



afsm@campus.ulp

Comportamento de fibroblastos em superfícies de Zircónia texturizadas com laser Nd:YAG

Marques A¹, da Cruz M¹, Marques J¹, Madeira S², Carvalho O², Mata A³

¹ GIBBO-UICOB, Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa;

² CMEMS, Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade do Minho;

³ GIBBO-LIBPhys – Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa; Cochrane Portugal – Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa



INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Os tecidos moles em torno de um implante desempenham o importante papel de isolar a interface entre o implante e o osso da cavidade oral. Como tal, novos materiais e técnicas de tratamento de superfície têm vindo a ser investigados de forma a melhorar o selamento do tecido conjuntivo.¹⁻⁴

A Zircónia como material constitui uma alternativa promissora para o fabrico de implantes. Isto deve-se às suas favoráveis características físicas e químicas, mecânicas, estéticas (cor branca) e de biocompatibilidade (baixa adesão bacteriana e boa integração com os tecidos moles)^{1,5-8}, o que a tornam uma alternativa a considerar face ao Titânio.

O tratamento das superfícies implantares tem efeitos favoráveis na integração nos tecidos,^{1,4,9} como tal têm vindo a surgir diversas técnicas com o objetivo de melhorar a resposta dos tecidos peri-implantares.

Uma delas, que tem vindo a ser aplicada com sucesso na Zircónia, é o laser.¹ Esta técnica apresenta como vantagens na texturização deste material o facto de reduzir o dano mecânico provocado pelos tratamentos de superfície, criando uma rugosidade à micro e nanoescala sem contaminação, de forma rápida, com pouco desperdício, facilmente replicável e o facto de possuir uma elevada versatilidade.^{5,10,11}

Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento celular de fibroblastos gengivais humanos em superfícies de Zircónia texturizadas por laser Nd:YAG e comparar com superfícies convencionais com jateamento e ataque ácido.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram preparados discos de Zircónia e distribuídos aleatoriamente de acordo com os grupos em estudo (N=12): sem tratamento (Grupo A); jateamento e ataque ácido (Grupo B); texturização por laser Nd:YAG num padrão em grelha com espaçamento de 10 µm e 10 passagens (Grupo C); texturização por laser Nd:YAG num padrão em grelha com espaçamento de 20 µm e 1 passagem (Grupo D). Cultivaram-se fibroblastos gengivais humanos (HGF hTERT) nestas superfícies e a sua viabilidade celular foi avaliada aos 1, 3 e 7 dias usando um método à base de resazurina.¹²

A morfologia e adesão celulares foram observadas através de microscopia de fluorescência e de microscopia eletrónica de varrimento (FEG-SEM). A produção de interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1β (IL-1β) foram avaliadas aos 1 e 3 dias de cultura através de ensaios enzimáticos de imunoadsorção (ELISA).

Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão. Foram realizadas comparações entre grupos através do teste ANOVA unidirecional e de medidas repetidas (teste post-hoc de Tukey) usando um software de estatística e a significância foi definida como p<0,05.

DISCUSSÃO

- O tratamento por laser parece favorecer o comportamento celular de fibroblastos comparativamente ao tratamento por jateamento e ataque ácido. Esta vantagem é comprovada pelos resultados de viabilidade, que mostram uma vantagem significativamente significativa do Grupo C face ao Grupo B aos 1 e 7 dias (p<0,05, one-way ANOVA, post-hoc de Tukey) e vantagem da viabilidade*tempo do Grupo C face aos Grupos A e B (p<0,05, two-way ANOVA de medidas repetidas, post-hoc de Tukey); e pelos resultados de FEG-SEM e fluorescência, em que ambas as amostras de laser (C e D) parecem ter um maior número de células e de adesões superiores às de jateamento e ataque ácido (B).
- Não parece haver influência do tipo de tratamento de superfície utilizado na produção de interleucinas inflamatórias.
- Os bons resultados da texturização por laser no comportamento celular obtidos neste estudo têm vindo a ser verificado por outros autores, no entanto a evidência existente relativa a este tema ainda é limitada.¹
- Mais estudos devem ser realizados com o objetivo de validar esta técnica de texturização quanto às suas vantagens face a outras que são mais utilizadas nos implantes comercializados atualmente.

