperaturi za različite brojeve obrtaja i koji su zaključili da povećanje broja obrtaja primenjenog HPT postupka dovodi do povećanja tvrdoće, pri čemu za $n=20$ tvrdoća dostiže konstantnu vrednost. Edalati i saradnici [270] su u svojoj studiji dostizanje konstantne vrednosti tvrdoće doveli u vezu sa zasićenjem mikrostrukture, što je uslovljeno, pre svega, primenjenim pritiskom. Isti trend je primećen i kod Ti-13Nb-13Zr legure u studiji sprovedenoj od strane Perez i saradnika [266] i u skladu je sa rezultatima dobijenim u okviru ove disertacije. Međutim, u nekim slučajevima nije detektovano zasićenje mikrostrukture ni primenom 50 obrtaja [230]. Tako npr. iako je pokazano da HPT obrada Ti-24Nb-4Zr-8Sn legure dovodi do značajnog smanjenja veličine zrna, kao i da povećanje broja obrtaja dovodi do kontinuiranog povećanja tvrdoće materijala, nije registrovano zasićenje mikrostrukture za primenjeni broj obrtaja čak do 50.

Rezultati dobijeni istraživanjima sprovedenim u okviru doktorske disertacije jasno pokazuju da je kod uzoraka koji su podvrgnuti samo pritisku bez uvijanja ($n=0$) i uzoraka podvrgnutih HPT postupku za $\frac{1}{4}$ obrtaja prosečna vrednost tvrdoće UFG Ti-13Nb-13Zr legure veća u poređenju sa UFG CPTi. Međutim, primenom većeg broja obrtaja ($n \geq 1$), javlja se potpuno drugačiji trend, odnosno prosečna vrednost tvrdoće UFG CPTi je za oko 75 HV veća od prosečne vrednosti tvrdoće UFG Ti-13Nb-13Zr legure.



Kao što se može videti na osnovu rezultata dobijenih u okviru doktorske disertacije HPT progresivno dovodi do transformacije inicijalne strukture u UFG strukturu što rezultuje povećanjem vrednosti tvrdoće. Valiev i saradnici [17] su pokazali da čak primenom $\frac{1}{2}$ obrtaja dolazi do značajnih promena mikrostrukture, ali je potrebno nekoliko obrtaja da bi se dobila homogena struktura materijala. Ovo je u skladu sa rezultatima ostvarenim tokom izrade ove disertacije, gde se modifikacija mikrostrukture UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure primećuje već nakon primene $\frac{1}{4}$ obrtaja, dok je uniformna struktura dobijena nakon primene 5 obrtaja. Slično, Sergueeva i saradnici [242] su dobili prilično homogenu strukturu UFG CPTi primenom HPT postupka pri pritisku od 5 GPa i 5 rotacija na sobnoj temperaturi, ali je primećena značajna distorzija rešetke koja je u vezi sa pojavom velikih unutrašnjih naprezanja. U literaturi se mogu pronaći rezultati koji pokazuju da primena SPD postupaka obrade povećava tvrdoću metalnih materijala, pa su tako Sanosh i saradnici [282] pokazali da UFG CPTi dobijen ECAP postupkom pokazuje 2,5 puta veću tvrdoću od CPTi pre primene ECAP postupka obrade. Na sličan način, Rack i Qazi [3] su pokazali da CPTi podvrgnut SPD postupku obrade pokazuje veću tvrdoću u poređenju sa materijalom pre plastičnog deformisanja.

Određivanje mikrotvrdoće duž prečnika uzorka je jedan od jednostavnih načina za utvrđivanje homogenosti HPT deformisanih materijala. Kao što se na slici **9.17a** može videti vrednost mikrotvrdoće UFG CPTi značajno raste od centra ka ivici uzorka za $n=\frac{1}{4}$ što ukazuje na to da se veličina zrna smanjuje u tom pravcu. Vrednost mikrotvrdoće je slična idući od centra ka ivici uzorka za $n=1$, dok se strukturalna homogenost potvrđuje kod uzorka podvrgnutog HPT postupku na 5 obrtaja gotovo uniformnom vrednošću mikrotvrdoće duž prečnika. Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure se primećuje veoma uniformna raspodela vrednosti mikrotvrdoće duž prečnika uzorka za sve ispitivane brojeve obrtaja (slika **9.17b**). Međutim, najmanje odstupanje vrednosti mikrotvrdoće od prosečne je određeno za uzorak dobijen nakon 5 rotacija (SD je 2 HV odnosno 0,6%), čime se potvrđuje da je dobijena struktura homogena. Merenja mikrotvrdoće izvedena od strane Sanosh i saradnika [282] pokazuju da su HPT obrađeni uzorci uglavnom homogeni nakon 5 i više rotacija. Yilmazer i saradnici [222] su pokazali da je mikrotvrdoća Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr legure u perifernom delu viša nego u centralnom delu uzorka,



a Wang i Langdon [278] su primetili slično ponašanje Ti-6Al-4V legure kod koje se vrednost mikrotvrdoće povećava od centra ka ivici uzorka i postaje konstantna nakon 20 rotacija. Smatra se da je ovakva distribucija mikrotvrdoće posledica prisustva najmanje deformacije u centru uzorka koja svoju maksimalnu vrednost dostiže na ivici uzorka.

10.2. Otpuštanje jona iz metalnih materijala

Projektovanje novih legura metala, čija izrada bi bila ekonomski isplativa i koje bi posedovale izvanrednu hemijsku, mehaničku i biološku biokompatibilnost se postavlja kao osnovni cilj daljeg razvoja metalnih materijala za biomedicinsku primenu. Međutim, izrada novih legura titana visokog stepena biokompatibilnosti, koje bi se koristile za izradu implanata umesto retkih metala, predstavlja pravi izazov. Mnogi stručnjaci su istakli da sledeća generacija strukturnih materijala, koji bi se koristili za zamenu čvrstih tkiva u organizmu čoveka, treba da budu legure na bazi titana kod kojih su svi elementi sa potencijalnim citotoksičnim efektom, koji mogu dovesti do neuroloških poremećaja ili koji imaju alergijski efekat, zamenjeni. Upravo zbog toga veliki broj legura titana razvijenih u proteklom periodu, sadrže biokompatibilne elemente, kao što su Zr, Nb, Mo i Ta, čije prisustvo dovodi do poboljšanja mehaničkih i bioloških karakteristika materijala bez neželjenih citotoksičnih efekata [14, 283]. Otpuštanje jona iz implantnih metalnih materijala, do kojeg dolazi kao posledica korozije, je jedan od najčešćih problema primene biomaterijala u ljudskom organizmu sa kojim se susreću stručnjaci u praksi. Na osnovu radova dostupnih u literaturi može se zaključiti da više različitih faktora utiče na otpuštanje metalnih jona iz metalnih implantnih materijala [149]. Naime, primećeno je da višefazna struktura materijala obično povećava stepen otpuštanja metalnih jona. Pored toga, otpuštanje jona zavisi od njihove labilnosti odnosno mogućnosti da se otpuste. Takođe od značaja je pomenuti da labilnost elemenata nije apsolutna, odnosno labilnost jednog elementa zavisi od prisustva drugih elemenata. Situacija je složena jer se iz legura često oslobađa više jona simultano, pa su mogući interaktivni efekti različitih kombinacija metalnih jona na metaboličke procese u organizmu.



10.2.1. Uticaj pH vrednosti i vremena potapanja na otpuštanje jona

Rezultati dobijeni ispitivanjima u okviru doktorske disertacije pokazuju da je otpuštanje jona veoma kompleksna pojava, koja zavisi kako od karakteristika materijala tako i od karakteristika sredine u kojoj se materijal nalazi. Na prvom mestu otpuštanje jona iz materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade zavisi od pH vrednosti medijuma i vremena izlaganja materijala agresivnoj sredini. Zapravo, sa smanjenjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona. Kod CPTi je izmereno povećanje koncentracije otpuštenih Ti jona sa 120 ppb na 140 ppb smanjenjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke sa 7,5 na 4,0 posle 1 nedelje, i sa 570 ppb na 640 ppb posle 6 nedelja. Dobijeni rezultati su u skladu sa istraživanjem Mutlu-Sagesen i saradnika [162] u kome su istakli da je otpuštanje jona iz dentalnih materijala pH zavisno. Slično, Okazaki i Gotoh [7] su u opsežnoj studiji pokazali značajan uticaj pH vrednosti medijuma na otpuštanje jona, odnosno pokazali su da se količina otpuštenih Ti jona iz Ti-15Zr-4Nb-4Ta, Ti-6Al-4V i Ti-6Al-7Nb legura postepeno povećava sa smanjenjem pH vrednosti medijuma, pri čemu su vrednost pH=4,0 definisali kao kritičnu pH vrednost. Do istog zaključka su došli Virtanen i saradnici [136] koji su naglasili da acidifikacija (smanjenje pH vrednosti) povećava otpuštanje jona, posebno kada se metalni materijali izlože medijumu pH vrednosti ispod 4,0. Iako je oralna sredina izuzetno koroziorna za dentalne metalne materijale i promenljiva sa aspekta pH vrednosti, treba naglasiti da se ekstremno niske pH vrednosti retko javljaju. Dodatno, niske pH vrednosti u oralnoj sredini ne mogu da se održe duži vremenski period, zbog puferskog efekta pljuvačke.

Interesantno je primetiti da se iz Ti-13Nb-13Zr legure uglavnom otpuštaju Ti joni, dok je koncentracija otpuštenih Nb i Zr jona zanemarljivo mala (ne prelazi 1 ppb). Iako je sadržaj ovih jona u leguri identičan, otpuštene količine ovih jona su različite, što se može objasniti različitim prečnikom jona. Naime, atom Zr je manjeg prečnika od Nb, a manji joni se kreću većom brzinom i lakše otpuštaju. Veliki broj istraživača se složio da stepen otpuštanja jona nije proporcionalan udelu datog elementa u leguri [147, 149]. Pored toga, koncentracija svih otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure je 6,5 puta manja od koncentracije otpuštenih jona iz CPTi u



najkiselijoj sredini nakon 6 nedelja, što je u skladu sa činjenicom da dodatak legirajućih elemenata kao što su Nb i Zr dovodi do redukcije otpuštanja jona [4]. Ove rezultate podržava i studija sprovedena od strane Joseph i saradnika [140] koji se objavili da Ti-6Al-7Nb legura gotovo ne otpušta Ti jone u rastvoru nakon 12 nedelja potapanja, za razliku od CPTi kod koga je detektovano otpuštanje jona nakon 1 dana. Kobayashi i saradnici [284] su došli do istog zaključka da dodavanje Nb poboljšava pasivaciju metala formiranjem Nb_2O_5 oksida koji je veoma stabilan u ljudskom organizmu i čije prisustvo povećava korozionu otpornost legure. Prema tome, može se zaključiti da korišćenje Nb i Zr kao legirajućih elemenata redukuje otpuštanje metalnih jona i povećava otpornost metala na koroziju. Nasuprot tome, Ruzickova i saradnici [285] su pokazali da acidifikacija legura na bazi titana koje sadrže Al, kao što su Ti-6Al-4V i Ti-6Al-7Nb, dovodi do značajnog povećanja brzine rastvaranja ovih materijala u poređenju sa CPTi. Navedeni rezultati su u skladu sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji koji jasno pokazuju da je koncentracija otpuštenih jona iz Ti-6Al-4V legure 1,5 puta veća od koncentracije otpuštenih Ti jona iz CPTi. Ovakvo ponašanje Ti-6Al-4V legure se može objasniti formiranjem pasivnog ali ne mnogo stabilnog oksida V_2O_5 , na površini metalnog materijala. Pomenuti oksid se vremenom rastvara i na taj način utiče na smanjenje korozione postojanosti legure [4]. Spriano i saradnici [286] su primetili da je koncentracija otpuštenih Al jona iz Ti-6Al-7Nb legure nakon 2 meseca potapanja bila 10 ppb, dok je koncentracija Ti jona bila 5 puta manja (2 ppb). Mnogo veća koncentracija otpuštenih Al jona se može objasniti visokom silom migracije jona u kombinaciji sa malim i mobilnim jonima Al.

Pored dokumentovanog uticaja pH vrednosti na koncentraciju i kinetiku otpuštanja jona rezultati prikazani u okviru doktorske disertacije jasno pokazuju da se koncentracija otpuštenih jona povećava sa povećanjem vremena izloženosti metalnog materijala rastvoru veštačke pljuvačke. Naime, najveća koncentracija otpuštenih jona iz svih ispitivanih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade je detektovana nakon 6 nedelja potapanja u rastvoru veštačke pljuvačke svih ispitivanih pH vrednosti. Do zaključka da se količina otpuštenih elemenata linearno povećava sa povećanjem vremena potapanja u medijumu koji se koristi za simulaciju biofluida su došli i Nejatidanesh i saradnici [134], Baučić i



saradnici [287] i Ortiz i saradnici [288]. Odmah nakon potapanja metalnih materijala u rastvore koji simuliraju uslove u ljudskom organizmu dolazi do intenzivnog otpuštanja metalnih jona i koncentracija otpuštenih elemenata posle određenog vremena dostiže ravnotežnu vrednost, pa su tako Spriano i saradnici [286] pokazali da je otpuštanje jona iz Ti-6Al-7Nb legure intenzivno prva 3 dana, a nakon toga dolazi do ustaljenog otpuštanja jona tokom narednih 60 dana. Prema tome, koncentracija otpuštenih jona se povećava sa povećanjem vremena izlaganja sve dok se ne uspostavi adsorpciono-desorpciona ravnoteža.

Za Co-Cr-Mo leguru se može primetiti isti trend, odnosno koncentracija otpuštenih jona linearno raste sa povećanjem vremena potapanja. Pored toga, smanjenje pH vrednosti dovodi do povećanja koncentracije otpuštenih jona. Rezultati dobijeni ispitivanjima u okviru ove disertacije pokazuju da se najveći efekat pH vrednosti na otpuštanje jona javlja u slučaju otpuštanja jona Co nakon 6 nedelja. Denizoglu i saradnici [289] su ispitivali otpuštanje jona iz legure na bazi Co (Co 64,0; Cr 28,65; Mo 5,0; Mn 1,0; Si 1,0; C 0,35) i pokazali da pH vrednost ima veliki uticaj na ukupno otpuštanje jona i otpuštanje jona Co, dok nema uticaja na otpuštanje jona Cr. Dobijeni rezultati u okviru doktorske disertacije pokazuju da je koncentracija otpuštenih Mo jona najveća u poređenju sa koncentracijama otpuštenih jona Co i Cr nakon 7 dana u svim ispitivanim rastvorima. Ovo je u skladu sa ranije objavljenim rezultatima koji pokazuju da čak i legirajući elementi koji su prisutni u tragovima mogu da se otpuste u najvećoj koncentraciji [147]. Okazaki i Gotoh [7] su pokazali da je količina otpuštenih Mo jona iz Co-Cr-Mo legure veća od količine otpuštenih Cr jona u 0,9% NaCl, PBS i rastvoru veštačke pljuvačke nakon jedne nedelje, iako je udeo Cr (28,36 mas.%) veći od udela Mo (6,1 mas.%). Nasuprot tome, količina otpuštenih Mo jona je manja od količine otpuštenih Cr jona u 1% rastvoru mlečne kiseline i 1,2% L-cisteina. Prema tome, jasno je da koncentracija otpuštenih jona značajno zavisi od sastava rastvora koji se koristi za potapanje, a ne zavisi od udela elementa u leguri. Pomenutu tvrdnju su potvrdili i rezultati istraživanja prikazani u ovoj disertaciji, koji nedvosmisleno pokazuju da koncentracija otpuštenih jona Cr i Mo nije drastično različita, iako je udeo Mo u leguri značajno manji od udela Cr. Mnogi autori su ispitivali korozijsku otpornost legura na bazi Co i pokazali da je otpuštanje jona direktna posledica



korozije metalnog materijala. Tako su na primer Branzoi i saradnici [290] zaključili da Co-Cr-Mo legura pokazuje veću korozionu postojanost od Co-Cr-Ti legure zbog veće stabilnosti pasivnog oksidnog filma prisutnog na površini Co-Cr-Mo legure. Nejatidanesh i saradnici [134] su demonstrirali da su Ni-Cr legure otpornije na koroziju od Co-Cr legura i da se najviše jona otpušta iz komercijalne legure *Wironit*®. Potpuno drugačije rezultate su dobili Yfantis i saradnici [291] odnosno Co-Cr legure su koroziono stabilnije od Ni-Cr legura. Prema Doni i saradnicima [292] Co-Cr-Mo legura pokazuje manju tendenciju ka koroziji u rastvoru NaCl u poređenju sa Ti-6Al-4V legurom, dok su Puškar i saradnici [293] ispitivali ponašanje Co-Cr-Mo legure u rastvoru veštačke pljuvačke na 37°C tokom 7 dana i zaključili da su količine otpuštenih jona Co, Cr i Mo mnogo ispod dozvoljenih nivoa. U literaturi se mogu pronaći oprečna mišljenja, a razlog leži u tome što je otpuštanje jona izuzetno kompleksno i zavisi od mnogobrojnih faktora. Eksperimenti izvedeni od strane jedne grupe istraživača su teško uporedivi sa rezultatima druge grupe, upravo zbog toga što se za ispitivanja mogu koristiti različiti medijumi i eksperimentalni uslovi su različiti. Rinčić i saradnici [141] su takođe ispitivali otpuštanje jona iz *Wironit*® legure u fosfatnom puferu pH vrednosti 6,0 i 3,5 i u rastvoru mlečne kiseline pH vrednosti 3,5 nakon različitog vremena potapanja pri čemu je detektovano otpuštanje jona Co, Cr, Zn, Fe i Ni u svim medijumima. Oni su u svojoj studiji potvrdili da otpuštanje metalnih jona iz *Wironit*® legure zavisi kako od sastava medijuma kojem je legura bil izložena, tako i od vremena potapanja. Beer-Lech i Surowska [294] su pokazali da Co-Cr-Mo legura ima veoma dobru sposobnost pasivacije. Kao što je pokazano da dodavanje Nb poboljšava pasivaciju CPTi [284], tako je dokumentovano i da dodavanje Ti i Zr [295] i Pd [296] legurama na bazi Co utiče na smanjenje otpuštanja jona.

Pri analizi rezultata dobijenih ispitivanjem otpuštanja jona bitno je obratiti pažnju da koncentracija otpuštenih jona bude ispod vrednosti koja predstavlja najveći dozvoljeni dnevni unos datih elemenata. U tabeli **T.10.2** prikazan je dozvoljeni dnevni unos nekih elemenata koji su prisutni u dentalnim implantima [149].



Tabela T.10.2 Dozvoljeni dnevni unos nekih elemenata [149].

| Element | Cd | Co | Cr | Cu | Au | Fe | Mo | Ni | Ag | Ti | Zn |
|-------------------------------|----|-----|-----|------|----|-------|-----|-----|----|-----|-------|
| Dnevni unos (μg) | 50 | 250 | 240 | 3110 | <7 | 23250 | 400 | 400 | 25 | 750 | 14250 |

Kako izmerena količina otpuštenih Ti jona u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 na dnevnom nivou iznosi 20 μg iz CPTi, 11 μg iz Ti-13Nb-13Zr legure i 78 μg iz Ti-6Al-4V legure, što je manje od dozvoljenog dnevnog unosa, može se zaključiti da su pomenuti materijali na bazi titana postojani u medijumu koji simulira uslove u oralnoj sredini i bezbedni za primenu u ljudskom organizmu. Isti zaključak se može izvesti i za *Wironit*® leguru, s obzirom na to da količina otpuštenih jona Co, Cr i Mo na dnevnom nivou iznosi 23 μg , 3 μg i 34 μg , respektivno, i manja je od dozvoljenog dnevnog unosa (tabela **T.10.2**).

Poznato je da količina otpuštenog elementa iz legure ne sme da pređe 200 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ tokom 7 dana prema ISO 22674 standardu [297]. Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji pokazuju da se joni Mo najviše otpuštaju iz *Wironit*® legure nakon 7 dana u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0, ali je količina ovih jona, koja iznosi 120 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, manja od dozvoljene količine prema ISO 22674 standardu. Isti zaključak se može izvesti i za materijale na bazi titana kod kojih količina Ti jona otpuštenih tokom 7 dana iz legure Ti-6Al-4V iznosi 85 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, iz Ti-13Nb-13Zr legure 75 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ i iz CPTi 70 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, što je manje od dozvoljene količine prema ISO 22674 standardu.

U literaturi se mogu pronaći brojni pokušaji da se zavisnost otpuštanja jona iz metalnih materijala opiše matematičkim jednačinama, što je izuzetno teško upravo zbog toga što otpuštanje jona zavisi od mnogobrojnih faktora, kao što su sastav materijala, stanje površine ispitivanog materijala, dimenzije uzoraka koji se koriste u eksperimentima, tip, sastav, temperatura, pH vrednosti i zapremina korišćenog rastvora, itd. [128, 163, 165, 298, 299]. Uvek treba imati na umu da svaki metal ili legura metala implantirana u ljudski organizam predstavlja potencijalni izvor toksičnosti [300], pa je neophodno vršiti opsežna istraživanja pre primene nekog materijala za izradu dentalnih implanata.

