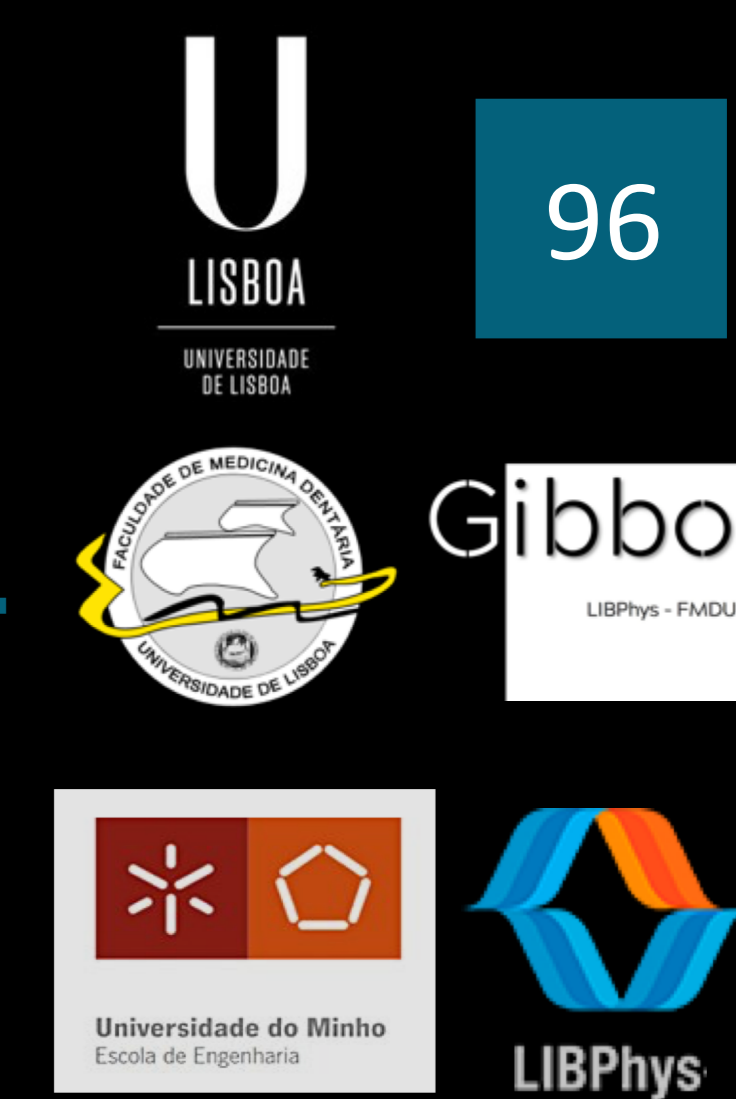




Comportamento celular em Zircónia padronizada por fresa Vs laser – estudo *in vitro*

Cruz M.¹, Ferreira B.¹, Marques J.¹, Mata A.^{1,2}, Caramês J.³, Silva F.⁴

¹ Oral Biology and Biochemistry Research Group (GIBBO-UICOB), FMD Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; ² LIBPhys, Faculty of Dental Medicine, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; ³ Bone Physiology Research Group, UICOB, Faculty of Dental Medicine, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; ⁴ Center for Micromechanical Systems (CMEMS), Dept. of Mechanical Engineering, University of Minho, Guimarães, Portugal



INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Os implantes de Zircónia constituem, pelas suas excelentes propriedades estéticas, menor adesão bacteriana e capacidade de osteointegração semelhante ao Titânio, uma promissora alternativa de implantes dentários.^{1,2,3}

A relação entre diferentes superfícies implantares de Zircónia e o comportamento celular ainda não se encontra totalmente esclarecida^{4,5}, no entanto já se encontra descrita na literatura que a adesão, proliferação e diferenciação celular poderá variar em função do tipo de topografia da superfície do implante, da técnica utilizada e da linhagem celular.^{5,6}