CONCLUSÕES

As superfícies implantares de Zircónia texturizadas por laser parecem beneficiar a resposta biológica de fibroblastos quando comparados com superfícies tratadas com jateamento e ataque ácido.

RESULTADOS

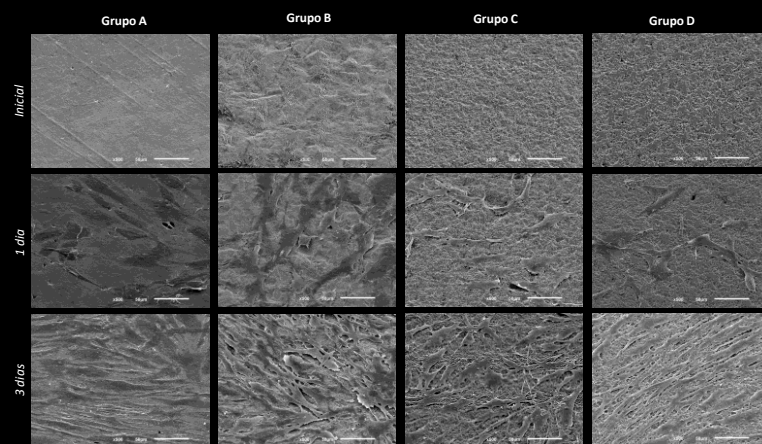


Figura 1 – Imagens de SEM das amostras sem tratamento (Grupo A), tratadas com jateamento e ataque ácido (Grupo B) e texturizadas por laser (Grupos C e D), no momento inicial e após 1 e 3 dias de cultura celular de fibroblastos (HGF) (ampliação 500x).

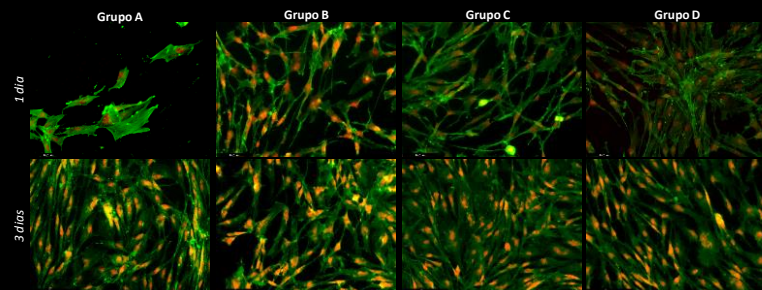


Figura 2 – Imagens de microscopia de fluorescência das amostras sem tratamento (Grupo A), tratadas com jateamento e ataque ácido (Grupo B) e texturizadas por laser (Grupos C e D), após 1 e 3 dias de cultura celular de fibroblastos (HGF). Verde: Actina F, corada com Faloidina; Vermelho: Núcleo, corado com Iodeto de Propídeo. (ampliação 400x).

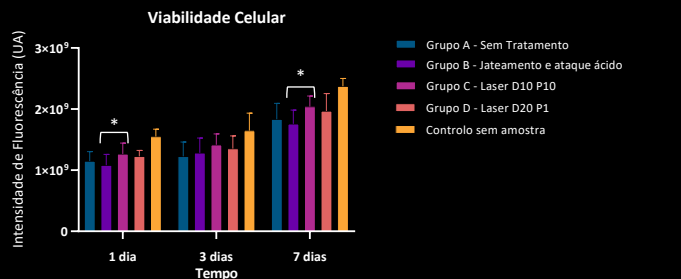


Figura 3 – Resultados de viabilidade celular como média +/- desvio padrão em unidades arbitrárias de intensidade de fluorescência (UA) dos Grupos A (Sem tratamento), B (Jateamento e ataque ácido), C (laser D10 P10), D (laser D20 P1) e controlo positivo (incluído meramente para validação das condições experimentais) aos 1, 3 e 7 dias de cultura (n=12). 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. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