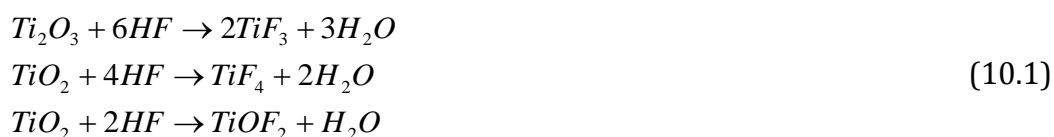


10.2.2. Uticaj fluorida na otpuštanje jona

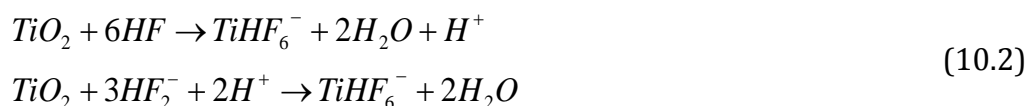
Rezultati dobijeni u okviru doktorske disertacije nedvosmisleno pokazuju da prisustvo fluorida u rastvoru u koji je potopljen metalni materijal dovodi do povećanja koncentracije otpuštenih jona. Naime, prisustvo 0,1% fluorida u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 povećava koncentraciju otpuštenih Ti jona iz CPTi 4,6 puta, a iz Ti-13Nb-13Zr legure čak 13,9 puta. Isti efekat prisustvo fluorida ima i na otpuštanje jona Nb i Zr iz Ti-13Nb-13Zr legure, pa je tako koncentracija otpuštenih Nb jona 60 puta veća, a koncentracija otpuštenih Zr jona 300 puta veća, u poređenju sa koncentracijama koje su određene u rastvoru veštačke pljuvačke bez prisutnih fluorida. Okazaki [301] je demonstrirao da otpuštanje metalnih jona zavisi od koncentracije hloridnih jona i pH vrednosti rastvora, pri čemu je efekat prisutnih hloridnih jona na ukupno otpuštanje mali. Međutim, prisustvo fluorida ima negativan efekat na otpuštanje metalnih jona iz implantnih materijala, što je u skladu sa rezultatima sprovedenih ispitivanja u okviru doktorske disertacije. Mnogi autori su istakli da efekat fluorida na otpuštanje jona zavisi od koncentracije prisutnih fluorida [302, 303]. Souza i saradnici su u svojoj studiji pokazali da je kompaktni pasivni film prisutan na površini CPTi u rastvoru veštačke pljuvačke bez prisustva fluorida i u rastvoru sa 227 ppm fluorida [302]. Međutim, progresivna degradacija CPTi je zabeležena u rastvoru u kome je koncentracija fluorida iznosila 12300 ppm. Takođe, pokazano je da Ti-6Al-4V legura zadržava sposobnost pasivacije u rastvorima koji sadrže niske koncentracije fluorida, ali se rastvaranje legure intenzivira u rastvorima koji sadrže iznad 1000 ppm fluorida na pH vrednosti od 6,5 [303]. Obrazloženje leži u tome da prisustvo fluorida, posebno u većim koncentracijama, dovodi do oštećenja pasivnog filma prisutnog na površini metalnih materijala, što dovodi do veće podložnosti koroziji i otpuštanju metalnih jona, a samim tim i degradacije implantnih materijala. Kinani i Chtaini [159] su pokazali da je stepen korozije CPTi u rastvoru veštačke pljuvačke bez fluorida mnogo manji u poređenju sa stepenom korozije u rastvoru veštačke pljuvačke koji sadrži fluoride. Takođe, smanjenje korozione otpornosti i rastvaranje pasivnog oksidnog filma koje dovodi do smanjenja zaštitnog efekta u rastvoru koji sadrži fluoride primećen je kod CPTi, Ti-



Ta i Ti-6Al-7Nb legura [210], CPTi, Ni-Ti i Co-Cr legura [304] i Ti-6Al-4V legure [305]. Kada se posmatraju kiseli rastvori fluorida, čak i mala koncentracija fluorida dovodi do stvaranja HF koji rastvara oksidni sloj na površini metala [306]. Zapravo dodavanje NaF ili KF rastvoru veštačke pljuvačke dovodi do disocijacije soli na Na⁺ ili K⁺ i F⁻. Fluoridi reaguju sa vodonikom gradeći HF, pri čemu je reakcija izraženija što je veća koncentracija vodoničnih jona, odnosno reakcija se intenzivira u kiseloj sredini [307, 308]. U prisustvu HF dolazi do sledećih reakcija [309]:



Kao što se može videti na osnovu prikazanih jednačina, HF rastvara okside titana, TiO₂ i Ti₂O₃, formirajući titan-fluoride. Fovet i saradnici [310] su ponašanje titana u rastvoru u kom su prisutni fluoridi objasnili sledećim jednačinama:



Prema ovim autorima hidrolizom NaF dolazi do formiranja HF i do narušavanja oksidnog sloja pod uticajem hidratisanog halogenog kompleksa. Neutralni rastvori sa visokom koncentracijom fluorida ili kiseli rastvori sa niskom koncentracijom fluorida dovode do rastvaranja TiO₂ i njegovog prevođenja do TiHF₆⁻. Takođe, Al-Mayouf i saradnici [311] su zabeležili veliki stepen korozije CPTi i legura Ti-6Al-4V i Ti-30Cu-10Ag u neutralnim rastvorima sa velikom koncentracijom fluorida, kao i u kiselim rastvorima sa malom koncentracijom fluorida. Prema tome, i pH vrednost i koncentracija prisutnih fluorida značajno utiču na otpuštanje jona i stepen korozije. Prema Strietzel i saradnicima [312] koncentracija otpuštenih jona iz titana se značajno povećava u prisustvu fluorida, sa vrednosti od 0,01-0,1 µg·cm⁻²dan⁻¹ na 500 µg·cm⁻²dan⁻¹, a smanjenje pH vrednosti značajno pojačava efekat fluorida, što je u skladu sa rezultatima prikazanim u doktorskoj disertaciji. Povećanje koncentracije fluorida zapravo dovodi do povećanja poroznosti oksidnog sloja što utiče na smanjenje njegove zaštitne uloge [313]. Takemoto i saradnici [314] su takođe pokazali da se koroziona otpornost titana smanjuje u prisustvu fluorida, ali su istakli da dodatak albumina rezultuje prevencijom



korozije titana do koje dovodi prisustvo fluorida. Za razliku od navedenih studija, Toniollo i saradnici [315] su pokazali da prisustvo fluorida u rastvoru veštačke pljuvačke u koncentraciji 0,05% i 0,2% ne ispoljava negativan efekat na korozionu stabilnost CPTi i da fluoridi u navedenim koncentracijama mogu da se koriste u preparatima za oralnu higijenu.

10.2.3. Uticaj sastava medijuma na otpuštanje jona

Sastav medijuma koji se koristi u testovima potapanja ima značajan uticaj na otpuštanje jona. Ispitivanja sprovedena u okviru doktorske disertacije jasno ukazuju na uticaj sastava medijuma koji se koristi za ispitivanja na otpuštanje jona i dobijeni rezultati pokazuju da se najveća koncentracija jona otpušta iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure u rastvoru *Colgate Plax Ice*® u poređenju sa rastvorima *Glandosane*® i *Listerin*®, iako pH vrednost korišćenih rastvora opada u nizu: *Colgate Plax Ice*® > *Glandosane*® > *Listerin*®. Osim toga, Ti-13Nb-13Zr legura otpušta veću koncentraciju jona od CPTi u svim ispitivanim komercijalnim rastvorima za ispiranje usta. Okazaki [74] je sproveo obimno istraživanje nerđajućeg čelika, Co-Cr legura, CPTi-2 i legura titana Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb i Ti-15Zr-4Nb-4Ta u više različitih medijuma pri čemu je pokazao da sastav medijuma ima značajan uticaj na otpuštanje jona. Izrazit uticaj sastava medijuma na otpuštanje jona i korozionu stabilnost materijala pokazali su i Schiff i saradnici [316, 317]. Slično, Danaei i saradnici [318] su ispitivali ponašanje CPTi u komercijalnim rastvorima za ispiranje usta i detektovali mnogo veće otpuštanje jona u rastvoru *Hlorheksidine*® u poređenju sa *Oral B*®, *Persica*® i dejonizovanom vodom. Brett i Muresan [319] su u svojoj studiji zaključili da prisustvo organskih komponenti u medijumu blokira površinu metala i smanjuje stepen korozije, pa su tako naveli da stepen korozije opada u nizu: veštačka pljuvačka bez mlečne kiseline > veštačka pljuvačka sa mlečnom kiselinom ~ *Glandosane*®. Navedeni rezultati su u skladu sa rezultatima dobijenim u doktorskoj disertaciji gde je pokazano da se mnogo više jona otpušta u rastvoru *Colgate Plax Ice*® u poređenju sa *Glandosane*® rastvorom.



10.2.4. Uporedna analiza količine otpuštenih jona iz materijala dobijenih konvencionalnim i HPT postupcima izrade

U cilju poređenja otpuštanja jona iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure, dobijenih konvencionalnim postupcima izrade, i UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure, dobijenih HPT postupkom, izračunata je količina otpuštenih jona metala, w [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$], prema formuli [7]:

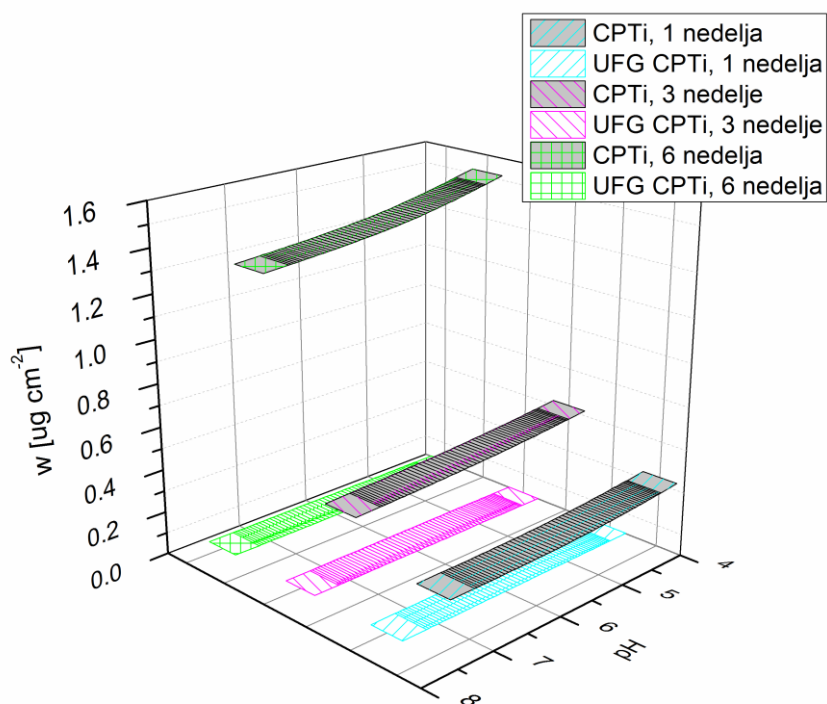
$$w = \frac{V \cdot c}{P} \quad (10.3)$$

gde je V zapremina medijuma [l], c je koncentracija otpuštenih jona metala [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$] i P je površina pojedinačnog uzorka [cm^2]. S obzirom na to da su uzorci oblika diska, površina se izračunava prema formuli:

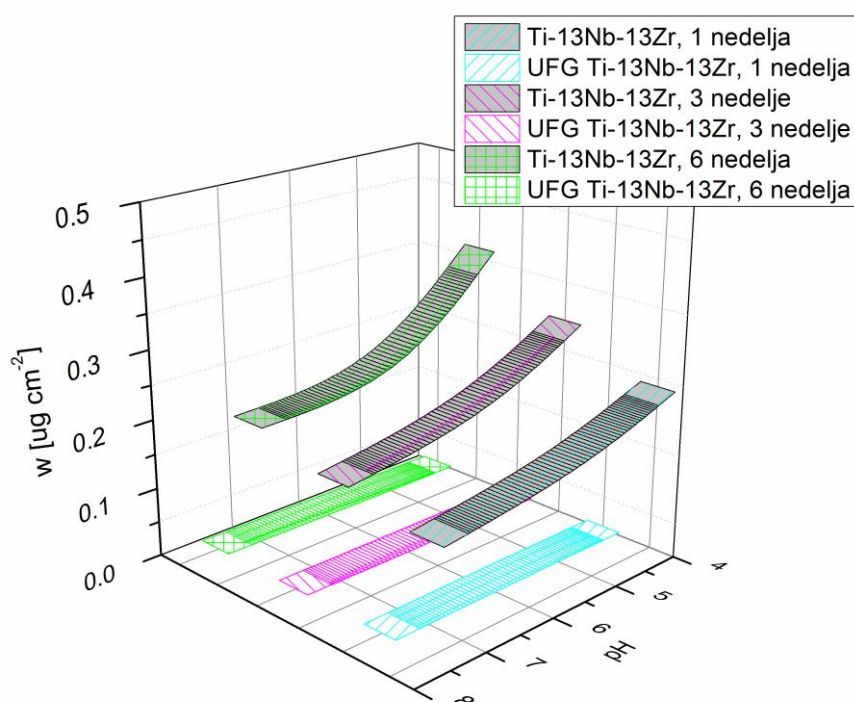
$$P = 2 \cdot (r^2\pi) + 2r\pi \cdot H = 2r\pi \cdot (r + H) \quad (10.4)$$

gde je r poluprečnik diska [cm], a H je visina diska [cm].

Na slici 10.4 dat je uporedni prikaz količine otpuštenih Ti jona iz CPTi i UFG CPTi, dok je na slici 10.5 dat prikaz količine svih otpuštenih elemenata iz Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura u rastvorima veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0, 5,5 i 7,5 nakon 1, 3 i 6 nedelja.



Slika 10.4 Količina otpuštenih Ti jona iz CPTi i UFG CPTi.



Slika 10.5 Količina svih otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura.

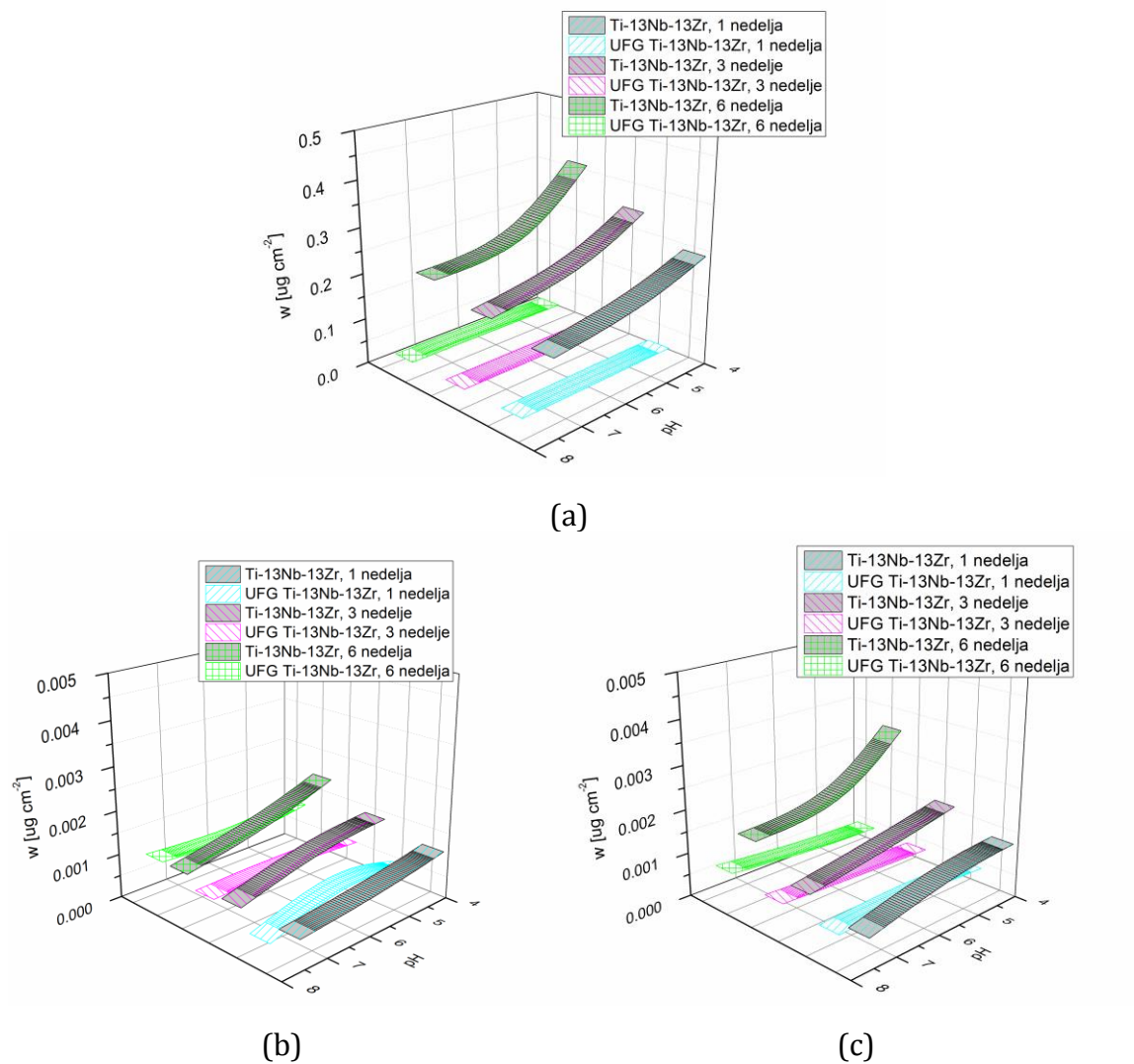
Količina otpuštenih Ti jona iz CPTi nakon 1 nedelje raste sa smanjenjem pH vrednosti od $0,28 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ do $0,33 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, nakon 3 nedelje od $0,45 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ do $0,52 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ i nakon 6 nedelja od $1,35 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ do $1,51 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Minimalna količina Ti jona se otpušta u rastvoru pH vrednosti 7,5 nakon 1 nedelje, a maksimalna u rastvoru pH vrednosti 4,0 nakon 6 nedelja. Kako maksimalna količina otpuštenih Ti jona iz UFG CPTi iznosi svega $0,003 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, što je skoro 100 puta manje od minimalne količine otpuštenih Ti jona iz CPTi, može se reći da CPTi pokazuje veću sklonost otpuštanju jona u rastvoru veštačke pljuvačke od UFG CPTi.

Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure dolazi do otpuštanja jona u mnogo manjem stepenu u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom. Ukupna količina svih otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure nakon 1 nedelje sa smanjenjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke od 7,5 do 4,0 se povećava sa vrednosti od $0,16 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ na vrednost $0,24 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, nakon 3 nedelje sa $0,18 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ na $0,29 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ i nakon 6 nedelja sa $0,22 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ na $0,36 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Maksimalna količina otpuštenih jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure dostiže vrednost od $0,005 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, što je 32 puta manje od minimalne količine otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure.



Upoređivanjem materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade primećuje se da je maksimalna količina otpuštenih jona iz CPTi, koja iznosi $1,51 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, veća od maksimalne količine otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure, koja iznosi $0,36 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ u najkiselijoj sredini nakon 6 nedelja. Međutim, kod materijala dobijenih HPT postupkom maksimalna količina otpuštenih jona iz UFG CPTi je za $0,002 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ manja od količine otpuštenih jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure. Na osnovu količine otpuštenih jona ispitivani materijali mogu da se rasporede u sledeći niz: CPTi>Ti-13Nb-13Zr>>UFG Ti-13Nb-13Zr>UFG CPTi. Prikazani rezultati jasno pokazuju da se joni teže otpuštaju iz materijala sitnozrne mikrostrukture u poređenju sa krupnozrnim materijalima.

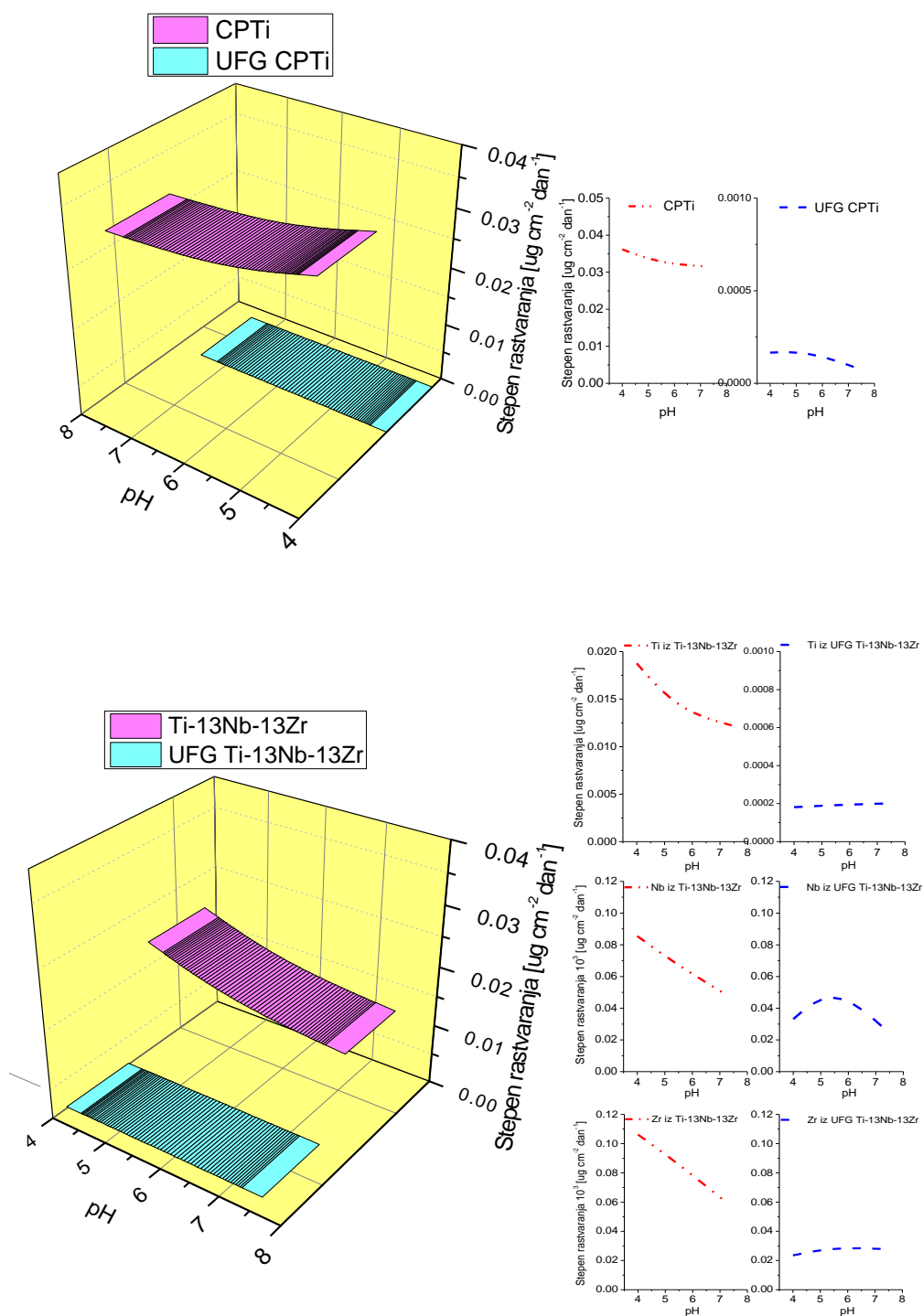
Na slici **10.6** je prikazano otpuštanje pojedinačnih jona Ti, Nb i Zr iz Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura. Količina otpuštenih jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure je manja od količine otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure i to: Ti jona 120-160 puta (slika **10.6a**), Nb jona 2-5 puta (slika **10.6b**) i Zr jona 3-6 puta (slika **10.6c**). Količina Nb jona koji se otpuštaju iz Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura ne prelazi $0,002 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ i $0,001 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, respektivno, dok količina otpuštenih Zr jona ne prelazi $0,003 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ i $0,0005 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Iz Ti-13Nb-13Zr legure se otpušta više Zr jona nego Nb jona, dok se iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure detektuje veća količina otpuštenih Nb jona u poređenju sa Zr jonima.



Slika 10.6 Količina otpuštenih Ti (a), Nb (b) i Zr (c) jona iz Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura.



Često se pri analizi otpuštanja jona iz metalnih materijala različite dimenzija koristi prosečan stepen rastvaranja po danu (brzina rastvaranja) koji se izračunava prema jednačini 8.1.



Slika 10.7 Brzina rastvaranja materijala dobijenih konvencionalnim i HPT postupcima.



Kao što se može videti na slici **10.7**, prosečna brzina rastvaranja CPTi se kreće u opsegu 0,031-0,036 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{dan}^{-1}$, dok kod UFG CPTi iznosi 0,00007-0,00017 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{dan}^{-1}$. Razmatranjem legura titana primećuje se isti trend odnosno prosečna brzina rastvaranja Ti-13Nb-13Zr legure se kreće u opsegu 0,012-0,019 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{dan}^{-1}$, a UFG Ti-13Nb-13Zr legure 0,0002-0,0003 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{dan}^{-1}$. Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da je prosečna brzina rastvaranja na dnevnom nivou za dva do tri reda veličine veća kod materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade u poređenju sa materijalima dobijenim HPT postupkom, odnosno CPTi pokazuje 185-420 puta veću prosečnu brzinu rastvaranja u poređenju sa UFG CPTi, dok je kod Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legura razlika u brzini rastvaranja nešto manja i iznosi 50-80 puta.

Rezultati dobijeni ispitivanjima sprovedenim u okviru doktorske disertacije nesumnjivo pokazuju da UFG materijali otpuštaju jone u mnogo manjem stepenu u poređenju sa CG materijalima. U literaturi se ipak mogu naći oprečna mišljenja. Tako nekolicina autora smatra da se joni lakše otpuštaju iz sredine sa manjim zrnima [253], dok ostali ističu da su upravo granice zrna, kojih ima više kod UFG materijala, prepreka otpuštanju jona [251]. Balakrishnan i saradnici [251] su pokazali da UFG CPTi dobijen ECAP postupkom pokazuje 10 puta veću korozionu otpornost od CG CPTi. Prema ovim autorima, veća koroziona otpornost UFG materijala se može objasniti bržom pasivacijom i stabilnijim oksidnim filmovima koji se formiraju na površini materijala. Prema Balyanov i saradnicima [250] UFG CPTi pokazuje veću otpornost prema koroziji u rastvorima HCl i H₂SO₄ u poređenju sa CG CPTi zbog izuzetno brzog formiranja pasivnog oksidnog filma na površini UFG CPTi, kao i zbog segregacije nečistoća na granicama zrna kod CG CPTi. Ipak, primetno je da su otpuštanje jona i koroziona postojanost UFG materijala slabo ispitani. Nekolicina istraživača je objavila značajnu razliku u korozionoj postojanosti UFG i CG materijala i u svojim radovima ovi autori poboljšanje korozione postojanosti UFG materijala povezuju sa uniformnijom korozijom [217]. Zapravo, kod CG materijala rastvaranje materijala je koncentrisano na granicama zrna zbog visoke energije granica zrna u poređenju sa središnjim delom zrna, dok kod UFG materijala velika gustina defekata prisutnih unutar zrna teži da izjednači energije u čitavom materijalu dovodeći do mnogo uniformnije korozije.

