

Avaliação do comportamento celular em Superfícies Implantares com Funcionalização Biológica

Andréia Bandeira Luís^{1,2}, Joana Faria Marques^{1,2}, Óscar Carvalho³, Gonçalo Garret³, Mariana Brito da Cruz^{1,2}, António Mata^{1,2}

¹ Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Dentária (FMDUL), Lisboa, Portugal; Oral Biology and Biochemistry Research Group (GIBBO-UICOB) da FMDUL; ²CMEMS – Unidade de Investigação em Microsistemas Eletromecânicos da Universidade do Minho



andrea.luis@edu.ulisb
oappt



67



INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A utilização de implantes dentários é amplamente usada no quotidiano da medicina dentária. O sucesso destes procedimentos dependem de uma série de eventos biológicos condicionados por fatores dependentes do hospedeiro, do médico, dos materiais e da interação microorganismo-hospedeiro⁽¹⁾. Os implantes de titânio são considerados como o *Gold-Standard* pelas suas propriedades químicas, físicas e biológicas que favorecem o processo de osteointegração⁽²⁻⁵⁾. Contudo apresentam algumas limitações, a partir das quais surge a necessidade de obter novas estratégias para otimizar as propriedades da superfície dos implantes⁽⁵⁻⁸⁾.

Diversos estudos in-vitro mostram que as alterações de superfície do implante com materiais que melhoram a resposta celular - **bioativos**- durante o processo de osteointegração, constituem uma mais valia no processo de Osteointegração⁽⁹⁾. De entre as moléculas candidatas, a hidroxiapatite surge como sendo particularmente interessante pela sua capacidade de osteocondução⁽⁹⁾. No entanto as estratégias tradicionais de *coating* com este tipo de bioativos apresentam um risco de delaminação, sendo que raramente a sinterização medida por laser em superfícies texturizadas surgiu como uma possível alternativa^(10,11). No entanto, não estão atualmente definidos os parâmetros ótimos desta estratégia para a obtenção de um comportamento biológico otimizado dos tecidos duros e moles peri-implantares. Assim o objetivo do presente trabalho foi:

Avaliar e comparar o comportamento de Fibroblastos Gengivais Humanos (HGF) considerando a viabilidade e morfologia em superfícies de implantes com diferentes padrões de texturização a laser e funcionalização superficial de hidroxiapatite (HA).

MATERIAIS E MÉTODOS

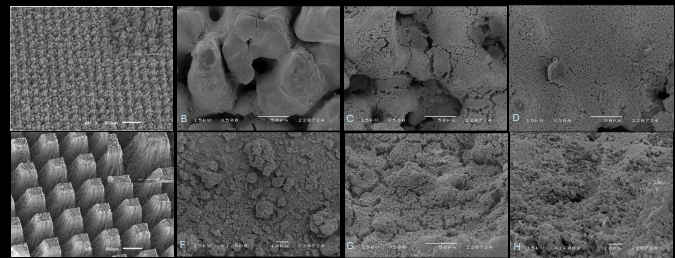
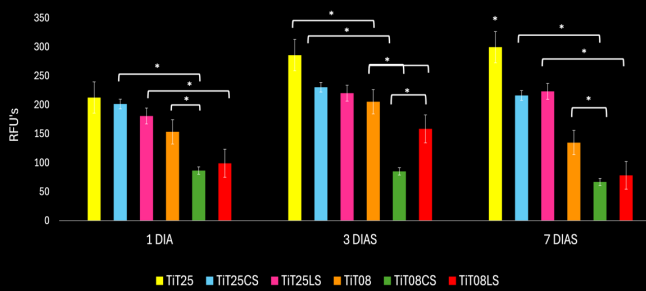
Foram produzidos discos de titânio com texturização superficial das amostras com laser Neodymium-doped Yttrium Aluminum of radiation (Nd:YAG) com um $\lambda=1064$ nm e com um pulso de 10ns, formando um padrão quadrado com 0,25 mm e 0,8mm.

Procedeu-se à biofuncionalização das amostras com HA através de sinterização convencional e outras sinterização por Laser Dióxido de Carbono (n=10).

