

Andreia Bandeira Luís^{1,2,3}, Beatriz Fernandes^{1,2}, Joel Borges^{4,5}, Óscar Carvalho⁶, António Mata^{1,2,3,7} Joana Faria Marques^{1,2,3,7}

¹ Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Dentária (FMDUL), Lisboa, Portugal; ² Oral Biology and Biochemistry Research Group (GIBBO-UICOB) da FMDUL; ³CEMBDE-Cochrane Portugal, Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal. ⁴Physics Center of Minho and Porto Universities (CF-UM-UP), University of Minho, Guimarães, Portugal. ⁵LaPMET - Laboratory of Physics for Materials and Emergent Technologies, University of Minho, Braga, Portugal. ⁶CMEMS – Unidade de Investigação em Microsistemas Eletromecânicos da Universidade do Minho; ⁷LIBPhys-UL, Universidade de Lisboa Faculdade de Medicina Dentária, Lisboa, Portugal.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O revestimento de superfícies de implantes de titânio com magnésio (Mg) por *magnetron sputtering* em alto vácuo constitui uma modificação de superfície altamente promissora, uma vez que induz alterações na rugosidade e na hidrofilicidade da superfície⁽¹⁻⁴⁾, promovendo a adesão, a proliferação e a diferenciação das células peri-implantares⁽³⁻⁵⁾, aumentando o selamento dos tecidos moles peri-implantares⁽⁵⁾ e exercendo, adicionalmente, uma resposta imunomoduladora mediada pelo Mg^(1, 6). Paralelamente, as superfícies modificadas com Mg exibem efeitos antimicrobianos atribuídos a múltiplos mecanismos, como a alcalinização local do microambiente peri-implantar, a alteração da energia superficial e, em formulações combinadas com zinco ou cobre, a formação de espécies reativas de oxigénio que inibem seletivamente a colonização por patógenos orais, incluindo *Porphyromonas gingivalis* ^(1,7-8).

Avaliar e comparar o comportamento celular de uma cultura de **Fibroblastos Gengivais Humanos (HGF-hTERT)** e de **Osteoblastos Fetais Humanos (hFOB 1.19)** e Microbiológico (***Streptococcus oralis***; ***Porphyromonas gingivalis***) quanto à Viabilidade Celular, Resposta Inflamatória Celular, Adesão Bacteriana e Morfologia Celular e Bacteriana, em superfícies de titânio com diferentes revestimentos de magnésio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Produziu-se discos de titânio (Ti) revestidos de iões de magnésio por *sputtering* com magnetirão, originando 3 grupos de estudo: Ti (titânio liso) TiMg3+3 (duas ativações de 3 min) e TiMg10 (uma ativação de 10 min). As amostras foram cultivadas em HGF hTERT (ATCC® 2014TM) , por 7 dias, e hFOB 1.19 (ATCC® CRL 11372TM) por 14 dias, de acordo com o repositório. A viabilidade celular foi avaliada a 1, 3 e 7 dias para HGF hTERT e 1, 3, 7 e 14 dias para hFOB 1.19, utilizando o ensaio fluorométrico baseado na resorufina (n=15). A resposta inflamatória foi avaliada através da expressão das interleucinas IL-1β e IL-10 a 1 e 3 dias, por ELISA (n=6). As bactérias *S. Oralis* (NCTC 11427) e *P. gingivalis* (ATCC 33277), foram cultivadas na superfície das amostras dos grupos por 2 e 7 dias, respetivamente, de acordo com as indicações do repositório. Os ensaios de adesão bacteriana foram realizados após 1 e 2 dias para *S. oralis* e 3 e 7 dias para *P. gingivalis* em CFU/mL (n=6/grupo). A morfologia celular e bacteriana foi avaliada por microscopia eletrónica de varrimento (SEM) (n=3/grupo). Os dados foram analisados estatisticamente com recurso ao teste de ANOVA, utilizando os testes post-hoc de Tukey e Dunnet conforme apropriado (α= 0.05).

RESULTADOS

Viabilidade Celular Osteoblastos Fetais Humanos (hFOB 1.19)

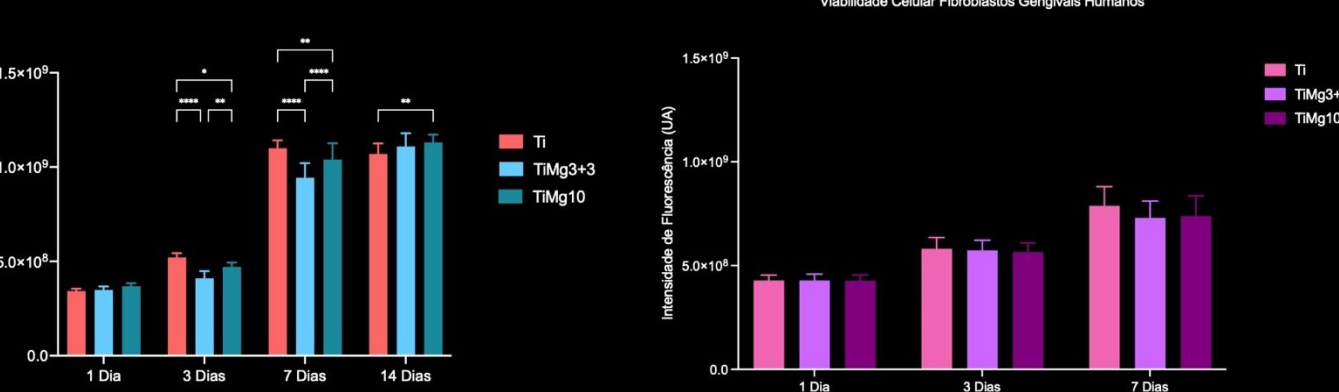


Gráfico de linhas demonstrando a viabilidade celular de hFob1.19 e HGF respetivamente em superfície de implantes de titânio com Mg com, ao fim de 14 e 7 dias, respetivamente. O gráfico apresenta a viabilidade celular em UA, as barras referem-se a uma média aritmética de 3 ensaios. As linhas de erro representam o intervalo de desvio padrão. As linhas assinaladas com * representam os resultados estatisticamente significativos. (n=15)