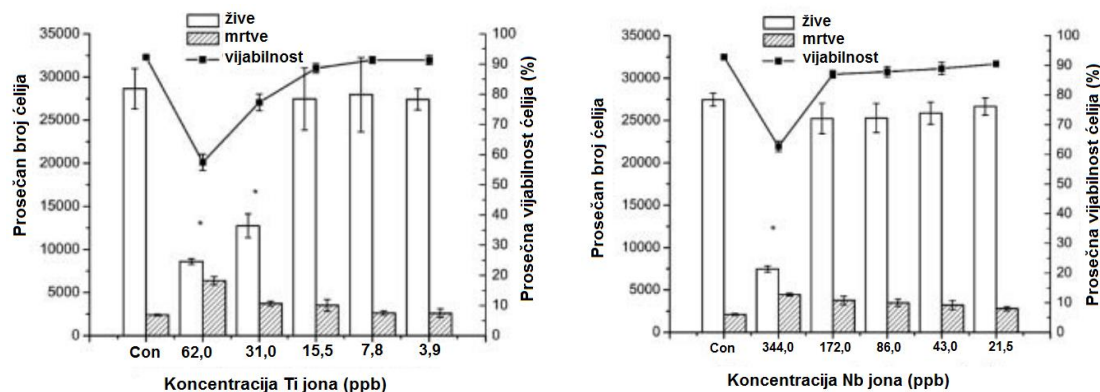


UFG Ti-13Nb-13Zr legura se odlikuje većom brzinom rastvaranja u poređenju sa UFG CPTi za razliku od CG materijala gde je brzina rastvaranja Ti-13Nb-13Zr legure manja u poređenju sa brzinom rastvaranja CPTi. Ovo je u skladu sa rezultatima istraživanja sprovedenog od strane Robin i saradnika [320] koji su pokazali da Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje veći stepen otpornosti od CPTi u agresivnoj sredini. Osim toga, koncentracije otpuštenih Nb i Zr jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr i Ti-13Nb-13Zr legura su zanemarljivo male, dok su koncentracije otpuštenih Ti jona nekoliko hiljada puta veće. Pomenuti efekat se objašnjava činjenicom da je prečnik atoma Ti manji (0,2 nm) od prečnika atoma Nb (0,208 nm) i Zr (0,216 nm), a manji joni su mobilniji i lakše se otpuštaju.

U cilju analize dobijenih rezultata sa stanovišta bezbednosti primene implantnih metalnih materijala u ljudskom organizmu neophodno je izmerene koncentracije otpuštenih jona iz ispitivanih materijala uporediti sa dozvoljenim koncentracijama. Li i saradnici [69] su odredili bezbednu koncentraciju nekih metala u elementarnom obliku i na osnovu te koncentracije se može zaključiti da li su određeni joni u koncentraciji u kojoj se otpuštaju biokompatibilni ili toksični. Oni su napravili pet rastvora različite koncentracije jona i pokazali da se broj ćelija i njihova vijabilnost povećavaju sa smanjenjem koncentracije jona, kao što je prikazano na slici **10.8**. Proliferacija i vijabilnost ćelija dostižu ravnotežnu vrednost, tzv. plato, pri određenim koncentracijama, a koncentracija na kojoj se uspostavlja plato definisana je kao bezbedna ili dozvoljena koncentracija jona. Na koncentracijama ispod dozvoljene koncentracije ćelijska proliferacija i vijabilnost dostižu vrednosti koje su uporedive sa kontrolom i kaže se da su materijali koji otpuštaju manju koncentraciju od dozvoljene biokompatibilni. Za Ti jone dozvoljena koncentracija iznosi 15,5 ppb, a za Nb jone 172 ppb. U studiji je pokazano da je Zr jon bezbedan u svim ispitivanim koncentracijama. Kada se rezultati dobijeni za UFG materijale u okviru ove doktorske disertacije uporede sa navedenim dozvoljenim vrednostima (koncentracije su 14 i 12 puta manje od dozvoljene koncentracije u slučaju UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure, respektivno), može se zaključiti da su UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura biokompatibilni i bezbedni za upotrebu u ljudskom organizmu. Takođe, koncentracije otpuštenih jona iz UFG materijala detektovane tokom sprovedenih



ispitivanja su 100 puta manje od dozvoljenih vrednosti prema ISO 22674 standardu, što potvrđuje postojanost sitnozrnih materijala na bazi titana u medijumu koji simulira uslove oralne sredine i mogućnost njihove primene za izradu dentalnih implanata.



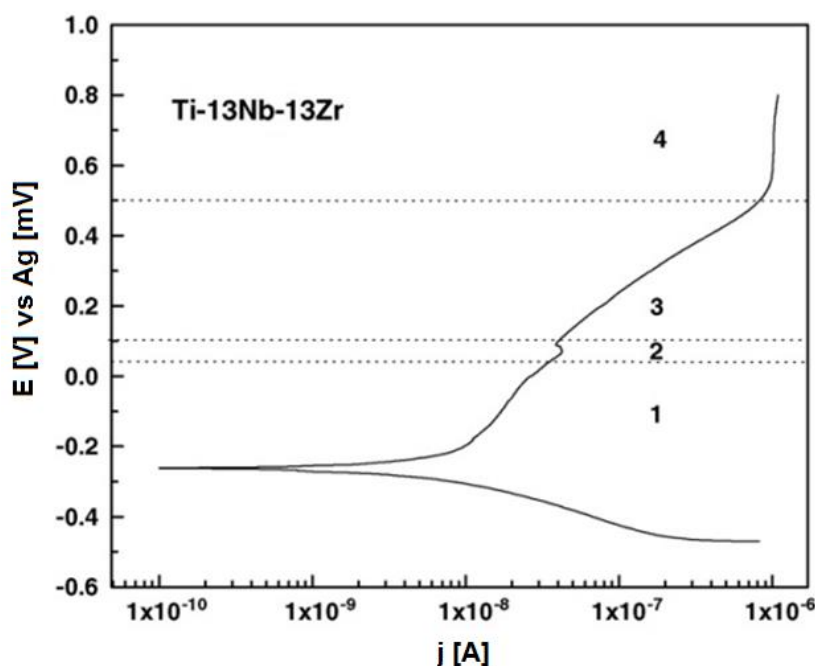
Slika 10.8 Prosečan broj živih i mrtvih ćelija \pm SD (leva y osa) i prosečna vijabilnost ćelija \pm SD (desna y osa) ekstrakata metala sa različitom koncentracijom jona nakon 5 dana [69].

10.3. Elektrohemijsko ponašanje materijala

Metali su u usnoj duplji izloženi rastvaranju pod dejstvom pljuvačke, hemijskom i fizičkom razlaganju, habanju i eroziji usled prisustva hrane, žvakanja i bakterijske aktivnosti, vlažnosti, promene temperature i pH vrednosti. U disertaciji su ispitivane elektrohemijske karakteristike materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade (CPTi i Ti-13Nb-13Zr legura), kao i materijala dobijenih HPT postupkom (UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura). Na prvom mestu je pokazano da CPTi i Ti-13Nb-13Zr legura pokazuju dobru korozionu otpornost u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 7,5, pri čemu se CPTi odlikuje boljom korozionom otpornošću u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom. Niemeyer i saradnici [321] su ispitivali koroziono ponašanje Ti-13Nb-13Zr legure u rastvoru SBF i pokazali da se kod legure u livenom stanju pojavljuje pasivna oblast (1) praćena smanjenjem pasivacije odnosno pucanjem oksidnog filma (2) i naknadnom repasivacijom (3), kao što je prikazano na slici 10.9. Isti profil je opisan i u studiji sprovedenoj od strane Cai i saradnika [322] koji su ispitivali elektrohemijsko ponašanje tri legure titana u livenom stanju sa različitim stanjem površine. Pomenuta grupa autora smatra da jednostavnim izlaganjem legura titana vazduhu dolazi do formiranja TiO_2 , imajući u vidu veliki afinitet titana prema kiseoniku, koji štiti materijal



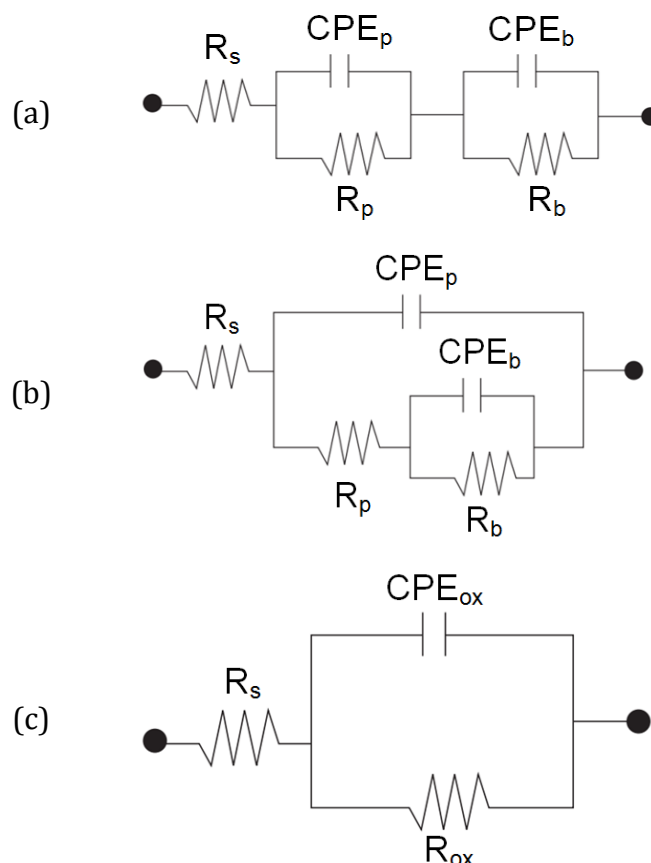
inhibirajući dalju koroziju. Pik prikazan na slici **10.9** u oblasti (2) predstavlja oštećenje oksidnog filma. Sa povećanjem potencijala oksidni film se dalje razlaže i neoksidovani metal počinje da korodira što za posledicu ima povećanje gustine struje korozije. Na visokim vrednostima potencijala dolazi do formiranja drugog oksidnog filma veće stabilnosti, što odgovara oblasti (4) na slici **10.9**. Na polarizacionoj krivi za Ti-13Nb-13Zr leguru u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke dobijenoj ispitivanjem u okviru doktorske disertacije (slika **9.27**) se ne uočava pomenuti pik koji odgovara oštećenju oksidnog filma, već gustina struje raste do vrednosti od $6,5 \cdot 10^{-6} \text{ A} \cdot \text{cm}^{-2}$ na 1,0 V(ZKE) i ostaje skoro nepromenjena do 4,0 V(ZKE). Uniformna vrednost gustine struje jasno pokazuje da je formirani oksidni film na površini Ti-13Nb-13Zr legure stabilan. Ostvareni rezultati su u skladu sa istraživanjem sprovedenim od strane Oliveira i saradnika [323] koji su pokazali da se oštećenje pasivnog oksidnog filma na površini Ti-13Nb-13Zr legure ne javlja u Ringer-ovom rastvoru sve do 8,0 V(ZKE).



Slika 10.9 Potenciodinamička anodna polarizacija Ti-13Nb-13Zr legure [321].



EIS rezultati prikazani na slikama **9.28** i **9.29** daju detaljniji opis pasivnog filma koji se formira na površini ispitivanih materijala. Za opisivanje oksidnog filma formiranog na površini metalnih implantnih materijala koriste se različita ekvivalentna električna kola (EEK) od kojih su neka prikazana na slici **10.10**. EEK na slici **10.10a** su koristili Kolman i Scully [324] i Yu i saradnici [325] za opisivanje dvoslojnog oksidnog filma na površini titana i njegovih legura u vodenoj sredini, EEK na slici **10.10b** su koristili Pan i saradnici [326, 327] i Nie i saradnici [16] za opisivanje dvoslojnog oksidnog filma na površini titana u rastvoru PBS i NaCl, respektivno, dok se EEK na slici **10.10c** koristi za opisivanje jednoslojnog i kompaktnog oksidnog filma [328]. EEK na slikama **10.10a** i **10.10b** opisuju oksidni film kao dvoslojan sastavljen od unutrašnjeg kompaktnog barijernog sloja i spoljašnjeg poroznog sloja. Prema navodima iz literature, barijerni sloj je u vezi sa korozionom otpornošću, dok je porozni sloj u vezi sa biokompatibilnošću materijala na bazi titana [326-328]. Souza i saradnici [329] su u svojoj studiji koristili EEK prikazana na slikama **10.10b** i **10.10c** za simulaciju elektrohemijskog ponašanja Ti-6Al-4V i Ti-13Nb-13Zr legura, pri čemu su dobili bolje poklapanje eksperimentalnih i simuliranih rezultata koristeći EEK dato na slici **10.10b**, što je jasno pokazalo da se u datom slučaju oksidni film formiran na površini legura titana sastoji iz spoljašnjeg poroznog sloja i unutrašnjeg barijernog sloja. Slično, Nie i saradnici [16] su u cilju dobijanja više informacija u vezi kompaktnosti i stabilnosti pasivnog filma koristili više različitih EEK, ali su najbolje poklapanje rezultata dobili korišćenjem modela sa dve vremenske konstante date u seriji (slika **10.10a**). U okviru doktorske disertacije je korišćeno EEK na slici **10.10b** u cilju opisivanja dvoslojnog oksidnog filma, pri čemu parametar „Goodness of Fit“, reda veličine 10^{-3} , pokazuje odlično poklapanje eksperimentalno dobijenih i simuliranih rezultata.



Slika 10.10 Najčešće korišćena EEK za simulaciju oksidnog filma na površini materijala na bazi titana.

Assis i Costa [330] su ispitivali elektrohemijsko ponašanje Ti-13Nb-13Zr, Ti-6Al-4V i Ti-6Al-7Nb legura u Hank-ovom rastvoru i pokazali da se na površini ispitivanih materijala formira dvoslojni pasivni oksidni film, pri čemu koroziona otpornost legura titana potiče od unutrašnjeg barijernog sloja. Rezultati prikazani u doktorskoj disertaciji pokazuju da je otpornost unutrašnjeg barijernog sloja, R_b , oksida koji se formira na površini CPTi za red veličine veća od otpornosti unutrašnjeg barijernog sloja oksida formiranog na površini Ti-13Nb-13Zr legure, što je razlog veće korozione otpornosti CPTi. Međutim, dobijena vrednost R_b reda veličine $10^5 \Omega \cdot \text{cm}^2$ u slučaju Ti-13Nb-13Zr legure ipak ukazuje na njenu značajnu korozionu otpornost u rastvoru veštačke pljuvačke. Pored toga, dobijene vrednosti R_p su istog reda veličine ($10^4 \Omega \cdot \text{cm}^2$) i ukazuju na gotovo istu poroznost spoljašnjeg sloja oksida formiranog na površini CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure. U literaturi se mogu naći studije koje pokazuju da tokom potapanja metalnog materijala u medijum dolazi do inkorporiranja određenih komponenti, kao što su fosfati



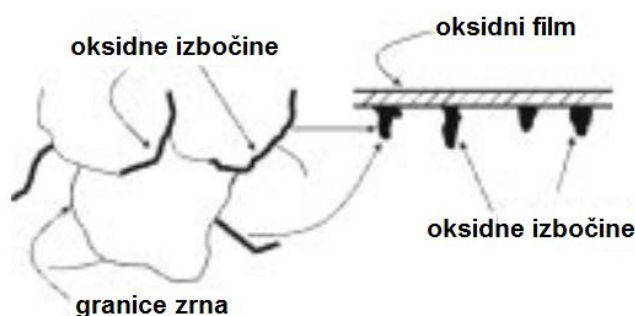
(kalcijum ili magnezijum), u pore spoljašnjeg oksidnog sloja ili dolazi do njihovog taloženja na pore, što za posledicu ima blokiranje ovog dela oksidnog filma i povećanje korozione postojanosti [331]. Simka i saradnici [332] su demonstrirali da povećanje korozione otpornosti Ti-13Nb-13Zr legure ima veze sa formiranjem TiO_2 , Nb_2O_5 i ZrO_2 oksida, dok su Treves i saradnici [333] i Morant i saradnici [334] naglasili da je oksidni film prisutan na površini ispitivane Ti-Nb-Zr legure uglavnom sastavljen od TiO_2 . Takođe, Cvijović-Alagić i saradnici [12] su detektovali samo prisustvo TiO_2 i Nb_2O_5 na površini Ti-13Nb-13Zr legure, dok prisustvo ZrO_2 nisu potvrdili. Mnogi autori naglašavaju da su prisustvo Nb i Zr u dovoljnoj količini i njihova ravnomerna distribucija odgovorni za poboljšanu korozionu postojanost Ti-13Nb-13Zr legure. Na osnovu rezultata prikazanih u doktorskoj disertaciji i rezultata studija dostupnih u literaturi može se zaključiti da površinski oksidni film na CPTi i Ti-13Nb-13Zr leguri ima značajnu ulogu u inhibiciji otpuštanja jona i povećanju korozione stabilnosti.

Jedan od ciljeva doktorske disertacije bio je povećanje korozione otpornosti materijala na bazi titana primenom HPT postupka obrade. U doktorskoj disertaciji je pokazano da CPTi i UFG CPTi u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke pokazuju sličnu korozionu otpornost na šta ukazuju gotovo iste vrednosti gustine struje korozije ($38 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ za CPTi i $40 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ za UFG CPTi). Takođe, pokazano je da je UFG Ti-13Nb-13Zr legura otpornija prema koroziji u neutralnoj sredini u poređenju sa Ti-13Nb-13Zr legurom, jer je dobijena dvostruko manja vrednost gustine struje korozije za leguru sitnozrne mikrostrukture (tabela **T.9.4**). Kako veća vrednost gustine struje korozije odgovara manjoj korozionoj otpornosti, može se zaključiti da je UFG Ti-13Nb-13Zr legura koroziono otpornija od Ti-13Nb-13Zr legure. Takođe, samo Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje negativnu vrednost korozionog potencijala, što potvrđuje činjenicu u vezi manje korozione otpornosti ove legure u poređenju sa ostalim ispitivanim materijalima.

Navedeno ponašanje materijala na bazi titana sitnozrne mikrostrukture može da se objasni formiranjem površinskih oksida koji imaju veću zaštitnu ulogu u poređenju sa oksidima na površini krupnozrnih materijala. U literaturi je dostupan mali broj studija koje objašnjavaju uticaj HPT postupka obrade na koroziona svojstva metalnih materijala. Sa jedne strane, Balakrishnan i saradnici [251]



sugerišu da smanjenje veličine zrna dovodi do povećanja aktivnosti elektrona blizu granica zrna čineći površinu metala mnogo reaktivnijom i sposobnijom za formiranje stabilnog oksidnog filma. Oni su dobili gustinu struje korozije od $760 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ za CPTi i $73 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ za UFG CPTi što ukazuje na bolju korozionu postojanost UFG CPTi. Prema ovoj grupi autora, za korozionu postojanost UFG CPTi je odgovoran oksidni film koji se formira na površini materijala kada se on dovede u kontakt sa biofluidom. Naime, SPD postupci dovode do povećanja gustine granica zrna u UFG materijalima što povećava površinsku adheziju (vezivanje) oksidnog filma. Ovo je verovatno uslovljeno formiranjem oksidnih izbočina koje penetriraju u granice zrna, kao što je prikazano na slici **10.11**, što dovodi do značajnog povećanja korozione otpornosti [253].



Slika 10.11 Shematski prikaz oksidnih izbočina koje penetriraju u granice zrna [253].

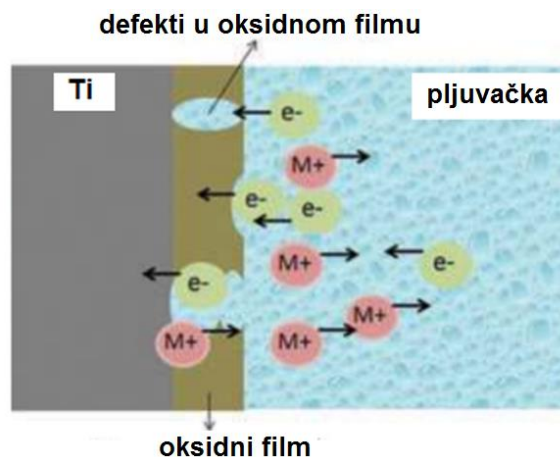
Prema Li i saradnicima [335] objašnjenje za poboljšanje korozionih karakteristika UFG materijala u poređenju sa CG materijalima se zasniva na bržem i uniformnijem rastu pasivnog filma na površini UFG i nanostrukturnih (eng. nanostructured, NS) materijala. Rezultati njihovih istraživanja pokazuju da je zaštitni amorfn film na NS leguri titana deblji, gušći i homogeniji sa manje defekata nego na CG leguri titana. Takođe, film sadrži veći udeo kiseonika i koroziono-otpornih elemenata (Ti i Nb), kao i njihove suboksidge u poređenju sa filmom na CG leguri. Brži porast filma kod UFG i NS materijala se može objasniti većim udelom i finijom distribucijom granica zrna koje obezbeđuju veći broj oksidacionih kanala i aktivnih lokacija [336]. Kao rezultat, procesi difuzije Ti, Nb i O se odvijaju na granicama sitnih zrna obezbeđujući veliki broj visoko koncentrisanih mesta nukleacije što posledično dovodi do brzog formiranja filma na većoj dubini [337].



Takođe, Balyanov i saradnici [250] objašnjavaju poboljšanje korozijske otpornosti ECAP obrađenog CPTi bržim formiranjem pasivnog filma zbog prisustva većeg broja granica zrna i veće gustine dislokacija. Do istog zaključka da primena SPD postupka dovodi do poboljšanja korozijske postojanosti CPTi došli su i Maleki-Ghaleh i saradnici [252]. Prema ovim autorima, stepen korozije UFG CPTi je za 70% manji u poređenju sa CG CPTi što su objasnili povećanjem zapreminskog udela granica zrna kod UFG materijala. Kako su granice zrna svega nekoliko nm širine, zrna kod CG materijala čine mnogo veći deo zapremine u poređenju sa granicama zrna, dok je u slučaju UFG materijala potpuno obrnuto, odnosno granice zrna imaju značajan zapreminski udeo u materijalu [250]. Pre svega je bitno naglasiti da svaka granica zrna predstavlja barijeru difuziji jona i na taj način sprečava ili smanjuje degradaciju materijala. Prema tome, veći zapreminski udeo granica zrna kod UFG materijala smanjuje stepen korozije, kao što je prikazano u doktorskoj disertaciji. Takođe, rezultati u ovoj disertaciji pokazuju da je otpornost barijernog sloja, koji je u vezi sa korozijskom otpornošću materijala, veća kod UFG materijala u poređenju sa CG materijalima, pa se posledično zaključuje da barijerni sloj formiran na površini UFG materijala ima bolja zaštitna svojstva. Potpuno suprotne rezultate su objavili Nie i saradnici [16]. Oni su pokazali da HPT postupak dovodi do značajnog smanjenja korozijske otpornosti CPTi u 3,5% rastvoru NaCl. Takođe, upoređivanjem HPT obrađenog CPTi na različitom broju obrtaja, došli su do zaključka da povećanje broja obrtaja smanjuje podložnost koroziji. Kod uzoraka dobijenih HPT postupkom za $n=1$ tokom potapanja dolazi do pojave površinskih defekata ili pukotina na oksidnom filmu, što su autori objasnili nehomogenom strukturom materijala. Slično, Faghihi i saradnici [253] su pokazali negativan uticaj HPT postupka na korozijsku otpornost CPTi u rastvoru PBS, što je posledica veće površinske aktivnosti UFG CPTi, dok Hoseini i saradnici [338] ističu da samo specifična kristalografska orijentacija može da poboljša korozijske karakteristike UFG CPTi u rastvoru NaCl i da veličina zrna nema uticaja na korozijsku otpornost.