As amostras foram semeadas, durante 7 dias, com uma linhagem imortalizada HGF, de acordo com as indicações do repositório. Foi avaliada a viabilidade celular (1, 3 e 7 dias) pela técnica fluorométrica da resorufina. A morfologia celular foi avaliada através de SEM. Os dados foram analisados estatisticamente com recurso ao teste de ANOVA, utilizando os testes post-hoc de Tukey e Dunnet conforme apropriado ($\alpha=0.05$)

RESULTADOS

Viabilidade Celular Fibroblastos



Imagens obtidas de SEM com ampliações de 500x ou 1000x. A – imagem do padrão 0,25mm; B- Imagem do padrão 0,25mm texturizado com Nd:YAG C - Imagem do padrão 0,25mm texturizado com Nd:YAG e adição de HA por sinterização convencional; D- Imagem do padrão 0,25mm texturizado com Nd:YAG e adição de HA por sinterização por laser de CO₂; E – imagem do padrão 0,8mm; F- Imagem do padrão 0,8 mm texturizado com Nd:YAG; G - Imagem do padrão 0,8 mm texturizado com Nd:YAG e adição de HA por sinterização convencional; H- Imagem do padrão 0,8mm texturizado com Nd:YAG e adição de HA por sinterização por laser de CO₂; As imagens B a D e de F a H foram obtidas após 24 de contacto com HGF.

Gráfico de linhas demonstrando a viabilidade celular de HGF em superfície de implantes de titânio com texturização por laser e com posterior adição de HA, ao fim de 1, 3 e 7 dias.

O gráfico apresenta a viabilidade celular em UA, as barras referem-se a uma média aritmética de 3 ensaios. As linhas de erro representam o intervalo de desvio padrão. As linhas assinaladas com * representam os resultados estatisticamente significativos.

DISCUSSÃO

. A alteração da superfície do implante por laser de Nd:YAG permite obter uma textura direcionada e programada da superfície do implante sem riscos de contaminação^(10,11).

. As amostras texturizadas com o padrão de 0,25mm apresentam um comportamento celular expectável de acordo com estudos prévios⁽¹²⁻¹³⁾. Contudo não seria expectável uma resposta diferente de acordo com o processo de sinterização⁽¹⁴⁾. As imagens obtidas por SEM permitem observar a presença de fibroblastos nestas amostras.

. A aplicação de bioativos nos padrões 0,8mm diminui a viabilidade celular, podendo ser pela libertação para o meio de cultura ou pela concentração excessiva de acordo com a literatura⁽¹⁵⁾.

. A texturização com o padrão de 0,25 mm apresenta uma rugosidade superior quando comparado com o padrão de 0,8mm o que aumenta a retenção de biomateriais, motivo pelo qual esta padronização parece ser a dimensão ideal⁽¹⁶⁾. Contudo mais estudos serão necessários para aferir a dimensão ideal de padronização.

CONCLUSÃO

As amostras texturizadas por laser com um padrão de 0,25mm revelaram um melhor comportamento celular dos HGF em todos os parâmetros de estudo. Mais estudos serão necessários para otimizar as superfícies

REFERÊNCIAS

1. Casadei, M., et al. 2014. "Innovations for replacing missing teeth: different types of dental implants." *Cochrane Database Syst Rev*. CD010315. 2-11. doi:10.1002/14651425.cd010315. 2. Li, et al. 2016. "Biological and structural properties of the micro-structured hydroxyapatite/nitrogen coating on titanium." *Col. Rev.*, 6, 1462. 3. Siqueira, M., et al. 2000. "Implant materials, design, and surface topography: their effect on osteointegration. A literature review." *Int J Oral Maxillofac Implants*, 15, 475-90. 4. Katsikis, F., et al. 2017. "Risk with antibiotic resistance and modification for dental implant Application." *Open J Dent*, 7, 5. 5. Debonis, C. S., Debonis, C. S., Debonis, C. S., et al. 2018. "Effect of surface topography and coating on osteogenesis and bacterial attachment on titanium implants." *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 30, 2113-20. 6. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 7. De, C. S., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 8. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 9. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 10. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 11. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 12. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 13. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 14. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 15. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48. 16. Tarkenton, B., et al. 2020. "Laser Nd:YAG produced surface texture formation and osteogenic behavior on titanium implants." *Appl Mater Sci*, 20, 2038-48.