A topografia das superfícies implantares pode ser padronizada por diversas técnicas, nomeadamente a técnica convencional de fresagem e a de laser. Enquanto na fresagem a alteração da superfície é efetuada por uma ferramenta de corte que procede ao arranque de aparas, na técnica de laser a alteração da topografia é alcançada mediante a amplificação de luz proveniente da emissão de radiação.^{7,8}

O objetivo deste estudo foi a comparação do comportamento celular de osteoblastos e fibroblastos gengivais humanos, em superfícies texturizadas com sulcos por maquinagem convencional e por laser.

MATERIAIS E MÉTODOS

45 discos de Zircónia foram distribuídos aleatoriamente por três grupos: padronizado por fresagem (F), padronizado por laser Nd:YAG (L) e grupo controlo. Os grupos padronizados apresentavam combinações de sulcos com largura e espaçamento semelhantes (10- 150µm). Todas as amostras foram tratadas com jateamento e ataque ácido, conferindo-lhes a mesma rugosidade. Os osteoblastos humanos (hFOB 1.19) e os fibroblastos gengivais humanos (HGF) foram cultivados nas superfícies durante 14 dias, tendo a viabilidade celular sido avaliada pela redução da rezasurina.⁹ A adesão celular foi avaliada por microscopia eletrónica de varrimento (SEM). Nos hFOB 1.19 foi avaliada a produção do colagénio tipo I, osteopontina (OP) e interleucina 1beta (IL-1b). Nos HGF foi determinada a produção de colagénio tipo I e Interleucina 8 (IL-8). As medições foram realizadas em tempos pré-determinados por ensaio enzimático de imunoabsorção – ELISA. A atividade da fosfatase alcalina (ALP) foi avaliada em hFOB por técnica enzimática. Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão. Foram realizadas comparações entre grupos através do teste ANOVA (post-hoc de Tukey) com um software de estatística e a significância definida de p<0,05.

DISCUSSÃO

- As superfícies de Zircónia padronizadas por maquinagem convencional apresentaram resultados de viabilidade e diferenciação celular dos osteoblastos superiores aos das superfícies texturizadas por laser Nd:YAG.
- O comportamento celular dos fibroblastos não parece ser influenciado pela técnica de padronização das superfícies.
- As técnicas de padronização em estudo (fresagem e laser) não parecem melhorar o comportamento celular dos osteoblastos e fibroblastos, quando comparadas com superfícies com igual rugosidade não padronizadas (grupo controlo).
- Mais estudos para avaliação do comportamento celular das células que mimetizam os tecidos duros e moles são necessários.

CONCLUSÕES

A resposta biológica dos osteoblastos parece ser beneficiada pela texturização com recurso a fresagem convencional quando comparada com a texturização por laser. No entanto, os tipos de padronização em estudo não parecem influenciar a resposta celular dos fibroblastos.

ACKNOWLEDGMENT

Este trabalho foi apoiado pela FCT (Fundação para a Ciência e Tecnologia - Portugal) sob o projeto FunImp 01-0145-FEDER-030498. Co-financiado por:

REFERÊNCIAS

- Gahleitner, M., Gudehus, T., Eichhorn, S., Steinhilber, E., Kniha, H., & Erhardt, W. (2007). Biomechanical and histomorphometric comparison between zirconia implants with varying surface textures and a titanium implant in the maxilla of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res*, 18(5), 662-668. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01401.x;
- Hempel, U., Hefti, T., Kalbacova, M., Wolf-Brandstetter, C., Dieter, P., & Schlotig, F. (2010). Response of osteoblast-like SAOS-2 cells to zirconia ceramics with different surface topographies. *Clin Oral Implants Res*, 21(2), 174-181. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01797.x;
- Caravaca, C., Shi, L., Baluy, S., Rivory, P., Laurenceau, E., Chevot, Y., Hartmann, D., Gremillard, L., Chevalier, J. (2016). Direct silanization of zirconia for increased bone integration: a literature review and interpretation. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 33(6), e145-152. doi: 10.11607/prd.1629;
- Taniguchi, Y., Kakura, K., Yamamoto, K., Kido, H., & Yamazaki, J. (2016). Accelerated Osteogenic Differentiation and Bone Formation on Zirconia with Surface Grooves Created with Fiber Laser Irradiation. *Clin Implant Dent Relat Res*, 18(5), 883-894. doi: 10.1111/cid.12366;
- Rompen, E., Domken, O., Degdi, M., Pontes, A. E., & Piattelli, A. (2008). The effect of material characteristics, of surface topography and of implant components and connections on soft tissue integration: a literature review. *Clin Oral Implants Res*, 19 Suppl 2, S5-S7. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01367.x;
- Wannenberg, A., & Albrektsson, T. (2009). Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*, 20 Suppl 4, 172-184. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01775.x;
- Dumas, V., Rattner, A., Vico, L., Aucouard, E., Dumas, J. C., Naisson, P., & Bertrand, P. (2012). Multiscale grooved titanium processed with femtosecond laser influences mesenchymal stem cell morphology, adhesion, and matrix organization. *J Biomed Mater Res A*, 100(11), 3108-3116. doi: 10.1002/jbm.a.34239;
- Gabriela M. Penarieta-Juanito, Mariana Brito da Cruz, Joana Faria Marques, Mafalda Costa, Georgina Miranda JM, Ricardo S. Magini, Antonio Mata JCMS, João Caramês, Silva FS. A novel graded zirconia implant material embedding bioactive ceramics: physicochemical assessment and human osteoblast behavior. *Materialia*. 2018.