Rezultati sprovedenih elektrohemijskih ispitivanja u rastvorima veštačke pljuvačke različite pH vrednosti prikazani u disertaciji pokazuju da se CPTi odlikuje većom korozionom otpornošću u rastvoru pH vrednosti 5,5 u poređenju sa rastvorom pH vrednosti 4,0. Međutim, koroziona stabilnost CPTi detektovana u rastvoru pH vrednosti 7,5 je gotovo ista kao u rastvoru pH vrednosti 4,0. Rezultati su u skladu sa studijom sprovedenom od strane Abey i saradnika [339] koji su ispitivali CPTi u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 3,0, 4,5, 6,0, 6,5, 7,5 i 9,0, i nasuprot očekivanjima dobili najveću vrednost gustine struje korozije u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 7,5, što ukazuje na najmanju korozionu stabilnost materijala u navedenim uslovima. Oni su istakli da pH vrednost ima značajan uticaj na koroziono ponašanje metalnih materijala i da je zbog slabe korozione postojanosti CPTi u rastvoru neutralne pH vrednosti neophodno sprovesti dalja ispitivanja. Rezultati prikazani u doktorskoj disertaciji pokazuju da sa povećanjem pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke sa 4,0 na 5,5 dolazi do povećanja korozione stabilnosti Ti-13Nb-13Zr legure. Međutim, Ti-13Nb-13Zr legura je najmanje koroziono postojana u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 7,5 na šta ukazuje najveća dobijena vrednost gustine struje korozije. Za razliku od prikazanih rezultata Souza i saradnici [329] su istakli da u Ringer-ovom rastvoru pH vrednosti 7,0 Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje veću korozionu postojanost (gustina struje korozije iznosi $54 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$) u poređenju sa pH vrednosti 5,5 (gustina struje korozije iznosi $188 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$). Takođe, u studiji je pokazano da pH vrednost ima veći uticaj na korozione karakteristike Ti-13Nb-13Zr legure u poređenju sa Ti-6Al-4V legurom kod koje su dobijene slične vrednosti gustine struje korozije ($65 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ na pH 7,0 i $59 \text{ nA}\cdot\text{cm}^{-2}$ na pH 5,5). Do istog zaključka da pH vrednost veštačke pljuvačke značajno utiče na korozionu otpornost CPTi i Ti-6Al-4V legure su došli Barao i saradnici [340]. Naime, na niskim pH vrednostima ubrzava se razmena jona između titana i veštačke pljuvačke što dovodi do pojave defekata u oksidnom filmu (slika **10.12**). Navedena pojava defekata posledično redukuje otpornost površine titana prema koroziji, odnosno stepen korozije se značajno povećava.



Slika 10.12 Shematski prikaz elektrohemijske reakcije oksidnog filma formiranog na površini titana. Elektroni (e^-) prelaze iz pljuvačke u titan, a metalni joni (M^+) iz titana u pljuvačku [340].

Kod UFG CPTi sa smanjenjem pH vrednosti dolazi do povećanja korozione postojanosti, dok je kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure primećen trend smanjenja otpornosti u korozionoj sredini sa smanjenjem pH vrednosti medijuma. U rastvoru pH vrednosti 7,5 ispitivani materijali mogu da se rasporede u sledeći niz prema opadajućoj korozionoj otpornosti: UFG CPTi~CPTi>UFG Ti-13Nb-13Zr>Ti-13Nb-13Zr, dok u rastvorima pH vrednosti 5,5 i 4,0 može da se formira niz: UFG CPTi>Ti-13Nb-13Zr~CPTi~UFG Ti-13Nb-13Zr. Rezultati jasno ističu da UFG CPTi pokazuje najveći stepen korozione otpornosti u svim ispitivanim rastvorima veštačke pljuvačke.

Rezultati dobijeni elektrohemijskim ispitivanjima od strane različitih istraživačkih grupa su veoma različiti i teško uporedivi, upravo zbog toga što je elektrohemijsko ponašanje metalnih materijala složeno i uslovljeno mnogobrojnim faktorima. Često potpuno kontradiktorni rezultati, koji se mogu naći u literaturi, se mogu objasniti varijabilnim (promenljivim) aktivnostima površinskih atoma koji kontrolišu korozione procese. Naime, ukoliko su korozioni produkti rastvorljivi, stepen korozije UFG materijala se povećava. Sa druge strane, pasivni film koji se formira na površini metalnih materijala deluje kao barijera korozionim procesima i na taj način se smanjuje podložnost koroziji [4].



10.4. Biokompatibilnost materijala

Zabrinutost u vezi citotoksičnog efekta materijala je osnovano sveprisutna, jer se ne samo u literaturi, već i kliničkoj praksi primećuju neželjeni efekti metalnih materijala. Dobijeni rezultati MTT i DET testova u okviru doktorske disertacije pokazuju da ispitivani materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade ne ispoljavaju citotoksični efekat u kontaktu sa MRC-5 i L-929 ćelijama. Prema MTT testu vijabilnost L-929 ćelija je nakon 96h približno jednaka u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima, dok je vijabilnost MRC-5 ćelija najveća u kontaktu sa CPTi. Prema DET testu L-929 ćelije su najkompatibilnije sa Ti-6Al-4V legurom i CPTi, dok MRC-5 ćelije najveću srednju vrednost vijabilnosti pokazuju u kontaktu sa Ti-13Nb-13Zr legurom. Kako je srednja vrednost vijabilnosti korišćenih ćelija u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima veća od srednje vrednosti vijabilnosti u kontaktu sa kontrolnim materijalom, može se sa sigurnošću reći da su svi materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade citokompatibilni. Koike i saradnici [341] su razvili tri nove legure Ti-13Cr-3Cu, Ti-1.5Si i Ti-1.5Si-5Cu i objavili rezultate svojih istraživanja kojima potvrđuju da navedeni materijali pokazuju određen stepen citotoksičnosti, ali ne veći od Ti-6Al-4V legure i CPTi, koji su komercijalno dostupni. Takođe, oni naglašavaju da je neophodno nove legure podvrgnuti daljim ispitivanjima koja bi mogla da upotpune studiju u vezi njihove potencijalne primene u medicini. Sa druge strane, ugrađivanjem implanata izrađenih od titana u eksperimentalne životinje (ovce), Frisken i saradnici [342] su potvrdili da je CPTi odličan materijal za izradu dentalnih implanata jer otpuštanje jona nije statistički značajno i otpušteni joni ne dovode do neželjenih efekata. Slično, Assis i saradnici [343] su pokazali odličnu citokompatibilnost Ti-13Nb-13Zr legure u kontaktu sa L-929 ćelijama i prema ovim autorima citotoksičnost je usko povezana sa otpuštanjem metalnih jona. Ovo je u skladu sa objavljenim rezultatima od strane Li i saradnika [69], koji su istakli da otpuštanje jona iz metalnih materijala direktno uslovljava njihovu biokompatibilnost, jer se stepen citotoksičnosti smanjuje sa smanjenjem koncentracije otpuštenih jona. Gulce Iz i saradnici [197] su naglasili da ćelije na površini Ti-13Nb-13Zr legure pokazuju veći stepen vijabilnosti nego na površini CPTi, što je u saglasnosti sa rezultatima



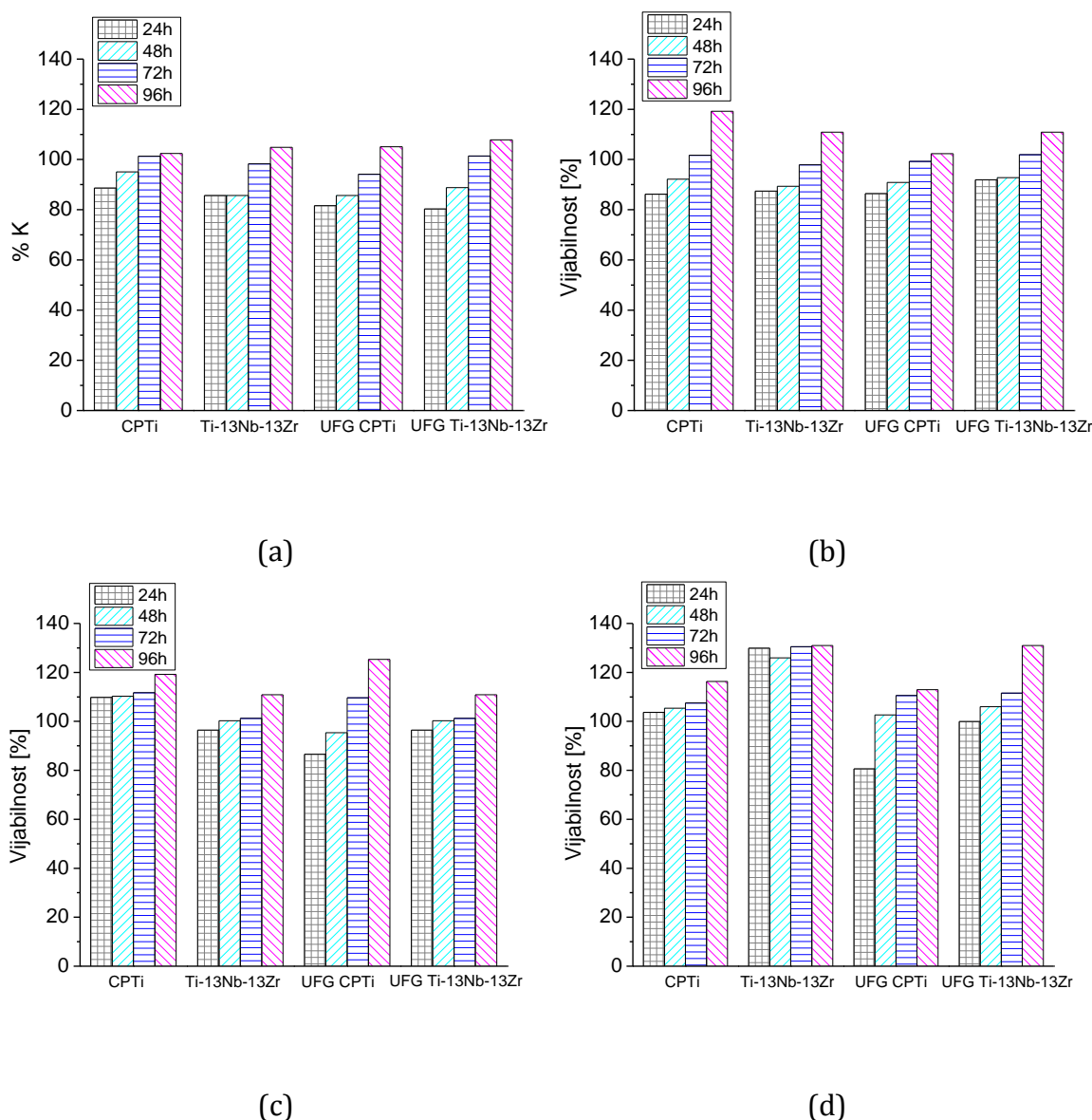
sprovedenog DET testa korišćenjem MRC-5 ćelija u ovoj disertaciji. Međutim, pri analizi rezultata ispitivanja biokompatibilnosti metalnih implantnih materijala, treba imati na umu da na biokompatibilnost utiče veliki broj faktora. Tako su Sjogren i saradnici [344] ispitivanjem citotoksičnosti različitih dentalnih legura pokazali da biokompatibilnost zavisi od sastava legure i termomehaničkog postupka obrade, dok su Gupta i saradnici [194] citotoksičnost doveli u vezu sa karakteristikama površine materijala i pokazali da peskirana Ti-13Nb-13Zr legura snažno podržava rast i vijabilnost ćelija fibroblasta. Slično, Schneider i saradnici [75] su došli do istog zaključka da Ti-13Nb-13Zr legura ne ispoljava citotoksični efekat. Sve ovo ukazuje na to da citotoksičnost materijala mnogo zavisi od tipa legirajućih elemenata. Li i saradnici [69] su u svojoj studiji naglasili da Ti, Nb i Zr u elementarnom stanju pokazuju odličnu biokompatibilnost. U prilog tome se mogu navesti i rezultati prikazani u studiji sprovedenoj od strane Ikarashi i saradnika [345] koji su implantirali Ti, Zr, Cr i Ti-Zr leguru u pacove i nakon 8 meseci odredili odgovor tkiva oko implanata. Zaključili su da nema toksikoloških promena u organizmu pacova, a zapaljenski odgovor u slučaju Ti-Zr legure je bio manji od Ti, što je dovelo do zaključka da materijal sa Zr pokazuje bolju biokompatibilnost.

Co-Cr-Mo legura, korišćena kao materijal za poređenje, pokazuje dobru citokompatibilnost sa MRC-5 i L-929 ćelijama. Različiti i često kontradiktorni rezultati mogu da se nađu u literaturi na temu biokompatibilnosti Co-Cr-Mo legure. Sa jedne strane, Čairović i saradnici [346] pokazuju da se ćelije nakon inicijalne toksičnosti vremenom adaptiraju na prisustvo legure na bazi Co. Sa druge strane pokazano je da CPTi, Ti-6Al-4V i Co-Cr-Mo legure prouzrokuju oštećenje ćelija u direktnom kontaktu, dok u indirektnom kontaktu samo Co-Cr-Mo legura oštećuje ćelije [36]. Pored toga, Fleury i saradnici [347] su demonstrirali da Cr^{3+} (0-150 ppm) i Co^{2+} (0-10 ppm) imaju citotoksični efekat na osteoblastne ćelije (MG-63). Mikroskopska analiza je pokazala promene u obliku, veličini i broju ćelija, gde Co^{2+} ima mnogo veći uticaj na navedene parametre nego Cr^{3+} . Iako je dokumentovan negativan citotoksični efekat Co^{2+} i Cr^{3+} jona, rezultati u okviru ove doktorske disertacije pokazuju da Co-Cr-Mo legura ne ispoljava citotoksični efekat. Ovo je u skladu sa rezultatima koje su dobili Xin i saradnici [348] koji su pokazali odlično širenje i rasprostiranje 3T3 ćelija na površini legure na bazi Co. Takođe, u literaturi



postoje brojna istraživanja sa sličnim zaključcima [349, 350]. Istraživanja sprovedena u okviru doktorske disertacije nedvosmisleno pokazuju da se ispitivani materijali na bazi titana odlikuju većim stepenom kompatibilnosti sa L-929 i MRC-5 ćelijama u poređenju sa *Wironit*® legurom, što je postavljeno kao jedan od ciljeva sprovedenog ispitivanja.

Uporedna analiza biokompatibilnosti materijala dobijenih konvencionalnim metodama (CPTi i Ti-13Nb-13Zr legura) i materijala dobijenih HPT postupkom (UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legura) prikazana je na slici **10.13**.



Slika 10.13 Rezultati MTT (a), (b) i DET testa (c), (d) sa L-929 ćelijama (a), (c) i MRC-5 ćelijama (b), (d) za ispitivane materijale.



Rezultati prikazani na slici **10.13** pokazuju da sa povećanjem kontaktnog vremena dolazi do povećanja srednje vrednosti vijabilnosti ćelija. Naime, frakcija L-929 ćelija u kontaktu sa CPTi se sa povećanjem kontaktnog vremena sa 24h na 96h povećava sa 89% na 102% u MTT testu i sa 110% na 119% u DET testu, dok se u kontaktu sa UFG CPTi primećuje povećanje sa 82% na 105% u MTT testu i sa 87% na 125% u DET testu. Prema tome, stepen povećanja srednjih vrednosti vijabilnosti L-929 ćelija kod CPTi iznosi 13% i 9%, a kod UFG CPTi 23% i 38% u MTT i DET testu, respektivno. Sličan trend povećanja srednje vrednosti vijabilnosti L-929 ćelija se primećuje i kod Ti-13Nb-13Zr legure gde iznosi 19% u MTT testu i 15% u DET testu, kao i kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure gde iznosi 28% u MTT testu i 15% u DET testu. Prema tome, porast srednje vrednosti vijabilnosti L-929 ćelija je izraženiji kod UFG materijala što ukazuje na njihovu veću citokompatibilnost.

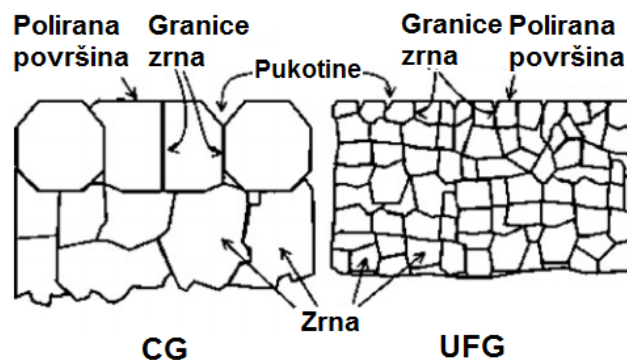
Srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija u kontaktu sa CPTi se povećava za 33% u MTT testu i za 12% u DET testu, dok se u kontaktu sa UFG CPTi primećuje povećanje od 16% u MTT testu i 32% u DET testu. Srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija dobijena DET testom se ne menja sa povećanjem kontaktnog vremena jedino kod Ti-13Nb-13Zr legure gde iznosi oko 130%, dok se u MTT testu povećava sa vrednosti od 87% na 111%. Značajan porast srednje vrednosti vijabilnosti MRC-5 ćelija sa povećanjem kontaktnog vremena se može primetiti kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure gde iznosi 19% u MTT testu i 31% u DET testu.

Rezultati dobijeni u okviru doktorske disertacije jasno potvrđuju da sa povećanjem kontaktnog vremena dolazi do povećanja srednje vrednosti ćelijske vijabilnosti u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima. Prema MTT testu, UFG Ti-13Nb-13Zr legura ispoljava najveću citokompatibilnost u kontaktu sa L-929 ćelijama u poređenju sa drugim ispitivanim materijalima. Međutim, treba naglasiti da svi ispitivani materijali pokazuju veću srednju vrednost ćelijske vijabilnosti u poređenju sa kontrolnim materijalom. Na osnovu rezultata MTT testa prema opadajućim srednjim vrednostima vijabilnosti MRC-5 ćelija materijali mogu da se rasporede u sledeći niz: CPTi>Ti-13Nb-13Zr~UFG Ti-13Nb-13Zr>UFG CPTi, dok na osnovu rezultata DET testa može da se formira sledeći niz: UFG Ti-13Nb-13Zr~Ti-13Nb-13Zr>CPTi~UFG CPTi. Zapravo, rezultati DET testa pokazuju da se iste



srednje vrednosti vijabilnosti MRC-5 ćelija detektuju za Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr legure (oko 130%) i za CPTi i UFG CPTi (oko 115%).

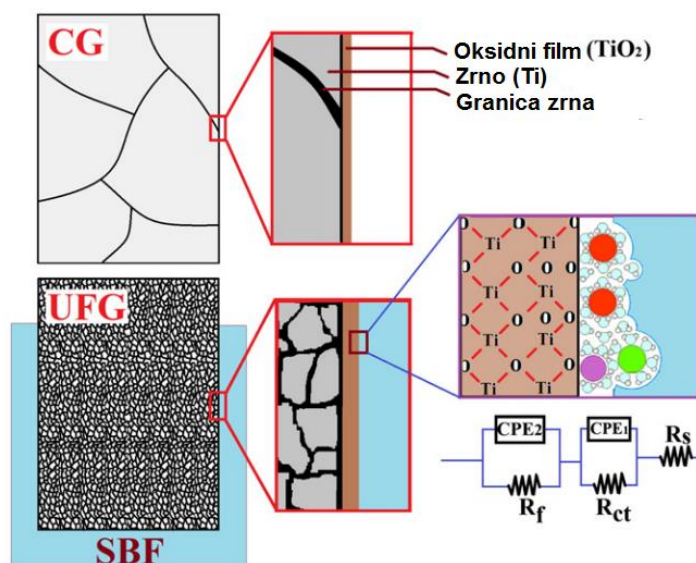
Mnogi autori su pokazali odličnu biokompatibilnost CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure u livenom stanju [196, 343, 351], međutim pitanje biokompatibilnosti UFG materijala nije dovoljno istraženo i još uvek je otvoreno za diskusiju. Rezultati dobijeni MTT, DET i ADT testovima u okviru ove disertacije pokazuju da HPT postupak dovodi do povećanja ćelijskog rasta na površini UFG materijala. SEM analiza pokazuje da su MRC-5 ćelije čvrsto vezane za površinu UFG materijala preko razvijenih citoplazmatskih nastavaka što dodatno potvrđuje visok stepen biokompatibilnosti navedenih materijala. Prema tome, odgovor ćelija je nesumnjivo bolji u kontaktu sa UFG materijalima što je dokaz *in vitro* biokompatibilnosti UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure. Pored toga, adhezija i proliferacija ćelija je bolja u slučaju UFG Ti-13Nb-13Zr legure u poređenju sa UFG CPTi, što je u skladu sa istraživanjem sprovedenim od strane Bigi i saradnika [352] u kojem je pokazano da se humane mezenhimalne matične ćelije odlikuju odličnom adhezijom i proliferacijom u kontaktu sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom. Slično, Estrin i saradnici [353, 354] su pokazali da se vezivanje i širenje mezenhimalnih matičnih ćelija značajno poboljšava usitnjavanjem mikrostrukture materijala. Do istog zaključka su došli Kim i saradnici [355] koji su ovo objasnili povećanjem površinske energije koja se javlja usitnjavanjem mikrostrukture i verovatno prisustvom velikog broja koničnih žlebova (pukotina) nano-veličine u trojnim tačkama na površini UFG materijala u poređenju sa CG materijalima, kao što je prikazano na slici 10.14.



Slika 10.14 Shematski prikaz koničnih žlebova prisutnih na površini CG i UFG materijala [355].



Prema Faghihi i saradnicima [279] poboljšanje ćelijske vijabilnosti i aktivnosti je povezano sa nanostrukturnom prirodom CPTi i prisustvom diskretnog oksidnog filma koji omogućuje povećanje stepena kvašenja površine materijala. Ovi rezultati jasno ističu prednosti HPT obrađenog CPTi u poređenju sa CG CPTi i CPTi sa prevlakama, kako u pogledu mehaničkih karakteristika, tako i u pogledu ćelijskog odgovora i u saglasnosti su sa rezultatima istraživanja prikazanim u ovoj disertaciji. Park i saradnici [356] su poboljšan odgovor pre-osteoblasta u kontaktu sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom povezali sa netoksičnim legirajućim elementima i istakli da zrna veoma male veličine dovode do povećanja površinske hidrofilnosti koja odgovara ćelijama. Takođe, Maleki-Ghaleh i saradnici [252] su demonstrirali poboljšanje korozivnih i bioloških karakteristika UFG CPTi. Prema njima kod UFG materijala dolazi do formiranja oksidnog filma veće debljine na površini UFG CPTi koji je razlog kako dobre korozivne otpornosti, tako i dobre biokompatibilnosti jer omogućuje lakše i čvršće vezivanje ćelija, kao što je prikazano na slici **10.15**.



Slika 10.15 Oksidni filmovi na CG i UFG CPTi i vezivanje ćelija [252].



11. ZAKLJUČAK

Ispitivanje i analiza korozijske postojanosti i biokompatibilnosti dentalnih metalnih materijala predstavlja neizostavni deo procene mogućnosti korišćenja materijala za kliničku primenu. Primena savremenog postupka uvijanja pod visokim pritiskom uslovlila je modifikaciju mikrostrukture materijala na bazi titana sa ciljem poboljšanja korozijske postojanosti i biokompatibilnosti. Ispitivanje i razvoj sitnozrnih materijala i proizvodnja dentalnih implanata od materijala sitnozrne mikrostrukture u poslednje vreme ima značajan naučni i industrijski interes upravo zbog mogućnosti postizanja željenih karakteristika materijala za primenu u biomedicinskom inženjerstvu. Uporednom analizom dobijenih rezultata i literaturno dostupnih podataka, koji se odnose na ponašanje metalnih implantnih materijala izloženih dejstvu hemijski agresivne sredine, mogu se doneti sledeći zaključci o uticaju konvencionalnih i savremenih postupaka izrade na mikrostrukturne, korozijske i biološke karakteristike ispitivanih materijala:

1. Izvršena karakterizacija materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade je potvrdila da je CPTi jednofazni materijal koji se na sobnoj temperaturi sastoji iz ravnoosnih zrna α faze, dok se Ti-13Nb-13Zr legura sastoji iz niskotemperaturne α faze i visokotemperaturne β faze. U mikrostrukтури Ti-13Nb-13Zr legure dominira α faza acikularne morfologije. Ti-6Al-4V legura se odlikuje prisustvom zaobljenih zrna α faze u osnovi β faze, dok je Co-Cr-Mo legura, komercijalnog naziva *Wironit*®, klasične dendritne mikrostrukture. Rezultati određivanja tvrdoće materijala na bazi titana dobijenih konvencionalnim postupcima izrade pokazuju da se legure titana odlikuju većim vrednostima tvrdoće u poređenju sa CPTi, odnosno tvrdoća ovih materijala opada prateći sledeći niz: Ti-6Al-4V > Ti-13Nb-13Zr > CPTi, dok se *Wironit*® legura odlikuje tvrdoćom koja je za 28,5 HV manja od vrednosti tvrdoće Ti-6Al-4V legure, dok je za 60 HV i 106 HV veća od vrednosti tvrdoće Ti-13Nb-13Zr legure i CPTi, respektivno.
2. Primena savremenog HPT postupka pod pritiskom od 7,8 GPa na sobnoj temperaturi brzinom 0,2 o/min je dovela do formiranja sitnozrne mikrostrukture CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure. Rezultati nedvosmisleno pokazuju



da primena HPT postupka dovodi do promene u mikrostrukturi CPTi na taj način što visoki pritisak bez uvijanja dovodi do izduženja α zrna, koja su ravnoosna u inicijalnoj mikrostrukturi, dok primena visokog pritiska u kombinaciji sa uvijanjem dovodi do formiranja ultrafinih globularnih α zrna. Primena HPT postupka kod Ti-13Nb-13Zr legure dovodi do transformacije acikularnih u globularna α zrna, čije granice imaju zamućen izgled usled pojave visokog unutrašnjeg naprežanja.