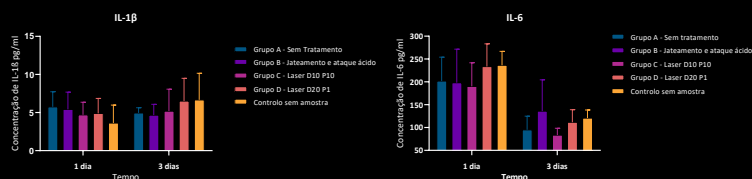


Figura 4 e 5 – Média obtida da concentração de Interleucina 6 e 1β, em pg/ml, na cultura de fibroblastos em todos os Grupos A (Sem tratamento), B (Jateamento e ataque ácido), C (laser D10 P10), D (laser D20 P1) e controlo positivo (incluído meramente para validação das condições experimentais) aos 1, 3 e 7 dias de cultura (n=12). 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. Significância estatística apresentada: *p<0,05.

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

- Covino E, Pesce P, Mura R, Marcano E, Canullo L. Influence of Modified Titanium Abutment Surface on Peri-implant Soft Tissue Behavior: A Systematic Review of In Vitro Studies. Int J Oral Maxillofac Implants. 2020 May;35(3):503-519. 2- de Souza VZ, Manfro R, Joly JC, Elias CN, Peruzzo DC, Napimoga MH, et al. Viability and collagen secretion by fibroblasts on titanium surfaces with different acid-etching protocols. Int J Implant Dent. 2019 Nov 21;5(1):41. 3- Altman B, Rabel K, Kohal RJ, Proch S, Tomakidi P, Adolphson E, et al. Cellular transcriptional response to zirconia-based implant materials. Dent Mater. 2017 Feb;33(2):241-255. 4 - Rompen E, Domken O, Degidi M, Farias Pontes AB, Plattelli A. 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. 2005 Oct;17 Suppl 2:55-67. 5 - Delgado-Ruiz RA, Calvo-Guirado JL, Aboud M, Ramirez-Fernandez MP, Mate-Sanchez E, Negri B, et al. Histologic and histomorphometric behavior of microgrooved zirconia dental implants with immediate loading. Clin Implant Dent Relat Res. 2014 Dec;16(6):856-72. 6 - Roehling S, Schlegel KA, Woelfler H, Gahlert M. Performance and outcome of zirconia dental implants in clinical studies: A meta-analysis. Clin Oral Implants Res. 2018 Oct;29 Suppl 16:135-153. 7 - Bollen C. Zirconia: The Material of Choice in Implant Dentistry? An Update. Journal of Dental Health, Oral Disorders & Therapy. J Dent Health Oral Disord Ther. Mar 2017;6(6):172-175. 8 - Rupp F, Liang L, Geis-Gerstorfer J, Scheideler L, Hüttig F. Surface characteristics of dental implants: A review. Dent Mater. 2018 Jan;34(1):40-57. 9 - Blázquez-Hinarejos M, Ayuso-Montero R, Jané-Salas E, López-López J. Influence of surface modified dental implant abutments on connective tissue attachment: A systematic review. Arch Oral Biol. 2017 Aug;80:185-192. 10 - Faria D, Madeira S, Buciumeanu M, Silva FS, Carvalho O. Novel laser textured surface designs for improved zirconia implants performance. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2020 Mar;108:110390. 11 - Delgado-Ruiz RA, Gomez Moreno C, Aguilar-Salvatierra A, Markovic A, Mate-Sanchez JE, Calvo-Guirado JL. Human fetal osteoblast behavior on zirconia dental implants and zirconia disks with microstructured surfaces. An experimental in vitro study. Clin Oral Implants Res. 2016 Nov;27(11):e144-e153. Gabriella M. Penarrieta-Juanito, Mariana Brito da Cruz, Joana Faria Marques, Mafalda Costa, Georgina Miranda JM, Ricardo S. Magini, Antonio Mata JCMS, João Caramés, Silva FS. A novel graded zirconia implant material embedding bioactive ceramics: physicochemical assessment and human osteoblast behavior. Materials. 2018.