RESULTADOS

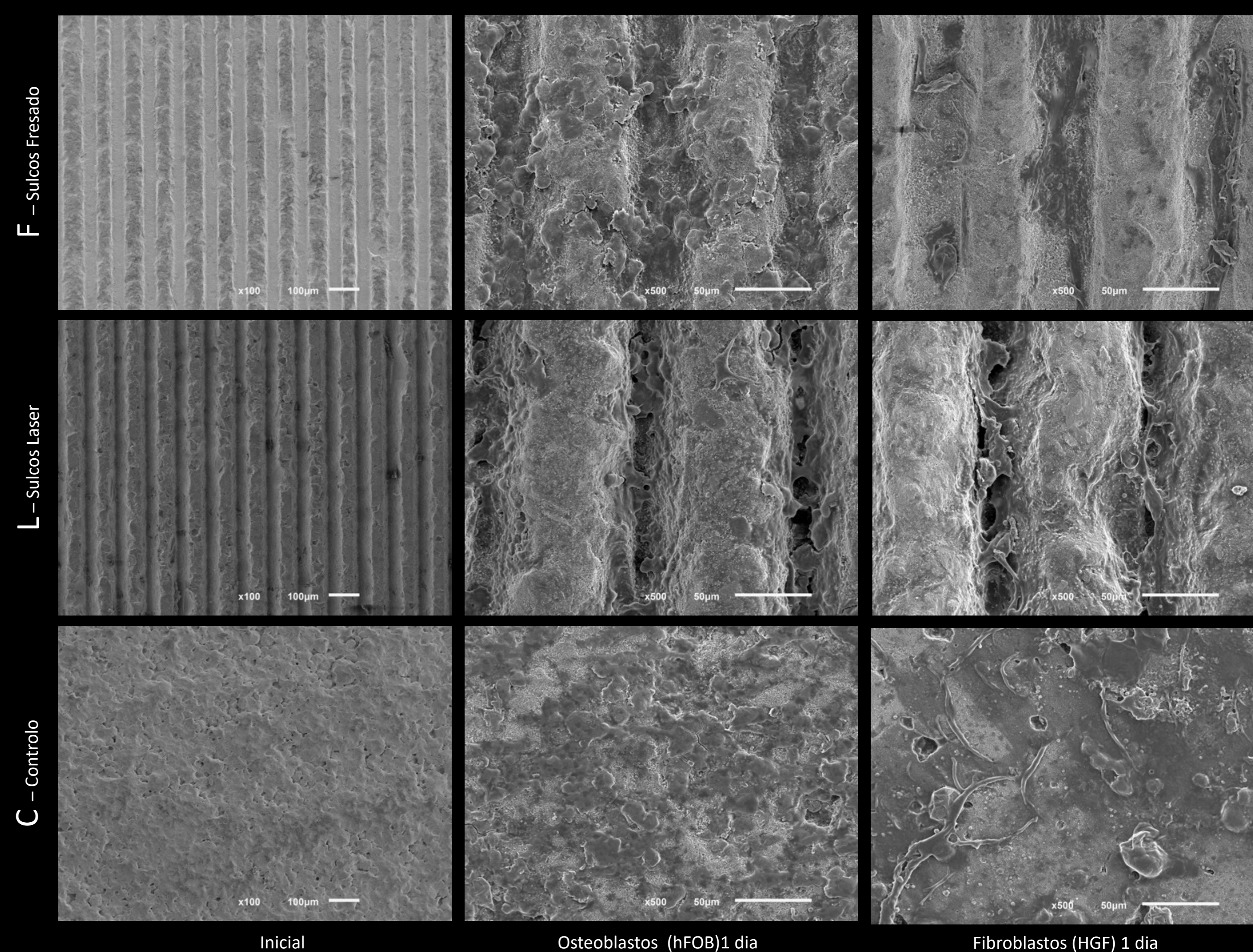


Figura 1 – Imagens de SEM exemplificativas das amostras padronizadas por fresa (F) e por laser (L), com profundidade média dos sulcos de 46,60±3,15µm, e superfície sem padronização utilizada como controlo (C), no momento inicial (ampliação 100x) e após 1 dia de cultura celular de osteoblastos (hFOB) e fibroblastos (HGF) (ampliação 500x).