3. Primenjeni HPT postupak, osim što utiče na promenu oblika zrna u mikrostrukturi materijala na bazi titana, nesumnjivo dovodi i do usitnjavanja mikrostrukture. Kod CPTi je uočeno da se veličina zrna smanjuje od centra ka ivici uzorka jer se sa povećanjem rastojanja od centra uzorka deformacija povećava, dok su kod Ti-13Nb-13Zr legure zrna krupnija na ivici u poređenju sa središnjim delom uzorka.

U cilju optimizacije HPT postupka ispitan je uticaj broja obrtaja (0, $\frac{1}{4}$, 1, 5 i 11) na stepen usitnjenosti mikrostrukture navedenih materijala. Povećanje broja obrtaja od $\frac{1}{4}$ do 5 dovodi do smanjenja veličine zrna, pri čemu prosečna veličina zrna za UFG CPTi iznosi 275 nm, a za UFG Ti-13Nb-13Zr leguru 330 nm. Dalje povećanje broja obrtaja od 5 do 11 ne dovodi do daljeg usitnjavanja mikrostrukture, već se formiraju zrna prosečne veličine 440 nm kod UFG CPTi i 395 nm kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure. Kako povećanje broja obrtaja iznad 5 ne dovodi do daljeg usitnjavanja mikrostrukture zaključuje se da je upravo to optimalan broj obrtaja koji dovodi do zasićenja mikrostrukture. Dodatno, najmanje odstupanje od prosečne veličine zrna je određeno za uzorke oba ispitivana materijala podvrgnuta HPT postupku na 5 obrtaja (3% kod UFG CPTi i 4% kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure), što je u vezi sa izuzetnom homogenošću mikrostrukture HPT deformisanih materijala.

4. Sa povećanjem broja obrtaja primenjenog HPT postupka dolazi do povećanja mikrotvrdoće materijala do dostizanja ravnotežne vrednosti koja je u vezi sa formiranjem zasićene mikrostrukture. Rezultati prikazani u okviru doktorske disertacije jasno pokazuju da vrednost mikrotvrdoće kod UFG CPTi nakon naglog porasta za $n=\frac{1}{4}$ postaje gotovo uniformna, odnosno prosečna vrednost mikrotvrdoće UFG CPTi uzoraka koji su dobijeni HPT deformacijom primenom



1, 5 i 11 obrtaja iznosi 404 ± 21 HV, što je dvostruko više od tvrdoće materijala u inicijalnom stanju. Kod UFG Ti-13Nb-13Zr legure nakon inicijalnog porasta, mikrotvrdoća dostiže prosečnu vrednost od 354 ± 4 HV, što je 1,6 puta više od tvrdoće materijala u inicijalnom stanju. Kod uzoraka koji su podvrgnuti samo pritisku bez uvijanja ($n=0$) i uzoraka podvrgnutih HPT postupku za $\frac{1}{4}$ obrtaja prosečna vrednost mikrotvrdoće UFG Ti-13Nb-13Zr legure je veća u poređenju sa UFG CPTi, dok se primenom većeg broja obrtaja ($n \geq 1$) dobija da je prosečna vrednost mikrotvrdoće UFG CPTi veća od prosečne vrednosti mikrotvrdoće UFG Ti-13Nb-13Zr legure.

Stepen homogenosti HPT obrađenih materijala je analiziran određivanjem profila mikrotvrdoće duž prečnika uzoraka. Rezultati pokazuju da se mikrotvrdoća povećava od centra ka ivici uzoraka, pri čemu je povećanje intenzivnije u slučaju UFG CPTi u poređenju sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom. Najuniformnija raspodela vrednosti mikrotvrdoće duž prečnika je dobijena za uzorke UFG CPTi i UFG Ti-13Nb-13Zr legure podvrgnutih HPT postupku na 5 obrtaja, što dodatno potvrđuje da su navedeni uzorci veoma homogeni.

5. Istraživanja sprovedena u okviru doktorske disertacije su omogućila definisanje zavisnosti između koncentracije otpuštenih jona, pH vrednosti medijuma i dužine potapanja implantnih materijala u medijumu. Kod materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade sa povećanjem vremena potapanja dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona, pa je najveća koncentracija otpuštenih jona iz svih ispitivanih materijala dobijena nakon 6 nedelja potapanja. Do povećanja koncentracije otpuštenih metalnih jona iz svih ispitivanih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade dovodi i smanjenje pH vrednosti rastvora veštačke pljuvačke. Sprovedena ispitivanja su pokazala da promena pH vrednosti i vreme potapanja imaju značajno manji uticaj na otpuštanje jona iz Ti-13Nb-13Zr legure i CPTi nego što je to slučaj kod legura Ti-6Al-4V i *Wironit*®. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da kisela sredina u kombinaciji sa dužim vremenom izlaganja materijala medijumu ima najnegativniji efekat na otpuštanje metalnih jona iz svih ispitivanih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade. U najekstremnijem ispitivanom slučaju, odnosno u rastvoru veštačke pljuvačke



pH vrednosti 4,0 nakon 6 nedelja ukupna koncentracija otpuštenih jona iz *Wironit*® legure iznosi 2580 ppb, iz Ti-6Al-4V legure 934 ppb, iz CPTi 640 ppb i iz Ti-13Nb-13Zr legure 122 ppb. Dobijeni rezultati pokazuju da dodavanje Nb i Zr kao legirajućih elemenata redukuje otpuštanje metalnih jona i povećava otpornost metala na koroziju. Joni Ti se u najvećoj koncentraciji otpuštaju iz Ti-6Al-4V legure (750 ppb) nakon 6 nedelja u rastvoru veštačke pljuvačke pH 4,0 u poređenju sa koncentracijom otpuštenih Ti jona iz CPTi i Ti-13Nb-13Zr legure, koja je za 110 ppb i 630 ppb manja, respektivno.

Otpuštanje jona Al iz Ti-6Al-4V legure je intenzivnije u poređenju sa otpuštanjem jona V, pa tako koncentracija otpuštenih jona V ne prelazi 8 ppb u svim razmatranim slučajevima, dok koncentracija jona Al dostiže vrednost od 142 ppb nakon 6 nedelja na pH vrednosti od 4,0. Iako je udeo Nb i Zr isti u leguri Ti-13Nb-13Zr, koncentracija otpuštenih jona je različita što se objašnjava različitim prečnikom jona. Zr, kao atom manjeg prečnika, se kreće većom brzinom i posledično lakše otpušta u poređenju sa Nb. Prikazani rezultati pokazuju da koncentracija otpuštenih jona nije u linearnoj zavisnosti sa udelom elementa u leguri. Upoređivanjem otpuštanja Nb i Zr jona sa jedne strane i Al i V jona sa druge strane zaključuje se da je ukupno otpuštanje Nb i Zr jona 114 puta manje od otpuštanja Al i V jona u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 nakon 6 nedelja.

Analiza otpuštene količine pojedinačnih jona nakon 7 dana u rastvoru veštačke pljuvačke pH vrednosti 4,0 pokazuje da se Ti joni otpuštaju u količini ($85 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ iz Ti-6Al-4V legure, $75 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ iz Ti-13Nb-13Zr legure i $70 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ iz CPTi) koja je manja od dozvoljene količine prema ISO 22674 standardu ($200 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$). Takođe, najveća količina otpuštenih Mo jona iz *Wironit*® legure, koja iznosi $120 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, je manja od dozvoljene količine prema ISO 22674 standardu.

6. Ispitivanjem uticaja fluorida, koji su prisutni u velikom broju tečnosti za ispiranje usta i sredstava za oralnu higijenu, na stepen otpuštanja jona zaključeno je da prisustvo fluorida u rastvoru veštačke pljuvačke značajno povećava koncentraciju otpuštenih jona u poređenju sa rastvorom bez prisustva fluorida. Rezultati pokazuju da sa povećanjem koncentracije fluorida



dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona, ali to nije trend u svim ispitivanim slučajevima. Naime, koncentracija otpuštenih Ti jona iz CPTi se povećava sa povećanjem koncentracije fluorida sa 0,1% na 0,5% u rastvoru pH vrednosti 4,0 sa vrednosti 640 ppb na 760 ppb, a u rastvoru pH 5,5 sa 630 ppb na 820 ppb. Za razliku od navedenih rezultata, u rastvoru pH 7,5 povećanje koncentracije fluorida ne dovodi do povećanja koncentracije otpuštenih Ti jona, što navodi na zaključak da povećanje koncentracije fluorida u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke ne utiče na koncentraciju otpuštenih Ti jona iz CPTi. U rastvoru veštačke pljuvačke pH 4,0 i 5,5 sa povećanjem koncentracije fluorida dolazi do povećanja koncentracije otpuštenih jona Ti, Nb i Zr iz Ti-13Nb-13Zr legure, dok u rastvoru pH vrednosti 7,5 povećanje koncentracije fluorida dovodi do smanjenja koncentracije otpuštenih Ti jona, a gotovo ne utiče na promenu koncentracije Nb i Zr jona. Prema tome, najmanji uticaj prisustva fluorida na otpuštanje jona se ispoljava u rastvoru veštačke pljuvačke neutralne pH vrednosti.

7. Rezultati statičkih testova potapanja pokazuju da sitnozrni materijali dobijeni HPT postupkom otpuštaju jone u manjem stepenu od krupnozrnih materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade. Koncentracija otpuštenih jona iz UFG CPTi je 100 puta manja od koncentracije otpuštenih jona iz CPTi, dok je koncentracija otpuštenih jona iz UFG Ti-13Nb-13Zr legure 32 puta manja u poređenju sa koncentracijom otpuštenih jona iz Ti-13Nb-13Zr legure. Takođe, poređenje materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade je pokazalo da se Ti-13Nb-13Zr legura odlikuje većom postojanošću u rastvoru veštačke pljuvačke u odnosu na CPTi, a kada se uporede UFG materijali, zaključuje se da manje jona otpušta UFG CPTi u poređenju sa UFG Ti-13Nb-13Zr legurom. Prema opadajućem stepenu otpuštanja jona ispitivani materijali mogu da se rasporede u sledeći niz: CPTi>Ti-13Nb-13Zr>UFG Ti-13Nb-13Zr>UFG CPTi.
8. Elektrohemijaska ispitivanja sprovedena u okviru doktorske disertacije pokazuju da se CPTi i UFG CPTi odlikuju sličnim elektrohemijaskim ponašanjem u neutralnom rastvoru veštačke pljuvačke, dok se UFG Ti-13Nb-13Zr legura odlikuje većom korozionom otpornošću od Ti-13Nb-13Zr legure u inicijalnom



stanju. Razlog korozijske postojanosti materijala na bazi titana je formiranje dvoslojnog oksidnog filma na površini svih ispitivanih materijala. Oksidni film se sastoji iz unutrašnjeg barijernog sloja i spoljašnjeg poroznog sloja, pri čemu barijerni sloj pokazuje veću otpornost i manju kapacitivnost od poroznog sloja nezavisno od sastava materijala i mikrostrukturnog stanja. Rezultati sprovedenih ispitivanja u rastvorima veštačke pljuvačke različite pH vrednosti jasno ističu da UFG CPTi pokazuje najveći stepen korozijske otpornosti u svim ispitivanim rastvorima, što je u skladu sa rezultatima statičkog testa potapanja prema kome se iz UFG CPTi otpušta najmanja koncentracija jona.

9. Sprovedeni MTT, DET i ADT testovi, sa ciljem ispitivanja biokompatibilnosti, pokazuju da materijali dobijeni konvencionalnim postupcima izrade nisu citotoksični. Prema MTT testu srednja vrednost vijabilnosti L-929 ćelija u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima je približno jednaka i veća od srednje vrednosti vijabilnosti ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom, dok se na osnovu rastućih srednjih vrednosti vijabilnosti MRC-5 ćelija materijali mogu rasporediti u sledeći niz: Wironit® < Ti-6Al-4V < Ti-13Nb-13Zr < CPTi. Rezultati DET testa pokazuju da se najveća srednja vrednost vijabilnosti L-929 ćelija detektuje u kontaktu sa Ti-6Al-4V legurom, dok Ti-13Nb-13Zr legura pokazuje najveću citokompatibilnost sa MRC-5 ćelijama. U poređnom analizom rezultata MTT testa za materijale na bazi titana dobijene konvencionalnim postupcima izrade i materijale dobijene HPT postupkom, može se zaključiti da UFG Ti-13Nb-13Zr legura omogućava rast L-929 ćelija u najvećem stepenu, dok se prema rastućim srednjim vrednostima vijabilnosti MRC-5 ćelija materijali mogu rasporediti u sledeći niz: UFG CPTi < UFG Ti-13Nb-13Zr ~ Ti-13Nb-13Zr < CPTi. Rezultati DET testa pokazuju da srednja vrednost vijabilnosti MRC-5 ćelija iznosi oko 130% za legure Ti-13Nb-13Zr i UFG Ti-13Nb-13Zr i oko 115% za CPTi i UFG CPTi, dok je najveća srednja vrednost vijabilnosti L-929 ćelija, od oko 125%, zabeležena u kontaktu sa UFG CPTi. Nakon 96h srednja vrednost vijabilnosti ćelija u kontaktu sa svim ispitivanim materijalima je veća od srednje vrednosti vijabilnosti ćelija u kontaktu sa kontrolnim materijalom, što ukazuje na to da ispitivani materijali ne ispoljavaju citotoksični efekat u kontaktu sa L-929 i MRC-5 ćelijama.



SEM mikrofotografije su pokazale da su MRC-5 ćelije na površini svih ispitivanih materijala pravilnog trouglastog, izduženog vretenastog i zvezdastog oblika sa izraženim citoplazmatičnim nastavcima, kojima se ćelije međusobno povezuju i vezuju za površinu materijala. Voluminozna priroda ćelija ukazuje na njihovu metaboličku aktivnost. Kod materijala dobijenih konvencionalnim postupcima izrade primećene su, u malom broju, okrugle i skupljene ćelije, bez i jednog citoplazmatičnog nastavka, koje predstavljaju negativan granični slučaj. Ovakve ćelije nisu uočene pregledom cele površine uzoraka materijala sitnozrne mikrostrukture dobijene HPT postupkom.

Dobijene vrednosti ćelijske vijabilnosti i analiza morfologije fibroblastnih ćelija jasno ističu da su obe ispitivane grupe materijala adekvatne biokompatibilnosti, što omogućava njihovu primenu za izradu dentalnih implanata.

Sitnozrni materijali na bazi titana dobijeni HPT postupkom se ističu kao materijali čije su sve ispitivane karakteristike poboljšane u odnosu na krupnozrne materijale dobijene konvencionalnim postupcima izrade. Sa sigurnošću se može reći da se HPT postupak, kao savremeni postupak deformacije materijala na bazi titana, može uspešno primeniti za izradu dugotrajnih dentalnih implanata poboljšanih karakteristika koji će funkcionisati bez neželjenih efekata u agresivnoj sredini kakva je usna duplja.



12. LITERATURA

- [1] J.B. Park, R.S. Lakes, *Biomaterials: An introduction*, Springer, NY, 2007.
- [2] J.O. Hollinger, *Consensus definitions, fundamental concepts, and a standardized approach to applied biomaterials sciences*, in *An introduction to biomaterials*, J.O. Hollinger, Ed., Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2012, pp.1-7.
- [3] H.J. Rack, J.I. Qazi, *Titanium alloys for biomedical applications*, *Mater Sci Eng C* 26 (2006) 1269-1277.
- [4] M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A.K. Gogia, *Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review*, *Prog Mater Sci* 54 (2009) 397-425.
- [5] D. Raković, D. Uskoković, *Uvod*, u *Biomaterijali*, D. Raković, D. Uskoković, Ur., Institut tehničkih nauka SANU, Društvo za istraživanje materijala, Beograd, 2010, str.13-23.
- [6] S. Virtanen, *Degradation of titanium and its alloy*, in *Degradation of implant materials*, N. Eliaz, Ed., Springer, NY, 2012, pp.29-56.
- [7] Y. Okazaki, E. Gotoh, *Comparison of metal release from various metallic biomaterials in vitro*, *Biomaterials* 26 (2005) 11-21.
- [8] M. Niinomi, M. Nakai, J. Hieda, *Development of new metallic alloys for biomedical applications*, *Acta Biomater* 8 (2012) 3888-3903.
- [9] Y. Li, C. Yang, H. Zhao, S. Qu, X. Li, Y. Li, *New developments of Ti-based alloys for biomedical applications*, *Materials* 7 (2014) 1709-1800.
- [10] X. Liu, P.K. Chu, C. Ding, *Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications*, *Mater Sci Eng R* 47 (2004) 49-121.
- [11] T.R. Rautray, R. Narayanan, K.-H. Kim, *Ion implantation of titanium based biomaterials*, *Prog Mater Sci* 56 (2011) 1137-1177.
- [12] I. Cvijović-Alagić, Z. Cvijović, J. Bajat, M. Rakin, *Composition and processing effects on the electrochemical characteristics of biomedical titanium alloys*, *Corr Sci* 83 (2014) 245-254.
- [13] M. Niinomi, *Metallic Biomaterials*, *J Artif Organs* 11 (2008) 105-110.
- [14] M.A.-H. Gepreel, M. Niinomi, *Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation*, *J Mech Behav Biomed Mater* 20 (2013) 407-415.
- [15] M. Esposito, *Titanium for dental applications*, in *Titanium in Medicine*, D. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomson, Eds., Springer, Berlin, 2001, pp.875-888.
- [16] M. Nie, C.T. Wang, M. Qu, N. Gao, J.A. Wharton, T.G. Langdon, *The corrosion behaviour of commercial purity titanium processed by high-pressure torsion*, *J Mater Sci* 49 (2014) 2824-2831.
- [17] R.Z. Valiev, R.K. Islamgaliev, I.V. Alexandrov, *Bulk nanostructured materials from severe plastic deformation*, *Prog Mater Sci* 45 (2000) 103-189.
- [18] Y. Estrin, A. Vinogradov, *Extreme grain refinement by severe plastic deformation: A wealth of challenging science*, *Acta Mater* 61 (2013) 782-817.
- [19] A. Azushima, R. Kopp, A. Korhonen, D.Y. Yang, F. Micari, G.D. Lahoti, P. Groche, J. Yanagimoto, N. Tsuji, A. Rosochowski, A. Yanagida, *Severe plastic*



- deformation (SPD) processes for metals*, CIRP ANN-MANUF TECHN 57 (2008) 716-735.
- [20] C.N. Elias, M.A. Meyers, R.Z. Valiev, S.N. Monteiro, *Ultrafine grained titanium for biomedical applications: An overview of performance*, J Mater Res Technol 2 (2013) 340-350.
- [21] I. Cvijović-Alagić, *Otpornost prema oštećenju i lomu legura titana za primenu u medicini*, doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 2013.
- [22] J. Black, *The education of the biomaterialist: Report of a survey*, J Biomed Mater Res A 16 (1982) 159-167.
- [23] B.D. Ratner, *Biomaterials science: An interdisciplinary endeavor*, in Biomaterials science: An introduction to materials in medicine, B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons, Eds., Academic Press, San Diego, 1996, pp.1-8.
- [24] J.B. Park, *Biomaterials: An introduction*, Plenum Press, NY, 1979.
- [25] J.W. Boretos, M. Eden, *Contemporary biomaterials, material and host response, clinical applications, new technology and legal aspects*, Park Ridge, Noyes Publications, NJ, 1984.
- [26] D. Raković, *Osnovi biofizike*, IASC&IEFPG, Beograd, 2008.
- [27] N.R. Patel, P.P. Gohil, *A review on biomaterials: Scope, applications and human anatomy significance*, Int J Emerg Technol Adv Eng 2 (2012) 91-101.
- [28] D. Tanikić, M. Manić, D. Đenadić, S. Randelović, J. Milovanović, P. Đekić, *Metali i legure u funkciji biomaterijala*, Vojnotehnički glasnik 60 (2012) 202-215.
- [29] I. Cvijović-Alagić, M. Rakin, *Integrity of biomedical implants of titanium alloys: First part*, Integritet i vek konstrukcija 8 (2008) 31-40.
- [30] R.M. Pilliar, *Metallic biomaterials*, in Biomedical materials, R. Narayan, Ed., Springer, NY, 2009, pp.41-81.
- [31] A. Srivastav, *An overview of metallic biomaterials for bone support and replacement*, in Biomedical engineering, Trends in materials science, A. Laskovski, Ed., InTech, Europe, 2011, pp.153-168.
- [32] J.D. Bronzino, *Biomedical Engineering Handbook: Second Edition*, CRC Press LLC, Boca Raton, 2000.
- [33] M. Niinomi, *Recent metallic materials for biomedical applications*, Metall Mater Trans A, 33A (2002) 477-486.
- [34] M. Niinomi, *Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods*, Sci Technol Adv Mater 4 (2003) 445-454.
- [35] Lj. Vujošević, *Metali i legure*, u Stomatološki materijali, Lj. Vujošević, Ur., Medicinska knjiga, Beograd, 1997, str.175-213.
- [36] J.B. Brunski, *Metals*, in Biomaterials science: An introduction to materials in medicine, B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons, Eds., Academic Press, San Diego, 1996, pp.37-50.
- [37] J. Black, G.W. Hastings, *Handbook of biomaterials properties*, Chapman & Hall, London, UK, 1998.



- [38] H. Hermawan, D. Ramdan, J.R.P. Djuansjah, *Metals for biomedical applications*, in Biomedical engineering-From theory to applications, R. Fazel, Ed., InTech, 2011, pp.411-430.
- [39] W.J. O'Brien, *Dental materials and their selection*, Quintessence Publishing Co, Inc., Hanover Park, IL, 2002.
- [40] J.B. Park, J.D. Bronzino, *Biomaterials: principles and applications*, CRC Press, Boca Raton, FL, 2003.
- [41] P. Parida, A. Behera, S.C. Mishra, *Classification of biomaterials used in medicine*, IJAAS 1/3 (2012) 31-35.
- [42] J. Black, *Biological Performance of Materials: Fundamentals of biocompatibility*, Marcel Dekker, Inc., NY, 1992.
- [43] J. Cohen, J. Wulff, *Clinical failure caused by corrosion of a vitallium plate. Case report, new testing methods for crevice corrosion, and new techniques for fashioning cobalt chromium alloys to be used in surgical implants*, J Bone Joint Surg Am 54 (1972) 617-628.
- [44] ASTM F75-87: *Standard specification for cobalt-28chromium-6molybdenum alloy castings and casting alloy for surgical implants*, 2012.
- [45] ASTM F562-84: *Standard specification for wrought 35cobalt-35nickel-20chromium-10molybdenum alloy for surgical implant applications*, 2013.
- [46] I. Milošev, *CoCrMo alloy for biomedical applications*, in Biomedical applications, Modern aspects of electrochemistry 55, S.S. Đokić, Ed., Springer, NY, 2012, pp.1-72.
- [47] H. Tschernischek, L. Borchers, W. Geurtsen, *Non-alloyed titanium as a bioinert metal - A review*, Quintessence Int 36 (2005) 523-530.
- [48] H.L. Freese, M.G. Volas, J.R. Wood, *Metallurgy and technological properties of titanium and titanium alloys*, in Titanium in Medicine, D. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomson, Eds., Springer, Berlin, 2001, pp.25-51.
- [49] V.S. de Viteri, E. Fuentes, *Titanium and titanium alloys as biomaterials*, in Tribology – Fundamentals and Advancements, J. Gegner, Ed., InTech, 2013, pp.155-181.
- [50] M. Semlitsch, F. Staub, H. Webber, *Titanium-aluminum-niobium alloy, development for biocompatible, high strength surgical implants*, Biomed Tech (Berl.) 30 (1985) 334-339.
- [51] M. Geetha, A.K. Singh, K. Muraleedharan, A.K. Gogia, R. Asokamani, *Effect of thermomechanical processing on microstructure of a Ti-13Nb-13Zr alloy*, J Alloys Compd 329 (2001) 264-271.
- [52] S. Ankem, S.R. Seagle, *Heat treatment of metastable beta titanium alloys*, in Beta Titanium Alloys in the 1980's, H. Rosenberg, R.R. Boyer, Eds., AIME, NY, 1984, pp.107-126.
- [53] T. Akahori, M. Niinomi, H. Fukui, M. Ogawa, H. Toda, *Improvement in fatigue characteristics of newly developed beta type titanium alloy for biomedical applications by thermo-mechanical treatments*, Mater Sci Eng C 25 (2005) 248-254.
- [54] K.Y. Xie, Y. Wang, Y. Zhao, L. Chang, G. Wang, Z. Chen, Y. Cao, X. Liao, E.J. Lavernia, R.Z. Valiev, B. Sarrafpour, H. Zoellner, S.P. Ringer, *Nanocrystalline β -Ti alloy with high hardness, low Young's modulus and excellent in vitro*



- biocompatibility for biomedical applications*, Mater Sci Eng C 33 (2013) 3530-3536.
- [55] K. Wang, L. Gustavson, J. Dumbleton, *The characterization of Ti-12Mo-6Zr-2Fe: A new biocompatible titanium alloy developed for surgical implants*, in Beta Titanium Alloys in the 1990's, D. Eylon, R.R. Boyer, D.A. Koss, Eds., TMS, Warrendale, PA, USA, 1993, pp.49-60.
- [56] A.K. Shukla, R. Balasubramaniam, S. Bhargava, *Properties of passive film formed on CP titanium, Ti-6Al-4V and Ti-13.4Al-29Nb alloys in simulated human body conditions*, Intermetallics 13 (2005) 631-637.
- [57] M. Ozcan, C. Hammerle, *Titanium as a reconstruction and implant material in dentistry: Advantages and pitfalls*, Materials 5 (2012) 1528-1545.
- [58] R.B. Osman, M.V. Swain, *A critical review of dental implant materials with an emphasis on titanium versus zirconia*, Materials 8 (2015) 932-958.
- [59] D. Mihov, B. Katerska, *Some biocompatible materials used in medical practice*, Trakia J Sci 8 (2010) 119-125.
- [60] B. Ristić, Z. Popović, D. Adamović, G. Devedžić, *Izbor biomaterijala u ortopedskoj hirurgiji*, Vojnosanit Pregl 67 (2010) 847-855.
- [61] ASTM F67-89: *Standard specification for unalloyed titanium, for surgical implant applications*, 2013.
- [62] ASTM F136-84: *Standard specification for wrought titanium-6aluminum-4vanadium ELI (extra low interstitial) alloy for surgical implant applications*, 1992.
- [63] M. Niinomi, *Mechanical properties of biomedical titanium alloys*, Mater Sci Eng A 243 (1998) 231-236.
- [64] Titanium: A Technical Guide, 2nd Edition, ASM International, 2000.
- [65] C. Oldani, A. Dominguez, *Titanium as a biomaterial for implants*, in Recent advances in arthroplasty, S. Fokter, Ed., InTech, China, 2012, pp.149-162.
- [66] T. Hanawa, *Implants and biomaterials (Titanium metal)*, chapter 7, pp.1-13.
- [67] M. Mikulewicz, K. Chojnacka, I. Kochanowska, A. Dziewicka, M. Janeczek, J. Cieplik, A. Chroszcz, *Cytotoxicity of nickel ions for human osteoblasts in the context of orthodontic treatment in humans and animals*, Turk J Vet Anim Sci 37 (2013) 164-169.
- [68] E. Eisenbarth, D. Velten, M. Muller, R. Thull, J. Breme, *Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys*, Biomaterials 25 (2004) 5705-5713.
- [69] Y. Li, C. Wong, J. Xiong, P. Hodgson, C. Wen, *Cytotoxicity of titanium and titanium alloying elements*, J Dent Res 89 (2010) 493-497.
- [70] D.A. Garsia, T.M. Sullivan, D.M. O'Neill, *Biocompatibility of dental implant material measured in animal model*, J Dent Res 60 (1981) 44-49.
- [71] E. Velasco-Ortega, A. Jos, A.M. Camean, J. Pato-Mourelo, J.J. Segura-Egea, *In vitro evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of a commercial titanium alloy for dental implantology*, Mutat Res 702(1) (2010) 17-23.
- [72] B.D. Ratner, *A perspective on titanium biocompatibility*, in Titanium in medicine, D. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomson, Eds., Springer, Berlin, 2001, pp.1-12.
- [73] Y. Okazaki, *A new Ti-15Zr-4Nb-4Ta alloy for medical applications*, Curr Opin Solid State Mater Sci 5 (2001) 45-53.



- [74] Y. Okazaki, Y. Ito, K. Kyo, T. Tateishi, *Corrosion resistance and corrosion fatigue strength of new titanium alloys for medical implants without V and Al*, Mater Sci Eng A 213(1-2) (1996) 138-147.
- [75] S.G. Schneider, C.A. Nunes, S.O. Rogero, O.Z. Higa, J.C. Bressiani, *Mechanical properties and cytotoxic evaluation of the Ti-13Nb-13Zr alloy*, Biomechanica 8(1) (2000) 84-87.
- [76] Q. Liu, Q. Meng, S. Guo, X. Zhao, *α' Type Ti-Nb-Zr alloys with ultra-low Young's modulus and high strength*, Prog Nat Sci 23(6) (2013) 562-565.
- [77] K. Niespodziana, K. Jurczyk, M. Jurczyk, *The synthesis of titanium alloys for biomedical application*, Rev Adv Mater Sci 18 (2008) 236-240.
- [78] C.N. Elias, J.H.C. Lima, R. Valiev, M.A. Meyers, *Biomedical applications of titanium and its alloys*, JOM 60(3) (2008) 46-49.
- [79] F. Sun, J.Y. Zhang, M. Marteleur, C. Brozek, E.F. Rauch, M. Veron, P. Vermaut, P.J. Jacques, F. Prima, *A new titanium alloy with a combination of high strength, high strain hardening and improved ductility*, Scr Mater 94 (2015) 17-20.
- [80] C. Vasilescu, S.I. Drob, E.I. Neacsu, J.M. Rosca, *Surface analysis and corrosion resistance of a new titanium base alloy in simulated body fluids*, Corr Sci 65 (2012) 431-440.
- [81] D. Kuroda, M. Niinomi, M. Morinaga, Y. Kato, T. Yashiro, *Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials*, Mater Sci Eng A 243 (1998) 244-249.
- [82] P.J. Bania, *Beta titanium alloys and their role in the titanium industry*, in Beta Titanium Alloys in the 1990's, D. Eylon, R.R. Boyer, D.A. Koss, Eds., TMS, Warrendale, PA, USA, 1993, pp.3-14.
- [83] T. Hanawa, K. Asami, K. Asaoka, *Repassivation of titanium and surface oxide film regenerated in simulated bioliquid*, J Biomed Mater Res 40 (1998) 530-538.
- [84] G.D. Parfitt, *The surface of titanium dioxide*, Prog Surf Membrane Sci 11 (1976) 181-226.
- [85] M. Esposito, J. Lausmaa, J.M. Hirsch, P. Thomsen, *Surface analysis of failed oral titanium implants*, J Biomed Mater Res Appl Biomater 48 (1999) 559-568.
- [86] I. Milosev, M. Metikos-Huković, H.H. Strehblow, *Passive film on orthopaedic TiAlV alloy formed in physiological solution investigated by X-ray photoelectron spectroscopy*, Biomaterials 21 (2000) 2103-2013.
- [87] D. Granchi, G. Ciapetti, L. Savarino, D. Cavedagna, M.E. Donati, A. Pizzoferrato, *Assessment of metal extract toxicity on human lymphocytes cultured in vitro*, J Biomed Mater Res 31 (1996) 183-191.
- [88] S.H. Teoh, *Fatigue of biomaterials: a review*, Int J Fatigue 22 (2000) 825-837.
- [89] K. Prasad, O. Bazaka, M. Chua, M. Rochford, L. Fedrick, J. Spoor, R. Symes, M. Tieppo, C. Coolins, A. Cao, D. Markwell, K.K. Ostrikov, K. Bazaka, *Metallic biomaterials: Current challenges and opportunities*, Materials 884(10) (2017) 1-33.
- [90] S. Nag, R. Banerjee, *Fundamentals of medical implant materials*, in Materials for medical devices, R. Narayan, Ed., ASM International, 2012, pp.7-17.



- [91] R. Bhola, S.M. Bhola, B. Mishra, D.L. Olson, *Corrosion in titanium dental implants/prostheses - A Review*, Trends Biomater Artif Organs 25 (2011) 34-46.
- [92] Lj. Vujošević, D. Stamenković, *Materijali za implantate*, u Stomatološki materijali, Lj. Vujošević, Ur., Medicinska knjiga, Beograd, 1997, str.299-308.
- [93] Council Directive 93/42/EEC, dostupno na: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1993L0042:20071011:en:PDF> (preuzeto oktobar 2017).
- [94] S.C. Wang, M. Browne, H.S. Ubhi, M.J. Starink, *Determination of the fatigue fracture planes of Co-Cr-Mo biomedical alloys using electron backscatter diffraction*, J Microsc 217(2) (2005) 118-121.
- [95] A. Takaichi, Suyalatu, T. Nakamoto, N. Joko, N. Nomura, Y. Tsutsumi, S. Migita, H. Doi, S. Kurosu, A. Chiba, N. Wakabayashi, Y. Igarashi, T. Hanawa, *Microstructures and mechanical properties of Co-29Cr-6Mo alloy fabricated by selective laser melting process for dental applications*, J Mech Behav Biomed 21 (2013) 67-76.
- [96] A.S. Al-Hiyasat, O.M. Bashabsheh, H. Darmani, *Elements released from dental casting alloys and their cytotoxic effects*, Int J Prosthodont 15(5) (2002) 473-478.
- [97] H.-Y. Lin, J.D. Bumgardner, *In vitro biocorrosion of Co-Cr-Mo implant alloy by macrophage cells*, J Orthop Res 22(6) (2004) 1231-1236.
- [98] S. Karimi, T. Nickchi, A. M. Alfantazi, *Long-term corrosion investigation of AISI 316L, Co-28Cr-6Mo, and Ti-6Al-4V alloys in simulated body solutions*, Appl Surf Sci 258 (2012) 6087-6096.
- [99] D. Raković, M. Pavlović, *Metalni biomaterijali*, u Biomaterijali, D. Raković, D. Uskoković, Ur., Institut tehničkih nauka SANU, Društvo za istraživanje materijala, Beograd, 2010, str.483-512.
- [100] N. Ignjatović, D. Uskoković, M. Pavlović, *Čvrstotkivni implantati*, u Biomaterijali, D. Raković, D. Uskoković, Ur., Institut tehničkih nauka SANU, Društvo za istraživanje materijala, Beograd, 2010, str.697-726.
- [101] M. Navarro, A. Michiardi, O. Castano, J.A. Planell, *Biomaterials in orthopaedics*, J R Soc Interface 5 (2008) 1137-1158.
- [102] ASTM F799: *Standard Specification for Cobalt-28Chromium-6Molybdenum Alloy Forgings for Surgical Implants*, 2002.
- [103] D.F. Williams, J. Cunningham, *Materials in clinical dentistry*, Oxford University Press, Oxford, UK, 1979.
- [104] R. Junker, A. Dimakis, M. Thoneick, J.A. Jansen, *Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: A systematic review*, Clin Oral Implants Res 20 (2009) 185-206.
- [105] S. Sahoo, M. Goel, P. Gandhi, S. Saxena, *Biological aspects of dental implant: Current knowledge and perspectives in oral implantology*, Dent Hypotheses 4 (2013) 87-91.
- [106] J. Perović, *Oralna implantologija*, Stomatološki fakultet, Beograd, 2004.
- [107] R.W. Brand, D.E. Isselhard, E. Satin, *Anatomy of orofacial structures: A comprehensive approach*, Elsevier Health Sciences, 2013.
- [108] M. Jurišić, *Anatomski preduslovi za implantaciju*, u Oralna implantologija, M. Jurišić, Ur., Stomatološki fakultet, Beograd, 2008, str.19-25.



- [109] A.K. Garg, *Implant dentistry: A practical approach*, Mosby, Elsevier, 2009.
- [110] H. Spiekermann, K. Donath, T. Hassell, S. Jovanović, J. Richter, *Implantology: Color atlas of dental medicine*, Thieme, NY, 1995.
- [111] *A dentist's guide to implantology - Association of dental implantology*, dostupno na: http://www.adi.org.uk/profession/dentist_guide/a-dentists-guide-to-implantology.pdf (preuzeto avgust 2017).
- [112] A. Jokstad, *Osseointegration and dental implants*, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2008.
- [113] M. Jurišić, D. Stamenković, *Vrste i dizajn implantata*, u *Oralna implantologija*, M. Jurišić, Ur., Stomatološki fakultet, Beograd, 2008, str.41-53.
- [114] P.I. Branemark, *Osseointegration and its experimental background*, *J Prosthet Dent* 50 (1983) 399-410.
- [115] A. Marković, D. Stamenković, *Indikacije i kontraindikacije za ugradnju oralnih implantata*, u *Oralna implantologija*, M. Jurišić, Ur., Stomatološki fakultet, Beograd, 2008, str.57-77.
- [116] N.P. Lang, T. Berglundh, L.J. Heitz-Mayfield, B.E. Pjetursson, G.E. Salvi, M. Sanz, *Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications*, *Int J Oral Maxillofac Impl* 19 (2004) 150-154.
- [117] D. Đorđević, *Interakcije ćelija i tkiva sa biomaterijalima*, u *Biomaterijali*, D. Raković, D. Uskoković, Ur., Institut tehničkih nauka SANU, Društvo za istraživanje materijala, Beograd, 2010, str.67-96.
- [118] L.T. Ciocan, F. Miculescu, M. Miculescu, I. Patrascu, *Biological reactions to dental implants*, in *Implant dentistry - A rapidly evolving practice*, I. Turkyilmaz, Ed., InTech, China, 2011, pp.505-530.
- [119] J.W. Nicholson, *The chemistry of medical and dental materials*, The Royal Society of Chemistry, UK, 2002.
- [120] B. Kasemo, J. Lausma, *Biomaterial and implant surface: A surface science approach*, *Int J Oral Maxillofac Impl* 3 (1988) 247-259.
- [121] J.E. Feighan, V.M. Goldberg, D. Davy, J.A. Parr, S. Stevenson, *The influence of surface-blasting on the incorporation of titanium-alloy implants in a rabbit intramedullary model*, *J Bone Joint Surg Am* 77(9) (1995) 1380-1395.
- [122] W. Khang, S. Feldman, C. Hawely, J. Gunsolley, *A multi-center study comparing dual acid-etched and machined-surfaced implant in various bone qualities*, *J Peridontol* 72(10) (2001) 1384-1390.
- [123] P.I. Branemark, R. Adell, U. Breine, B.O. Hansson, J. Lindström, A. Ohlsson, *Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies*, *Scand J Plast Reconstr Surg* 3 (1969) 81-100.
- [124] A.F. Mavrogenis, R. Dimitriou, J. Parvizi, G.C. Babis, *Biology of implant osseointegration*, *J Musculoskelet Neuronal Interact* 9(2) (2009) 61-71.
- [125] Lj. Ristić, *Dentalne legure i korozija*, *Vojnosanit Pregl* 63 (2006) 1033-1037.
- [126] G. Pavlović, *Hemijska svojstva stomatoloških materijala*, u *Stomatološki materijali*, Lj. Vujošević, Ur., Medicinska knjiga, Beograd, 1997, str.53-92.
- [127] J.J. Jacobs, C. Silvertown, N.J. Hallab, A.K. Skipor, L. Patterson, J. Black, J.O. Galante, *Metal release and excretion from cementless titanium alloy total knee replacements*, *Clin Orthop Relat Res* 358 (1999) 173-180.



- [128] I. Dimić, I. Cvijović-Alagić, M. Rakin, B. Bugarski, *Analysis of metal ion release from biomedical implants*, Metall Mater Eng 19(2) (2013) 167-176.
- [129] D. Đorđević, *Sistemska toksičnost i hipersenzitivnost, tumorogeneza, infekcije, u Biomaterijali*, D. Raković, D. Uskoković, Ur., Institut tehničkih nauka SANU, Društvo za istraživanje materijala, Beograd, 2010, str.188-220.
- [130] Y. Finer, F. Jaffer, J.P. Santerre, *Mutual influence of cholesterol esterase and pseudocholinesterase on the biodegradation of dental composite*, Biomaterials 25 (2004) 1787-1793.
- [131] T. Hirayama, M. Koike, T. Kurogi, A. Shibata, S. Nkamura, M. Terano, Y. Yamabe, H. Murata, H. Fujii, *Ion release from casts of commercially pure titanium in mixed solutions of organic acids contained in human saliva*, J Jpn Prosthodont Soc 52 (2008) 501-506.
- [132] R.A. Gittens, R. Olivares-Navarrete, R. Tannenbaum, B.D. Boyan, Z. Schwartz, *Electrical implications of corrosion for osseointegration of titanium implants*, J Dent Res 90 (2011) 1389-1397.
- [133] N. Adya, M. Alam, T. Ravindranath, A. Mubeen, B. Sulaja, *Corrosion in titanium dental implants: literature review*, J Indian Prosthodont Soc 5 (2005) 126-131.
- [134] F. Nejatidanesh, O. Savabi, A. Yazdanparast, *An investigation on metallic ion release from four dental casting alloys*, J Dent (Tehran) 2/4 (2005) 168-173.
- [135] J.K. Anusavice, *Corrosion*, in Phillips' Science of Dental Materials, J.K. Anusavice, C. Shen, H.R. Rawls, Eds., Elsevier Saunders, London, 1996, pp.347-361.
- [136] S. Virtanen, I. Milošev, E. Gomez-Barrena, R. Trebče, J. Salo, Y.T. Konttinen, *Special modes of corrosion under physiological and simulated physiological conditions*, Acta Biomater 4 (2008) 468-476.
- [137] T. Hanawa, *An overview of biofunctionalization of metal in Japan*, J R Soc Interface 6 (2009) S361-S369.
- [138] S.J. Mary, S. Rajendran, *Corrosion behavior of metals in artificial body fluid an over view*, Zaštita materijala 53(3) (2012) 181-189.
- [139] M. Cortada, LL. Giner, S. Costa, F.J. Gil, D. Rodriguez, J.A. Planell, *Galvanic corrosion behavior of titanium implants coupled to dental alloys*, J Mater Sci: Mater Med 11 (2000) 287-293.
- [140] L.A. Joseph, O.K. Israel, E.J. Edet, *Comparative evaluation of metal ions release from titanium and Ti-6Al-7Nb into bio-fluids*, Dent Res J (Isfahan) 6/1 (2009) 7-11.
- [141] N. Rinčić, I. Baučić, S. Miko, M. Papić, E. Prohić, *Corrosion behaviour of the Co-Cr-Mo dental alloy in solutions of different composition and different pH values*, Collegium Antropol 27/2 (2003) 99-106.
- [142] G. Can, G. Akpınar, A. Aydın, *The release of elements from dental casting alloy into cell-culture medium and artificial saliva*, Eur J Dent 2 (2007) 86-90.
- [143] Y. Okazaki, E. Gotoh, *Corrosion fatigue properties of metallic biomaterials in Eagle's medium*, Mater Trans 43 (2002) 2949-2955.
- [144] Y. Oshida, *Bioscience and Bioengineering of Titanium Materials*, Elsevier Science, Oxford, UK, 2006.
- [145] T. Hanawa, *Metal ion release from metal implants*, Mater Sci Eng C 24 (2004) 745-752.



- [146] A. Yamamoto, T. Kobayashi, N. Maruyama, K. Nakazawa, M. Sumita, *Fretting fatigue properties of Ti-6Al-4V alloy in pseudo-body fluid*, J Japan Inst Metals 59 (1995) 463-470.
- [147] M. Mikulewicz, K. Chojnacka, B. Wozniak, P. Downarowicz, *Release of metal ions from orthodontic appliances: An in vitro study*, Biol Trace Elem Res 146 (2012) 272-280.
- [148] M. Browne, P.J. Gregson, *Effect of mechanical surface pretreatment on metal ion release*, Biomaterials 21 (2000) 385-392.
- [149] J.C. Wataha, *Biocompatibility of dental casting alloys: A review*, J Prosthet Dent 83 (2000) 223-234.
- [150] I. Multu, E. Okta, *Influence of fluoride content of artificial saliva on metal release from 17-4 PH stainless steel foam for dental implant applications*, J Mater Sci Technol 29(6) (2013) 582-588.
- [151] ISO 10271: *Dental metallic materials – Corrosion test methods*, International Organisation for Standardisation, Geneva, 2001.
- [152] D.J. Bumgardner, B.I. Johansson, *Effects of titanium-dental restorative alloy galvanic couples on cultured cells*, J Biomes Mater Res 43 (1998) 184-191.
- [153] M. Sumita, T. Hanawa, I. Ohnishi, T. Yoneyama, *Volume 9: Bioengineering – Comprehensive structural integrity*, I. Milne, R.O. Ritchie, B. Karihaloo, Y.W. Mai, S.H. Teoh, Eds., Elsevier, Oxford, UK, 2003, p.131.
- [154] S. Fujibayashi, M. Neo, H.-M. Kim, T. Kokubo, T. Nakamura, *A comparative study between in vivo bone ingrowth and in vitro apatite formation on Na₂O-CaO-SiO₂ glasses*, Biomaterials 24 (2003) 1349-1356.
- [155] M.C. Cortizo, M.F.L. de Mele, A.M. Cortizo, *Metallic dental material biocompatibility in osteoblastlike cells. Correlation with metal ion release*, Biol Trace Elem Res 100 (2004) 151-168.
- [156] V.W.-H. Leung, B.W. Darvell, *Artificial salivas for in vitro studies of dental materials*, J Dent 25(6) (1997) 475-484.
- [157] J.Y. Gal, Y. Fovet, M. Adib-Yadzi, *About a synthetic saliva for in vitro studies*, Talanta 53(6) (2001) 1103-1115.
- [158] S.J. Mary, S. Rajendran, *Corrosion behavior of metals in artificial blood plasma in presence of glucose*, Zaštita materijala 53(2) (2012) 109-113.
- [159] L. Kinani, A. Chtaini, *Corrosion inhibition of titanium in artificial saliva containing fluoride*, Leonardo J Sci 11 (2007) 33-40.
- [160] J.C. Wataha, S.K. Nelson, P.E. Lockwood, *Elemental release from dental casting alloys into biological media with and without protein*, Dent Mater 17 (2001) 409-414.
- [161] B.J. Teubl, M. Absenger, E. Fröhlich, G. Leitinger, A. Zimmer, E. Roblegg, *The oral cavity as a biological barrier system: Design of an advanced buccal in vitro permeability model*, European J Pharm Biopharm 84 (2013) 386-393.
- [162] L. Mutlu-Sagesen, G. Ergun, E. Karabulut, *Ion release from metal-ceramic alloys in three different media*, Dent Mater J 30(5) (2011) 598-610.
- [163] J.C. Wataha, P.E. Lockwood, S.S. Khajotia, R. Turner, *Effect of pH on element release from dental casting alloys*, J Prosthet Dent 80/6 (1998) 691-698.
- [164] M. Marek, *Measurement of metal ion release from biomedical implant alloys*, Proceedings of the symposium on compatibility of biomedical implants (1994) pp.73-84.