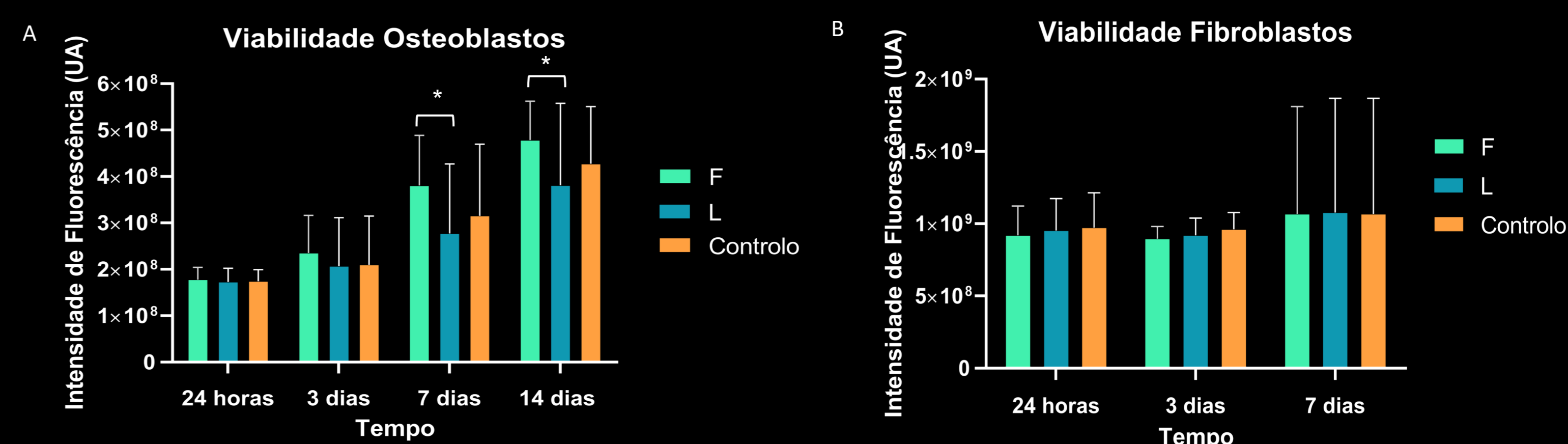


Figura 2 – Gráficos de barras representando a viabilidade dos osteoblastos (A) e dos fibroblastos (B) expressa em unidade arbitrária (UA) de valores de intensidade de fluorescência (AU) como média e desvio padrão. As barras de erro representam o desvio padrão e um one-way ANOVA com teste post-hoc de Tukey foi utilizado para a comparação entre grupos de estudo. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

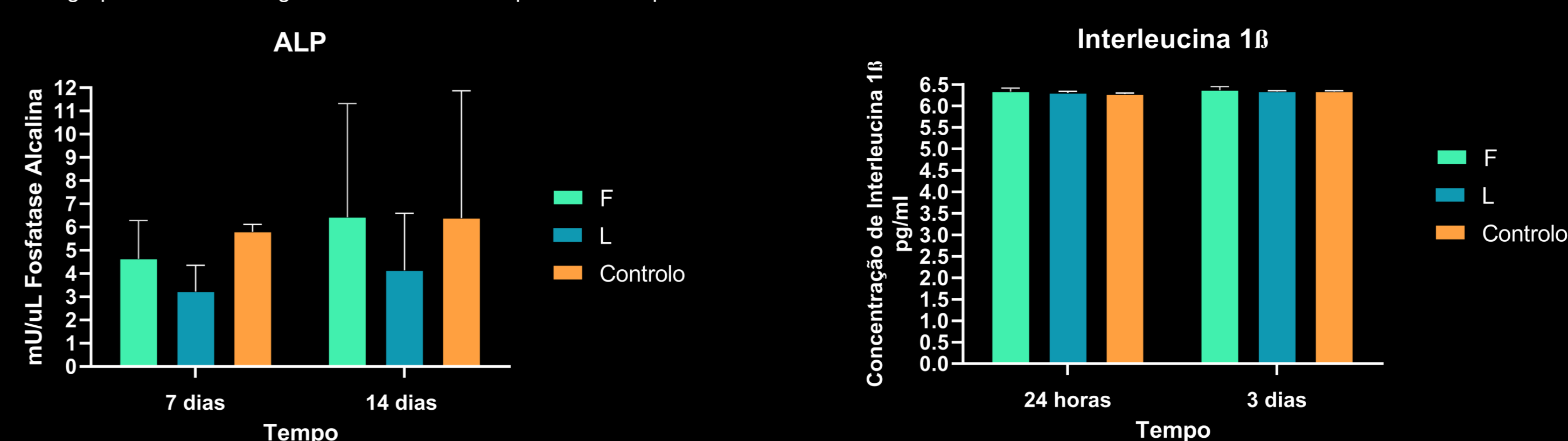


Figura 3 – Média e desvio padrão da atividade da fosfatase alcalina em mU/µl na cultura de osteoblastos aos 7 e 14 dias. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

Figura 4 - Média e desvio padrão da concentração de interleucina 1b (mU/µl) na cultura de osteoblastos aos 1 dia e 3 dias. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

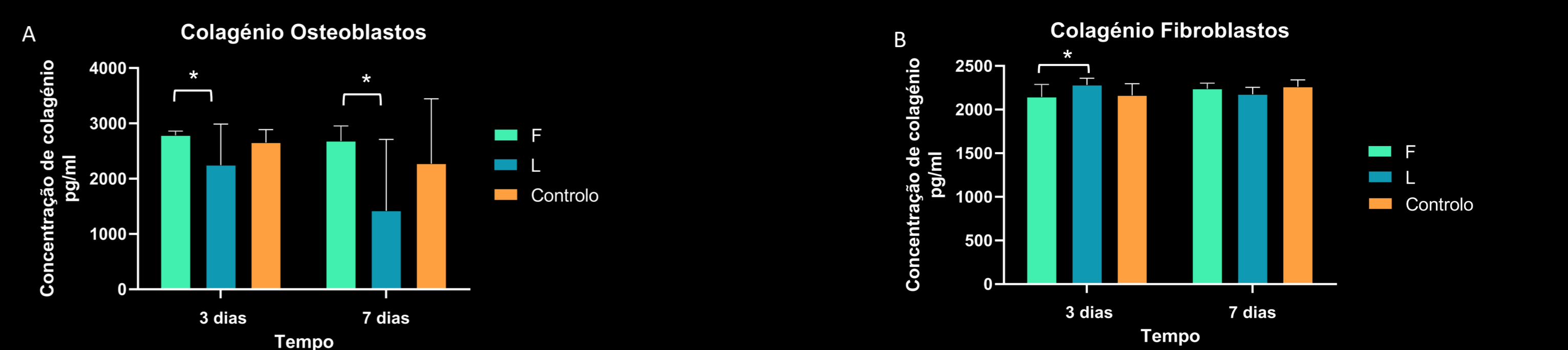


Figura 5 – Média e desvio padrão da concentração de colagénio em pg/ml na cultura de osteoblastos (A) e fibroblastos (B) aos 3 e 7 dias. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

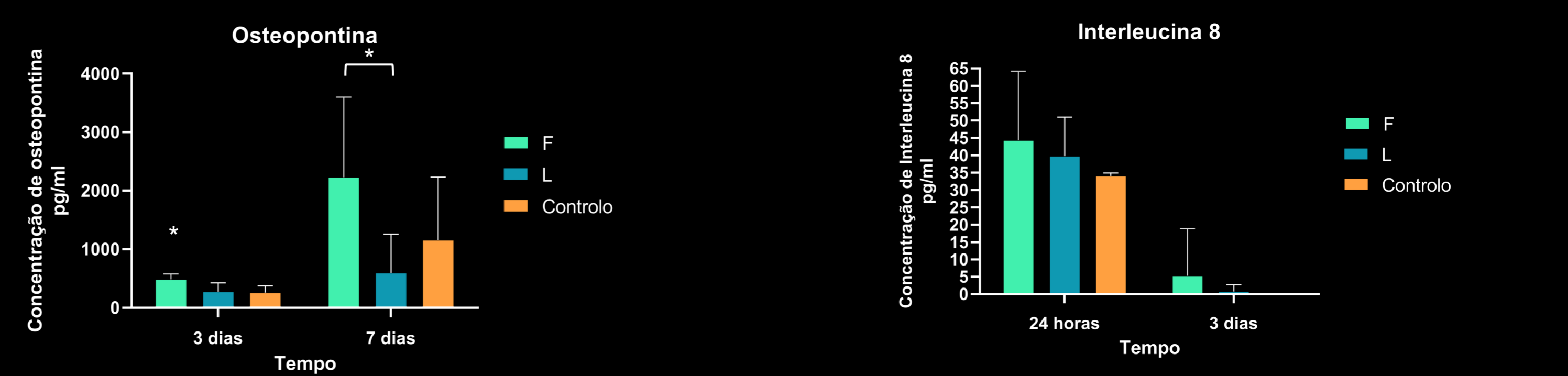


Figura 6 – Média e desvio padrão da concentração de osteopontina em pg/ml na cultura de osteoblastos aos 3 e 7 dias. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

Figura 7 – Média e desvio padrão da concentração de interleucina 8 em pg/ml na cultura de fibroblastos em aos 1 e 3 dias. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