- [165] J.C. Wataha, P.E. Lockwood, *Release of elements from dental casting alloys into cell-culture medium over 10 months*, Dent Mater 14 (1998) 158-163.
- [166] J.F. Lopez-Alias, J. Martinez-Gomis, J.M. Anglada, M. Peraire, *Ion release from dental casting alloys as assessed by a continuous flow system: Nutritional and toxicological implications*, Dent Mater 22 (2006) 832-837.
- [167] M. Mikulewicz, K. Chojnacka, *Release of metal ions from orthodontic appliances by in vitro studies: A systematic literature review*, Biol Trace Elem Res 139 (2011) 241-256.
- [168] S. Tamilselvi, V. Raman, N. Rajendran, *Corrosion behaviour of Ti-6Al-7Nb and Ti-6Al-4V ELI alloys in the simulated body fluid solution by electrochemical impedance spectroscopy*, Electrochim Acta 52 (2006) 839-846.
- [169] A. Al Otaibi, E.S.M. Sherif, S. Zinelis, Y.S. Al Jabbari, *Corrosion behavior of two CP titanium dental implants connected by cobalt chromium metal superstructure in artificial saliva and the influence of immersion time*, Int J Electrochem Sci 11 (2016) 5877-5890.
- [170] ISO 17475: *Corrosion of metals and alloys - Electrochemical test methods - Guidelines for conducting potentiostatic and potentiodynamic polarization measurements*, International Organisation for Standardisation, Geneva, 2005.
- [171] K.M. Speck, A.C. Fracker, *Anodic polarization behavior of Ti-Ni and Ti-6Al-4V in simulated physiological solution*, J Dent Res 59 (1980) 1590-1595.
- [172] N.T. Kadowaki, G.A.S. Martinez, A. Robin, *Electrochemical behavior of three CP titanium dental implants in artificial saliva*, Mater Res 12(3) (2009) 363-366.
- [173] A. Revathi, U. Vijayalakshmi, M. Geetha, *Comparative study of electrochemical behavior of CP-titanium and Ti-6Al-4V with other titanium based alloys for biomedical applications*, Mater Technol 29 (2014) B49-B53.
- [174] A. Choubey, B. Basu, R. Balasubramaniam, *Electrochemical behavior of Ti-based alloys in simulated human body fluid environment*, Trends Biomater Artif Organs 18(2) (2005) 64-72.
- [175] N.A. Mariano, R.G. Oliveira, M.A. Fernandes, E.C.S. Rigo, *Corrosion behavior of pure titanium in artificial saliva solution*, Revista Matéria 14(2) (2009) 878-880.
- [176] D.F. Williams, *Definitions in biomaterials*, Elsevier, Oxford, UK, 1987.
- [177] E. Wintermantel, J. Mayer, J. Blum, K. Eckert, P. Lüscher, M. Mathey, *Tissue engineering scaffolds using superstructures*, Biomaterials 17 (1996) 83-91.
- [178] M. Čolić, *Testovi za ispitivanje biokompatibilnosti stomatoloških materijala*, u Gradivni stomatološki materijali, D. Stamenković, Ur., Stomatološki fakultet, Beograd, 2007, str.37-62.
- [179] K. Obradović-Đuričić, D. Stamenković, *Biokompatibilnost gradivnih stomatoloških materijala*, u Gradivni stomatološki materijali, D. Stamenković, Ur., Stomatološki fakultet, Beograd, 2007, str.11-36.
- [180] J.F. Osborn, *Implantat werkstoff hydroxylapatit keramik – grundlagen und linische anwendung*, Quintessenz Verlag, Berlin, 1985.
- [181] J.C. Wataha, *Principles of biocompatibility for dental practitioners*, J Prosthet Dent 86 (2001) 203-209.



- [182] ISO 10993-5: *Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*, International Organisation for Standardisation, Geneva, 2009.
- [183] ISO 7405: *Dentistry – Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry - Test methods for Dental materials*, International Organisation for Standardisation, Geneva, 2008.
- [184] C.T. Hanks, J.C. Wataha, Z. Sun, *In vitro models of biocompatibility: a review*, Dent Mater 12 (1996) 186-193.
- [185] G. Schmalz, *Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials*, Clin Oral Investig 1 (1997) 154-162.
- [186] G. Schmalz, *Material science: biological aspects*, J Dent Res 81 (2002) 660-663.
- [187] A.T.H. Tang, J. Li, J. Ekstrand, Y. Liu, *Cytotoxicity tests of in situ polymerized resins: Methodological comparisons and introduction of tissue culture insert as a testing device*, Int Biomed Mater Res 45 (1999) 214-222.
- [188] M. Kostić, N. Krunić, S. Najman, *Contemporary aspect of dental materials biocompatibility examination tests*, Acta stomatologica Naissi 26 (2010) 1007-1016.
- [189] K. Moharamzadeh, I.M. Brook, R. van Noort, *Biocompatibility of Resin-based Dental Materials*, Materials 2 (2009) 514-548.
- [190] W. Elshahawy, I. Watanabe, *Biocompatibility of dental alloys used in dental fixed prosthodontics*, Tanta Dent J 11 (2014) 150-159.
- [191] M. Reigosa, V. Labarta, G. Molinari, D. Bernales, *Cytocompatibility, cytotoxicity and genotoxicity analyses of dental implants*, J Basic Appl Genet 19(1) (2008) 43-48.
- [192] D. Jevremović, V. Kojić, G. Bogdanović, T. Puškar, D. Eggbeer, D. Thomas, R. Williams, *A selective laser melted Co-Cr alloy used for rapid manufacture of removable partial denture frameworks – initial screening of biocompatibility*, J Serb Chem Soc 76 (2011) 43-52.
- [193] A. Pistorius, B. Willershausen, *Biocompatibility of dental materials in two human cell lines*, Eur J Med Res 7 (2002) 81-88.
- [194] A. Gupta, P. Majumdar, J. Amit, A. Rajesh, A.B. Singh, M. Chakraborty, *Cell viability and growth on metallic surfaces: in vitro studies*, Trends Biomater Artif Organs 20 (2006) 84-89.
- [195] A. Galeotti, R. Uomo, G. Spagnuolo, S. Paduano, R. Cimino, R. Valletta, V. D'Anto, *Effect of pH on in vitro biocompatibility of orthodontic miniscrew implants*, Prog Orthodont 14(15) (2013) 1-7.
- [196] T.A.G. Donato, L.H. de Almeida, R.A. Nogueira, T.C. Niemeyer, C.R. Grandini, R. Caram, S.G. Schneider, A.R. Santos Jr, *Cytotoxicity study of some Ti alloys used as biomaterial*, Mater Sci Eng C 29 (2009) 1365-1369.
- [197] S. Gulce Iz, S.I. Deliloglu Gurhan, B.H. Sen, T. Endogan, N. Hasirci, *Comparison of in vitro cytotoxicity and genotoxicity of MMA-based polymeric materials and various metallic materials*, Turk J Med Sci 40 (2010) 905-916.
- [198] L. Trentani, F. Pelillo, F.C. Pavesi, L. Ceciliani, G. Cetta, A. Forlino, *Evaluation of the TiMo12Zr6Fe2 alloy for orthopaedic implants: in vitro biocompatibility study by using primary human fibroblasts and osteoblasts*, Biomaterials 23 (2002) 2863-2869.



- [199] M. Es-Souni, M. Es-Souni, H. Fischer-Brandies, *Assessing the biocompatibility of NiTi shape memory alloys used for medical applications*, Anal Bioanal Chem 381 (2005) 557-567.
- [200] Y. Lin, G.O. Gallucci, D. Buser, D. Bosshardt, U.C. Belser, P.C. Yelick, *Bioengineered periodontal tissue formed on titanium dental implants*, J Dent Res 90(2) (2010) 251-256.
- [201] B.-H. Choi, *Periodontal ligament formation around titanium implants using cultured periodontal ligament cells: A pilot study*, Int J Oral Maxillofac Implants 15(2) (2000) 193-196.
- [202] G.L. Polyzois, *In vitro evaluation of dental materials*, Clin Mater 16 (1994) 21-60.
- [203] T. Mossman, *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*, J Immunol Methods 65(1-2) (1983) 55-63.
- [204] M.V. Berridge, P.M. Herst, A.S. Tan, *Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction*, Biotechnol Annu Rev 11 (2005) 127-152.
- [205] Y. Issa, D.C. Watts, P.A. Brunton, C.M. Waters, A.J. Duxbury, *Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro*, Dent Mater 20 (2004) 12-20.
- [206] S. Bouillaguet, L. Shaw, L. Gonzalez, J.C. Wataha, I. Krejci, *Long-term cytotoxicity of resin based dental restorative materials*, J Oral Rehabil 29 (2002) 7-13.
- [207] M.V. Varagić, P.M. Milošević, *Farmakologija*, Elit Medica, Beograd, 2003.
- [208] W. Strober, *Trypan blue exclusion test of cell viability*, Curr Protoc Immunol, Appendix 3, 2001, doi:10.1002/0471142735.ima03bs21.
- [209] J. Yamazoe, M. Nakagawa, Y. Matono, A. Takeuchi, K. Ishikawa, *The development of Ti alloys for dental implant with high corrosion resistance and mechanical strength*, Dent Mater J 26 (2007) 260-267.
- [210] D. Mareci, R. Chelariu, D.M. Gordin, G. Ungureanu, T. Gloriant, *Comparative corrosion study of Ti-Ta alloys for dental applications*, Acta Biomater 5 (2009) 3625-3639.
- [211] L. Nie, Y. Zhan, H. Liu, C. Tang, *Novel β -type Zr-Mo-Ti alloys for biological hard tissue replacements*, Mater Des 53 (2014) 8-12.
- [212] M. Papakyriacou, H. Mayer, C. Pypen, H. Plenk, S. Stanzl-Tschegg, *Effects of surface treatments on high cycle corrosion fatigue of metallic implant materials*, Int J Fatigue 22 (2000) 873-886.
- [213] A.B. Hazar Yoruc, E. Kelesoglu, *Fatigue behaviour of the chemically treated titanium grade 4 implant material*, J Optoelectron Biomed Mater 1 (2009) 200-208.
- [214] X.X. Wang, W. Yan, S. Hayakawa, K. Tsuru, A. Osaka, *Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid*, Biomaterials 24 (2003) 4631-4637.
- [215] D. Buser, N. Broggin, M. Wieland, R.K. Schenk, A.J. Denzer, D.L. Cochran, B. Hoffmann, A. Lussi, S.G. Steinemann, *Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface*, J Dent Res 83 (2004) 529-533.



- [216] A. Najdahmadi, A. Zarei-Hanzaki, E. Farghadani, *Mechanical properties enhancement in Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr alloy via heat treatment with no detrimental effect on its biocompatibility*, Mater Des 54 (2014) 786-791.
- [217] Y.T. Zhu, T.C. Lowe, T.G. Langdon, *Performance and applications of nanostructured materials produced by severe plastic deformation*, Scr Mater 51 (2004) 825-830.
- [218] J.C. Werenskiold, *Equal Channel Angular Pressing (ECAP) of AA6082: Mechanical properties, texture and microstructural development*, PhD thesis, The Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, 2004.
- [219] K.O. Sanusi, O.D. Makinde, G.J. Oliver, *Equal channel angular pressing technique for the formation of ultra-fine grained structures*, S Afr J Sci 108(9/10) (2012) 1-7.
- [220] R. Pippan, S. Scheriau, A. Taylor, M. Hafok, A. Hohenwarter, A. Bachmaier, *Saturation of fragmentation during severe plastic deformation*, Annu Rev Mater Res 40 (2010) 319-343.
- [221] P.W. Bridgman, *General survey of certain results in the field of high-pressure physics*, Nobel Lecture, December 11, 1946.
- [222] H. Yilmazer, M. Niinomi, M. Nakai, K. Cho, J. Hieda, Y. Todaka, T. Miyazaki, *Mechanical properties of a medical β -type titanium alloy with specific microstructural evolution through high-pressure torsion*, Mater Sci Eng C 33 (2013) 2499-2507.
- [223] M. Vilotić, *Intenzivna plastična deformacija u procesima višefaznog sabijanja materijala*, doktorska disertacija, Fakultet tehničkih nauka, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 2015.
- [224] R.Z. Valiev, *Nanostructuring of metals by severe plastic deformation for advanced properties*, Nat Mater 3 (2004) 511-516.
- [225] D-H. Kang, T-W. Kim, *Mechanical behavior and microstructural evolution of commercially pure titanium in enhanced multi-pass equal channel angular pressing and cold extrusion*, Mater Des 31 (2010) S54-S60.
- [226] Y. Zhao, H. Guo, M.W. Fu, Y. Ning, Z. Yao, *Fabrication of bulk ultrafine grained titanium alloy via equal channel angular pressing based thermomechanical treatment*, Mater Des 46 (2013) 889-894.
- [227] N.P. Gurao, M. Geetha, P. Govindaraj, R. Asokamani, S. Suwas, *Effect of texture and grain size on bio-corrosion response of ultrafine-grained titanium*, Metall Mater Trans A 44 (2013) 5602-5610.
- [228] N. Tsuji, Y. Saito, S-H. Lee, Y. Minamino, *ARB (Accumulative Roll-Bonding) and other new techniques to produce bulk ultrafine grained materials*, Adv Eng Mater 5 (2003) 338-344.
- [229] Y. Harai, K. Edalati, Z. Horita, T.G. Langdon, *Using ring samples to evaluate the processing characteristics in High-pressure Torsion*, Acta Mater 57 (2009) 1147-1153.
- [230] K. Sharman, P. Bazarnik, T. Brynk, A. Gunay Bulutsuz, M. Lewandowska, Y. Huang, T.G. Langdon, *Enhancement in mechanical properties of a β -titanium alloy by high-pressure torsion*, J Mater Res Technol 4 (2015) 79-83.
- [231] A.P. Zhilyaev, T.G. Langdon, *Using high-pressure torsion for metal processing: Fundamentals and applications*, Prog Mater Sci 53 (2008) 893-979.



- [232] R. Pippan, S. Scheriau, A. Hohenwarter, M. Hafok, *Advantages and limitations of HPT: a review*, Mater Sci Forum 584-586 (2008) 16-21.
- [233] A. Vorhauer, R. Pippan, *On the onset of a steady state in body-centered cubic iron during severe plastic deformation at low homologous temperatures*, Metall Mater Trans A 39 (2007) 417-429.
- [234] F. Wetscher, A. Vorhauer, R. Pippan, *Strain hardening during high pressure torsion deformation*, Mater Sci Eng A 410-411 (2005) 213-216.
- [235] F. Wetscher, R. Pippan, *Cyclic high-pressure torsion of nickel and Armco iron*, Philos Mag 86 (2006) 5867-5883.
- [236] F. Wetscher, R. Pippan, *Hardening and softening behavior by cyclic high-pressure torsion*, Metall Mater Trans A 40 (2009) 3258-3263.
- [237] C. Xu, Z. Horita, T. Langdon, *The evolution of homogeneity in processing by high-pressure torsion*, Acta Mater 55 (2007) 203-212.
- [238] A. Vorhauer, R. Pippan, *On the homogeneity of deformation by high pressure torsion*, Scr Mater 51 (2004) 921-925.
- [239] X.G. Sakai, K. Nakamura, Z. Horita, T.G. Langdon, *Application of high pressure torsion to bulk samples*, Mater Sci Forum 503-504 (2005) 391-396.
- [240] R.K. Islamgaliev, V. U. Kazyhanov, L. O. Shestakova, A. V. Sharafutdinov, R. Z. Valiev, *Microstructure and mechanical properties of titanium (grade 4) processed by high-pressure torsion*, Mater Sci Eng A 493 (2008) 190-194.
- [241] M. Shirooyeh, J. Xu, T.G. Langdon, *Microhardness evolution and mechanical characteristics of commercial purity titanium processed by high-pressure torsion*, Mater Sci Eng A 614 (2014) 223-231.
- [242] A.V. Sergueeva, V.V. Stolyarov, R.Z. Valiev, A.K. Mukherjee, *Advanced mechanical properties of pure titanium with ultrafine grained structure*, Scr Mater 45 (2001) 747-752.
- [243] C.T. Wang, N. Gao, M.G. Gee, R.J.K. Wood, T.G. Langdon, *Effect of grain size on the micro-tribological behavior of pure titanium processed by high-pressure torsion*, Wear 280-281 (2012) 28-35.
- [244] J. Gallego, T.S. Pinheiro, R.Z. Valiev, V. Polyakova, C. Bolfarini, C.S. Kiminami, A. Moreira Jorge Jr., W.J. Botta, *Microstructural characterization of Ti-6Al-7Nb alloy after severe plastic deformation*, Mater Res 15(5) (2012) 786-791.
- [245] M. Greger, M. Widomská, L. Kander, *Mechanical properties of ultra-fine grain titanium*, JAMME 40/1 (2010) 33-40.
- [246] J.-W. Park, Y.-J. Kim, C.H. Park, D.-H. Lee, Y.G. Ko, J.-H. Jang, C.S. Lee, *Enhanced osteoblast response to an equal channel angular pressing-processed pure titanium substrate with microrough surface topography*, Acta Biomater 5 (2009) 3272-3280.
- [247] M. Greger, M. Černý, L. Kander, J. Kliber, *Structure and properties of titanium for dental implants*, METABK 48 (2009) 249-252.
- [248] K. Edalati, T. Daio, M. Arita, S. Lee, Z. Horita, A. Togo, I. Tanaka, *High-pressure torsion of titanium at cryogenic and room temperatures: Grain size effect on allotropic phase transformations*, Acta Mater 68 (2014) 207-213.
- [249] C.Y. Zheng, F.L. Nie, Y.F. Zheng, Y. Cheng, S.C. Wei, R.Z. Valiev, *Enhanced in vitro biocompatibility of ultrafine-grained titanium with hierarchical porous surface*, Appl Surf Sci 257 (2011) 5634-5640.



- [250] A. Balyanov, J. KutNYakova, N.A. Amirkhanova, V.V. Stolyarov, R.Z. Valiev, X.Z. Liao, Y.H. Zhao, Y.B. Jiang, H.F. Xu, T.C. Lowe, Y.T. Zhu, *Corrosion resistance of ultrafinegrained Ti*, *Scr Mater* 51 (2004) 225-229.
- [251] A. Balakrishnan, B.C. Lee, T.N. Kim, B.B. Panigrahi, *Corrosion behaviour of ultra fine grained titanium in simulated body fluid for implant application*, *Trends Biomater Artif Organs* 22 (2008) 58-64.
- [252] H. Maleki-Ghaleh, K. Hajizadeh, A. Hadjizadeh, M.S. Shakeri, S. Ghobadi Alamdari, S. Masoudfar, E. Aghaie, M. Javidi, J. Zdunek, K.J. Kurzydowski, *Electrochemical and cellular behavior of ultrafine-grained titanium in vitro*, *Mater Sci Eng C* 39 (2014) 299-304.
- [253] S. Faghihi, D. Li, J.A. Szpunar, *Tribocorrosion behaviour of nanostructured titanium substrates processed by high-pressure torsion*, *Nanotechnology* 21 (2010) 485703.
- [254] <http://www.timplant.cz/en/dentist/new-nanoimplant-nanostructured-implants/>
- [255] E. Vasilescu, P. Drob, D. Raducanu, I. Cinca, D. Mareci, J.M. Calderon Moreno, M. Popa, C. Vasilescu, J.C. Mirza Rosca, *Effect of thermo-mechanical processing on the corrosion resistance of Ti6Al4V alloys in biofluids*, *Corr Sci* 51 (2009) 2885-2896.
- [256] L.T. Duarte, S.R. Biaggio, R.C. Rocha-Filho, N. Bocchi, *Surface characterization of oxides grown on the Ti-13Nb-13Zr alloy and their corrosion protection*, *Corr Sci* 72 (2013) 35-40.
- [257] Ž. Radovanović, Đ. Veljović, B. Jokić, S. Dimitrijević, G. Bogdanović, V. Kojić, R. Petrović, Đ. Janačković, *Biocompatibility and antimicrobial activity of zinc(II)-doped hydroxyapatite, synthesized by a hydrothermal method*, *J Serb Chem Soc* 77 (2012) 1787-1798.
- [258] Đ. Veljović, M. Čolić, V. Kojić, G. Bogdanović, Z. Kojić, A. Banjac, E. Palcevskis, R. Petrović, Đ. Janačković, *The effect of grain size on the biocompatibility, cell-materials interface and mechanical properties of microwave sintered bioceramics*, *J Biomed Mater Res A* 100 (2012) 3059-3070.
- [259] V.A. Joshi, *Titanium alloys: An atlas of structures and fracture features*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2006.
- [260] C.R. Brooks, *Heat treatment, structure and properties of nonferrous alloys*, American Society for Metals, Metals Park, Ohio, USA, 1982.
- [261] A. Mishra, B.K. Kad, F. Gregori, M.A. Meyers, *Microstructural evolution in copper subjected to severe plastic deformation: experiments and analysis*, *Acta Mater* 55(1) (2007) 13-28.
- [262] T. Sakai, A. Belyakov, R. Kaibyshev, H. Miura, J.J. Jonas, *Dynamic and post-dynamic recrystallization under hot, cold and severe plastic deformation conditions*, *Prog Mater Sci* 60 (2014) 130-207.
- [263] Y. Li, L. Zhou, Z. Li, *Microstructures and mechanical properties of a new titanium alloy for surgical implant application*, *Int J Min Met Mater* 17 (2010) 185-191.
- [264] L.M. Gammon, R.D. Briggs, J.M. Packard, K.W. Batson, R. Boyer, C.W. Dombay, *Metallography and microstructures of titanium and its alloys*, in G.F. Vander



- Voort, Ed., ASM Handbook, Volume 9: Metallography and microstructures, 2004, pp.899-917.
- [265] X. Sauvage, G. Wilde, S.V. Divinski, Z. Horita, R.Z. Valiev, *Grain boundaries in ultrafine grained materials processed by severe plastic deformation and related phenomena*, Mater Sci Eng A 540 (2012) 1-12.
- [266] D.A.G. Perez, A.M.J. Junior, C.S. Kiminami, C. Bolfarini, W.J. Botta, *Ultrafine-grained Ti-13Nb-13Zr alloy produced by severe plastic deformation*, Mater Res, 2017, doi:10.1590/1980-5373-mr-2017-0037.
- [267] R.Z. Valiev, A.V. Sergueeva, A.K. Mukherjee, *The effect of annealing on tensile deformation behavior of nanostructured SPD titanium*, Scr Mater 49(7) (2003) 669-674.
- [268] K.M. Ho, C.L. Fu, B.N. Harmon, W. Weber, D.R. Hamann, *Vibrational frequencies and structural properties of transition metals via total-energy calculations*, Phys Rev Lett 49 (1982) 673-676.
- [269] Y. Ivanisenko, A. Kilmametov, H. Rosner, R.Z. Valiev, *Evidence of $\alpha \rightarrow \omega$ phase transition in titanium after high pressure torsion*, Int J Mater Res 99 (2008) 36-41.
- [270] K. Edalati, E. Matsubara, Z. Horita, *Processing pure Ti by high-pressure torsion in wide ranges of pressures and strain*, Metall Mater Trans A 40 (2009) 2079-2086.
- [271] Y. Todaka, J. Sasaki, T. Moto, M. Umemoto, *Bulk submicrocrystalline ω -Ti produced by high-pressure torsion straining*, Scr Mater 59 (2008) 615-618.
- [272] C.T. Wang, A.G. Fox, T.G. Langdon, *Microstructural evolution in ultrafine-grained titanium processed by high-pressure torsion under different pressures*, J Mater Sci 49(19) (2014) 6558-6564.
- [273] R.G. Hennig, D.R. Trinkle, J. Bouchet, S.G. Srinivasan, R.C. Albers, J.W. Wilkins, *Impurities block the α to ω martensitic transformation in titanium*, Nat Mater 4 (2005) 129-133.
- [274] Y. Huang, S. Mortier, P.H.R. Pereira, P. Bazarnik, M. Lewandowska, T.G. Langdon, *Thermal stability and mechanical properties of HPT-processed CP-Ti*, IOP Conf Ser: Mater Sci Eng 194 (2017) 012012.
- [275] Z. Yang, U. Welzel, *Microstructure-microhardness relation of nanostructured Ni produced by high-pressure torsion*, Mater Lett 59(27) (2005) 3406-3409.
- [276] A. Bachmaier, A. Hohenwarter, R. Pippan, *New procedure to generate stable nanocrystallites by severe plastic deformation*, Scr Mater 61 (2009) 1016-1019.
- [277] T.S. Pinheiro, J. Gallego, C. Bolfarini, C.S. Kiminami, A.M. Jorge Jr, W.J. Botta, *Microstructural evolution of Ti-6Al-7Nb alloy during high pressure torsion*, Mater Res 15(5) (2012) 792-795.
- [278] Y.C. Wang, T.G. Langdon, *Influence of phase volume fractions on the processing of a Ti-6Al-4V alloy by high-pressure torsion*, Mater Sci Eng A 559 (2013) 861-867.
- [279] S. Faghihi, F. Azari, A.P. Zhilyaev, J.A. Szpunar, H. Vali, M. Tabrizian, *Cellular and molecular interactions between MC3T3-E1 pre-osteoblasts and nanostructured titanium produced by high-pressure torsion*, Biomaterials 28 (2007) 3887-3895.



- [280] A.V. Podolskiy, C. Mangler, E. Schafner, E.D. Tabachnikova, M.J. Zehetbauer, *Microstructure and mechanical properties of high purity nanostructured titanium processed by high pressure torsion at temperatures 300 and 77 K*, J Mater Sci 48 (2013) 4689-4697.
- [281] M. Kawasaki, R.B. Figueiredo, T.G. Langdon, *An investigation of hardness homogeneity throughout disks processed by high-pressure torsion*, Acta Mater 59 (2011) 308-316.
- [282] K.P. Sanosh, A. Balakrishnan, L. Francis, T.N. Kim, *Vickers and Knoop micro-hardness behavior of coarse and ultrafine-grained titanium*, J Mater Sci Technol 26(10) (2010) 904-907.
- [283] J.M. Calderon-Moreno, C. Vasilescu, S.I. Drob, S. Ivanescu, P. Osiceanu, P. Drob, M. Popa, S. Preda, E. Vasilescu, *Microstructural and mechanical properties, surface and electrochemical characterization of a new Ti-Zr-Nb alloy for implant applications*, J Alloys Compd 612 (2014) 398-410.
- [284] E. Kobayashi, T.J. Wang, H. Doi, T. Yoneyama, H. Hamanaka, *Mechanical properties and corrosion resistance of Ti-6Al-7Nb alloy dental castings*, Mater Med 9 (1998) 567-574.
- [285] M. Ruzickova, H. Hildebrand, S. Virtanen, *On the stability of passivity of Ti-Al alloys in acidic environment*, Z Phys Chem 219 (2005) 1447-1459.
- [286] S. Spriano, M. Bosetti, M. Bronzoni, E. Verne, G. Maina, V. Bergo, M. Cannas, *Surface properties and cell response of low metal ion release Ti-6Al-7Nb alloy after multi-step chemical and thermal treatments*, Biomaterials 26 (2005) 1219-1229.
- [287] M. Baučić, A. Čelebić, J. Stipetić, K. Mehulić, D. Božić, *In vitro release of metal ions from a gold-platinum alloy in saliva-simulated conditions*, Collegium Antropologicum 27(2) (2003) 91-98.
- [288] A.J. Ortiz, E. Fernandez, A. Vicente, J.L. Calvo, C. Ortiz, *Metallic ions released from stainless steel, nickel-free, and titanium orthodontic alloys: toxicity and DNA damage*, Am J Orthod Dentofacial Orthop 140(3) (2011) 115-122.
- [289] S. Denizoglu, Z. Yesil Duymus, S. Akyalcin, *Evaluation of ion release from two base-metal alloys at various pH levels*, J Int Med Res 32 (2004) 33-38.
- [290] I.V. Branzoi, M. Iordoc, M.M. Codescu, *Corrosion behavior of CoCrMo and CoCrTi alloys in simulated body fluids*, UPB Sci Bull B 69(4) (2007) 11-18.
- [291] C. Yfantis, D. Yfantis, J. Anastassopoulou, T. Theophanides, *Analytical and electrochemical evaluation of the in vitro corrosion behavior of nickel-chrome and cobalt-chrome casting alloys for metal-ceramic restorations*, Eur J Prosthodont Res Dent 15(1) (2007) 33-40.
- [292] Z. Doni, A.C. Alves, F. Toptan, J.R. Gomes, M. Buciumeanu, L. Palaghian, F.S. Silva, *Dry sliding and tribocorrosion behaviour of hot pressed CoCrMo biomedical alloy as compared with the cast CoCrMo and Ti6Al4V alloys*, Mater Des 52 (2013) 47-57.
- [293] T. Puškar, D. Jevremović, D. Eggbeer, A. Lapčević, B. Trifković, D. Vukelić, R.J. Williams, *Determination of corrosion characteristics of dental alloy by inductively coupled plasma mass spectrometry*, J Prod Eng 16 (2012) 77-80.
- [294] K. Beer-Lech, B. Surowska, *Research on resistance to corrosive wear of dental CoCrMo alloy containing post-production scrap*, Eksploat Niezawodn 17(1) (2015) 90-94.



- [295] I. Peter, M. Rosso, A. Toppi, I. Dan, B. Ghiban, *Investigation on cobalt based alloy modified by titanium for dental applications*, Arch Mater Sci Eng 61(2) (2013) 62-68.
- [296] K.A. Beck, D.M. Sarantopoulos, I. Kawashima, D.W. Berzins, *Elemental release from CoCr and NiCr alloys containing palladium*, J Prosthodont 21(2) (2012) 88-93.
- [297] ISO 22674: Dentistry – Metallic materials for fixed and removable restorations and appliances, International Organisation for Standardisation, Geneva, 2006.
- [298] J. Stipetić, A. Čelebić, I. Baučić, N. Rinčić, A. Ćatić, M. Baučić, *The release of nickel ions from three different dental casting alloys*, Acta Stomat Croat 36(4) (2002) 389-395.
- [299] N. Rinčić, A. Čelebić, I. Baučić, J. Stipetić, E. Prohić, S. Miko, *The release of ions from the base Co-Cr-Mo casting alloy in vitro into the phosphate buffer at pH 6.0*, Acta Stomat Croat 37(1) (2003) 13-16.
- [300] L.S. Morais, G.G. Serra, E.F.A. Palermo, L.R. Andrade, C.A. Muller, M.A. Meyers, C.N. Elias, *Systemic levels of metallic ions released from orthodontic mini-implants*, Am J Orthod Dentofacial Orthop 135(4) (2009) 522-529.
- [301] Y. Okazaki, *Effects of cold drawing and annealing on mechanical properties and microstructure of Co-Cr-Mo-Ni-Fe alloys for surgical implants*, Mater Trans 49 (2008) 1656-1660.
- [302] J.C.M. Souza, S.L. Barbosa, E. Ariza, J.-P. Celis, L.A. Rocha, *Simultaneous degradation by corrosion and wear of titanium in artificial saliva containing fluorides*, Wear 292-293 (2012) 82-88.
- [303] M.P. Licausi, A. Igual Munoz, V. Amigo Borrás, *Influence of the fabrication process and fluoride content on the tribocorrosion behaviour of Ti6Al4V biomedical alloy in artificial saliva*, J Mech Behav Biomed Mater 20 (2013) 137-148.
- [304] M.P. Saporeti, E.T. Mazzeiro, W.F. Sales, *In vitro corrosion of metallic orthodontic brackets: Influence of artificial saliva with and without fluorides*, Dental Press J Orthod 17(6) (2012) e1-7.
- [305] L. Yang, S. Hao, Q. Zhu, D. Xia, J. Wang, J. Zhang, J. Ma, W. Wei, *Degradation behavior of Ti-6Al-4V alloys for dental applications in acidic artificial saliva containing fluoride ion*, J Wuhan Univ Technol Mater Sci Ed 32(4) (2017) 926-934.
- [306] A.J. Bred, Titanium. In: W.J. James, M.E. Straumanis, editors. Encyclopedia of electrochemistry of the elements. New York: Marcel Dekker; 1976. p. 305-395.
- [307] R. Bhola, S.M. Bhola, B. Mishra, D.L. Olson, *The role of fluoride ions on the corrosion of Ti36 in normal saline solution as applied to dental implants*, Int J Electrochem Sci 5 (2010) 917-930.
- [308] K. Kaneko, K. Yokoyama, K. Moriyama, K. Asaoka, J. Sakai, M. Nahumo, *Delayed fracture of beta titanium orthodontic wire in fluoride aqueous solutions*, Biomaterials 24 (2003) 2113-2120.
- [309] G. Boere, *Influence of fluoride on titanium acidic environment measured by polarization resistance technique*, J Appl Biomater 6 (1995) 283-288.



- [310] Y. Fovet, J.Y. Gal, F. Toumelin-Chemla, *Influence of pH and fluoride concentration on titanium passivating layer: stability of titanium dioxide*, *Talanta* 53 (2001) 1053-1063.
- [311] A.M. Al-Mayouf, A.A. Al-Swayih, N.A. Al-Mobarak, A.S. Al-Jabab, *Corrosion behavior of a new titanium alloy for dental applications in fluoride media*, *Mater Chem Phys* 86 (2004) 320-329.
- [312] R. Strietzel, A.Hosch, H. Kalbfleisch, D. Buch, *In vitro corrosion of titanium*, *Biomaterials* 19 (1998) 1495-1499.
- [313] G.M.P. Juanito, C.S. Morsch, C.A. Benfatti, M.C. Fredel, R.S. Magini, J.C.M. Souza, *Effect of fluoride and bleaching agents on the degradation of titanium: Literature review*, *Dentistry* 5(1) (2015) 273, doi:10.4172/2161-1122.1000273.
- [314] S.Takemoto, M. Hattori, M. Yoshinari, E. Kawada, Y. Oda, *Corrosion behavior and surface characterization of titanium in solution containing fluoride and albumin*, *Biomaterials* 26 (2005) 829-837.
- [315] M.B. Toniollo, R. Tioosi, A.P. Macedo, R.C.S. Rodrigues, R.F. Ribeiro, M.G.C. de Mattos, *Effect of fluoride-containing solutions on the surface of cast commercially pure titanium*, *Braz Dent J* 20(3) (2009) 201-204.
- [316] N. Schiff, B. Grosogeat, M. Lissac, F. Dalard, *Influence of fluoridated mouthwashes on corrosion resistance of orthodontics wires*, *Biomaterials* 25 (2004) 4535-4542.
- [317] N. Schiff, B. Grosogeat, M. Lissac, F. Dalard, *Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys*, *Biomaterials* 23 (2002) 1995-2002.
- [318] S.M. Danaei, A. Safavi, S.M.M. Roeinpeikar, M. Oshagh, S. Iranpour, M. Omidekhoda, *Ion release from orthodontic brackets in 3 mouthwashes: An in-vitro study*, *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 139(6) (2011) 730-734.
- [319] C.M.A. Brett, I. Muresan, *The influence of artificial body fluids on metallic corrosion*, *Key Eng Mater* 230-232 (2002) 459-462.
- [320] A. Robin, O.A.S. Carvalho, S.G. Schneider, S. Schneider, *Corrosion behavior of Ti-xNb-13Zr alloys in Ringer's solution*, *Werkst Korros* 59 (2008) 929-933.
- [321] T.C. Niemeyer, C.R. Grandini, L.M.C. Pinto, A.C.D. Angelo, S.G. Schneider, *Corrosion behavior of Ti-13Nb-13Zr alloy used as a biomaterial*, *J Alloys Compd* 476 (2009) 172-175.
- [322] Z. Cai, T. Shafer, I. Watanabe, M.E. Nunn, T. Okabe, *Electrochemical characterization of cast titanium alloys*, *Biomaterials* 24 (2003) 213-218.
- [323] N.T.C. Oliveira, E.A. Ferreira, L.T. Duarte, S.R. Biaggio, R.C. Rocha-Filho, N. Bocchi, *Corrosion resistance of anodic oxides on the Ti-50Zr and Ti-13Nb-13Zr alloys*, *Electrochim Acta* 51 (2006) 2068-2075.
- [324] D.G. Kolman, J.R. Scully, *Electrochemistry and passivity of Ti-15V-3Cr-3Al-3Sn β -titanium alloy in ambient temperature aqueous chloride solution*, *J Electrochem Soc* 141(10) (1994) 2633-2641.
- [325] S.Y. Yu, C.W. Brodrick, M.P. Ryan, J.R. Scully, *Effect of Nb and Zr alloying additions on the activation behavior of Ti in hydrochloric acid*, *J Electrochem Soc* 146(12) (1999) 4429-4438.



- [326] J. Pan, D. Thierry, C. Leygraf, *Electrochemical impedance spectroscopy study of the passive oxide film on titanium for implant application*, *Electrochimica Acta* 41 (1996) 1143-1153.
- [327] J. Pan, H. Liao, C. Leygraf, D. Thierry, J. Li, *Variation of oxide films on titanium induced by osteoblasts-like cell culture and the influence of an H₂O₂ pretreatment*, *J Biomed Mater Res* 40(2) (1998) 244-256.
- [328] S.L. Assis, I. Costa, *The effect of polarization on the electrochemical behavior of Ti-13Nb-13Zr alloy*, *Mater Res* 10(3) (2007) 293-296.
- [329] M.E.P. Souza, L. Lima, C.R.P. Lima, C.A.C. Zavaglia, C.M.A. Freire, *Effect of pH on the electrochemical behavior of titanium alloys for implant applications*, *J Mater Sci: Mater Med* 20 (2009) 549-552.
- [330] S.L. Assis, I. Costa, *Electrochemical evaluation of Ti-13Nb-13Zr, Ti-6Al-4V and Ti-6Al-7Nb alloys for biomedical application by long-term immersion tests*, *Mater Corros* 58 (2007) 329-333.
- [331] S.L. Assis, I. Costa, *The effect of hydrogen peroxide on the electrochemical behavior of Ti-13Nb-13Zr alloy in Hanks' solution*, *Mater Res* 9 (2006) 425-429.
- [332] W. Simka, M. Mosialek, G. Nawrat, P. Nowak, J. Zak, J. Szade, A. Winiarski, A. Maciej, L. Szyk-Warszynska, *Electrochemical polishing of Ti-13Nb-13Zr alloy*, *Surf Coat Technol* 213 (2012) 239-246.
- [333] C. Treves, M. Martinesi, M. Stio, A. Gutierrez, J.A. Jimenez, M.F. Lopez, *In vitro biocompatibility evaluation of surface-modified titanium alloys*, *J Biomed Mater Res* 92A (2010) 1623-1634.
- [334] C. Morant, M.F. Lopez, A. Gutierrez, J.A. Jimenez, *AFM and SEM characterization of non-toxic vanadium-free Ti alloys used as biomaterials*, *Appl Surf Sci* 220 (2003) 79-87.
- [335] J. Li, S.J. Li, Y.L. Hao, H.H. Huang, Y. Bai, Y.Q. Hao, Z. Guo, J.Q. Xue, R. Yang, *Electrochemical and surface analyses of nanostructured Ti-24Nb-4Zr-8Sn alloys in simulated body solution*, *Acta Biomater* 10 (2014) 2866-2875.
- [336] H.S. Kim, M.B. Bush, *The effects of grain size and porosity on the elastic modulus of nanocrystalline materials*, *Nanostruct Mater* 11 (1999) 361-367.
- [337] K.T. Liu, J.G. Duh, *Grain size effects on the corrosion behavior of Ni_{50.5}Ti_{49.5} and Ni_{45.6}Ti_{49.3}Al_{5.1} films*, *J Electroanal Chem* 618 (2008) 45-52.
- [338] M. Hoseini, A. Shahryari, S. Omanovic, J.A. Szpunar, *Comparative effect of grain size and texture on the corrosion behavior of commercially pure titanium processed by equal channel angular pressing*, *Corr Sci* 51 (2009) 3064-3067.
- [339] S. Abey, M.T. Mathew, D.J. Lee, K.L. Knoernschild, M.A. Wimmer, C. Sukotjo, *Electrochemical behavior of titanium in artificial saliva: influence of pH*, *J Oral Implantol* 40 (2014) 3-10.
- [340] V.A.R. Barao, M.T. Mathew, W.G. Assuncao, J.C-C. Yuan, M.A. Wimmer, C. Sukotjo, *Stability of cp-Ti and Ti-6Al-4V alloy for dental implants as a function of saliva pH – an electrochemical study*, *Clin Oral Impl Res* 23 (2012) 1055-1062.
- [341] M. Koike, P.E. Lockwood, J.C. Wataha, T. Okabe, *Initial cytotoxicity of novel titanium alloys*, *J Biomed Mater Res B: Appl Biomater* 83(2) (2007) 327-331.



- [342] K.W. Frisken, G.W. Dandie, S. Lugowski, G. Jordan, *A study of titanium release into body organs following the insertion of single threaded screw implants into the mandibles of sheep*, Aust Dent J 47(3) (2002) 214-217.
- [343] S.L. Assis, S.O. Rogero, R.A. Antunes, A.F. Padilha, I. Costa, *A comparative study of the in vitro corrosion behavior and cytotoxicity of a superferritic stainless steel, a Ti-13Nb-13Zr alloy, and an austenitic stainless steel in Hank's solution*, J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater 73B (2005) 109-116.
- [344] G. Sjogren, G. Sletten, J.E. Dahl, *Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by Millipore filter, agar overlay, and MTT tests*, J Prosthet Dent 84 (2000) 229-236.
- [345] Y. Ikarashi, K. Toyoda, E. Kobayashi, H. Doi, T. Yoneyama, H. Hamanaka, T. Tsuchiya, *Improved biocompatibility of Titanium-Zirconium (Ti-Zr) alloy: Tissue reaction and sensitization to Ti-Zr alloy compared with pure Ti and Zr in rat implantation study*, Mater Trans 46(10) (2005) 2260-2267.
- [346] A. Čairović, I. Đorđević, M. Bulatović, M. Mojić, M. Momčilović, S. Stošić-Grujičić, V. Maksimović, D. Maksimović-Ivanić, S. Mijatović, D. Stamenković, *In vitro assessment of Ni-Cr and Co-Cr dental alloys upon recasting: Cellular compatibility*, Dig J Nanomater Bios 8 (2013) 877-886.
- [347] C. Fleury, A. Petit, F. Mwale, J. Antoniou, D. J. Zukor, M. Tabrizian, O. L. Huk, *Effect of cobalt and chromium ions on human MG-63 osteoblasts in vitro: Morphology, cytotoxicity, and oxidative stress*, Biomaterials 27 (2006) 3351-3360.
- [348] X.Z. Xin, N. Xiang, J. Chen, B. Wei, *In vitro biocompatibility of Co-Cr alloy fabricated by selective laser melting or traditional casting techniques*, Mater Lett 88 (2012) 101-103.
- [349] Y.S. Hedberg, B. Qian, S. Virtanen, I.O. Wallinder, *In vitro biocompatibility of CoCrMo dental alloys fabricated by selective laser melting*, Dent Mater 30 (2014) 525-534.
- [350] R. Martinez, J.C. Escobedo, D.A. Cortes, G.G. Alves, A.B.R. Linhares, J.M. Granjeiro, M. Prado, J.C. Ortiz, J.M. Almanza, E.M. Muzquiz-Ramos, *In vitro bioactivity and biocompatibility of a Co-Cr-Mo alloy after heat treatment in contact with different bioactive systems*, Ceramics International 39 (2013) 2003-2011.
- [351] A.K. Shukla, R. Balasubramaniam, *Effect of surface treatment on electrochemical behavior of CPTi, Ti-6Al-4V I Ti-13Nb-13Zr alloys in simulated human body fluid*, Corr Sci 48 (2006) 1696-1720.
- [352] A. Bigi, N. Nicoli-Aldini, B. Bracci, B. Zavan, E. Boanini, F. Sbaiz, S. Panzavolta, G. Zorzato, R. Giardino, A. Facchini, G. Abatangelo, R. Cortivo, *In vitro culture of mesenchymal cells onto nanocrystalline hydroxyapatite-coated Ti13Nb13Zr alloy*, J Biomed Mater Res A 82 (2007) 213-221.
- [353] Y. Estrin, C. Kasper, S. Diederichs, R. Lapovok, *Accelerated growth of preosteoblastic cells on ultrafine grained titanium*, J Biomed Mater Res A 90 (2009) 1239-1242.
- [354] Y. Estrin, E.P. Ivanova, A. Michalska, V.K. Truong, R. Lapovok, R. Boyd, *Accelerated stem cell attachment to ultrafine grained titanium*, Acta Biomater 7 (2011) 900-906.



- [355] T.N. Kim, A. Balakrishnan, B.C. Lee, W.S. Kim, B. Dvorankova, K. Smetana, J.K. Park, B.B. Panigrahi, *In vitro fibroblast response to ultrafine grained titanium produced by a severe plastic deformation process*, J Mater Sci Mater Med 19 (2008) 553-557.
- [356] C.H. Park, C.S. Lee, Y.J. Kim, J.H. Jang, J.Y. Suh, J.W. Park, *Improved pre-osteoblast response and mechanical compatibility of ultrafine-grained Ti-13Nb-13Zr alloy*, Clin Oral Implants Res 22 (2011) 735-742.

BIOGRAFIJA AUTORA

Ivana Damnjanović (devojačko Dimić), dipl. inž. tehnologije, je rođena 08.06.1985. godine u Prištini. Tehnološko – metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu je upisala školske 2004/2005. godine na studijskom programu Hemijska tehnologija; studijsko područje Farmaceutsko inženjerstvo i diplomirala 2010. godine sa prosečnom ocenom 9,05. Primila je priznanje Srpskog hemijskog društva za ukupan izuzetan uspeh u toku studiranja.

Doktorske studije na Tehnološko – metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu je upisala školske 2010/2011. godine na studijskom programu Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija. Položila je sve programom predviđene ispite sa prosečnom ocenom 9,83.

Sa ciljem kontinuiranog usavršavanja i praćenja trendova u farmaceutskoj industriji, Ivana Damnjanović je upisala specijalističke akademske studije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu školske 2016/17. godine na studijskom program Industrijska farmacija. Položila je sve programom predviđene ispite sa prosečnom ocenom 10,0 i odbranila završni rad čime je stekla zvanje specijalista farmacije.

Od januara 2011. do juna 2015. godine bila je zaposlena u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta i to u istraživačkom zvanju istraživač pripravnik od januara 2011. do aprila 2013. godine i u istraživačkom zvanju istraživač saradnik od aprila 2013. do juna 2015. godine. Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, na sednici održanoj 03.03.2016. godine, Ivana Damnjanović je reizabrana u istraživačko zvanje istraživač saradnik.

Od juna 2015. godine je zaposlena na poziciji tehnolog proizvodnje u farmaceutskoj kompaniji Adoc d.o.o. Beograd.

Ivana Damnjanović je učestvovala u realizaciji naučno-istraživačkog projekta iz oblasti integralnih i interdisciplinarnih istraživanja finansiranog od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije pod nazivom „Razvoj novih inkapsulacionih i enzimskih tehnologija za proizvodnju biokatalizatora i biološki aktivnih komponenata hrane u cilju poboljšanja njene konkurentnosti, kvaliteta i bezbednosti“ (evidencioni broj projekta III 46010) u periodu od januara 2011. godine do juna. 2015. godine. Kao član projektnog tima učestvovala je u

realizaciji inovacionog projekta "Kapsule zdravlja u ledenom čaju" od 01.06.2014. godine do 31.05.2015. godine.

U toku svog dosadašnjeg naučno-istraživačkog rada je kao autor ili koautor objavila 2 rada u vrhunskim časopisima međunarodnog značaja, 9 radova u časopisima međunarodnog značaja i časopisima međunarodnog značaja verifikovanih posebnom odlukom, 14 radova saopštenih na skupovima međunarodnog i nacionalnog značaja štampanih u celini ili u izvodu i 6 radova u vodećim časopisima nacionalnog značaja. Recenzent je radova predloženih za štampu u časopisima međunarodnog značaja.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Ivana Damnjanović

Broj indeksa: 2036/2010

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

BIOKOMPATIBILNOST I PONAŠANJE U KOROZIONOJ SREDINI MATERIJALA NA BAZI TITANA ZA IZRADU DENTALNIH IMPLANATA

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, _____

Potpis autora

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije
doktorskog rada**

Ime i prezime autora: Ivana Damnjanović

Broj indeksa: 2036/2010

Studijski program: Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija

Naslov rada: Biokompatibilnost i ponašanje u korozionoj sredini materijala na bazi titana za izradu dentalnih implanata

Mentori: dr Branko Bugarski i dr Marko Rakin

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stanicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, _____

Potpis autora

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku "Svetozar Marković" da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

BIOKOMPATIBILNOST I PONAŠANJE U KOROZIONOJ SREDINI MATERIJALA NA BAZI TITANA ZA IZRADU DENTALNIH IMPLANATA

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerade (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

U Beogradu, _____

Potpis autora