Expressão de Interleucina 1β em Osteoblastos Fetais Humanos

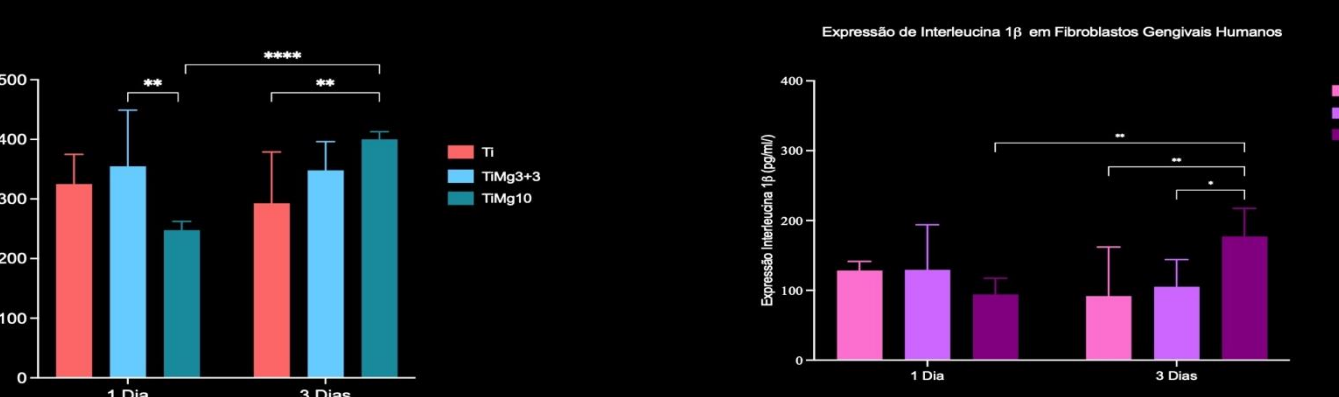


Gráfico de linhas demonstrando a Expressão de IL 1beta em hFob1.19 e HGF respetivamente em superfície de implantes de titânio com Mg com, ao fim de 3 dias. O gráfico apresenta a expressão de IL em pg/ml, as barras referem-se a uma média aritmética de 3 ensaios. As linhas de erro representam o intervalo de desvio padrão. As linhas assinaladas com * representam os resultados estatisticamente significativos (n=6)

Expressão de Interleucina 10 em Osteoblastos Fetais Humanos

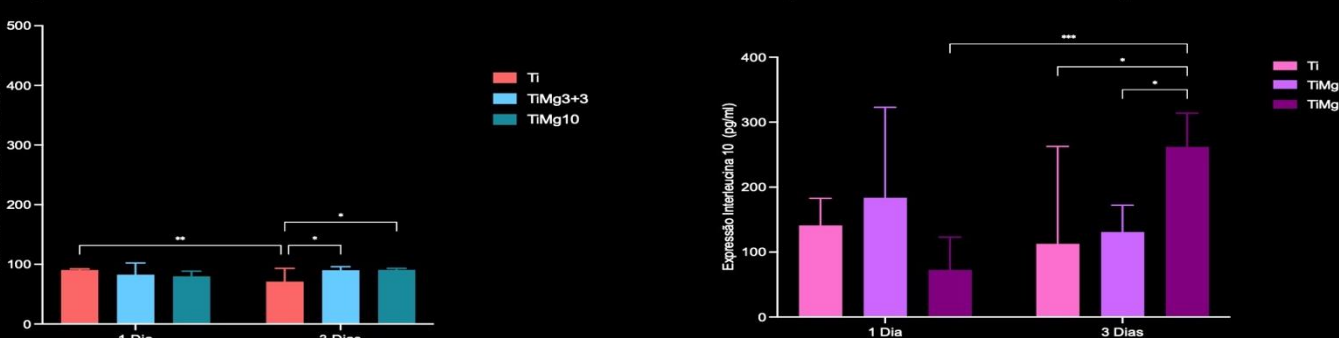


Gráfico de linhas demonstrando a Expressão de IL 10 em hFob1.19 e HGF respetivamente em superfície de implantes de titânio com Mg com, ao fim de 3 dias. O gráfico apresenta a expressão de IL em pg/ml, as barras referem-se a uma média aritmética de 3 ensaios. As linhas de erro representam o intervalo de desvio padrão. As linhas assinaladas com * representam os resultados estatisticamente significativos (n=6)

CONCLUSÃO

As amostras revestidas com Magnésio com a técnica proposta revelaram biocompatibilidade adequada, modulação da resposta inflamatória e atividade anti-microbiana contra *S.oralis* e *P.gingivalis* em particular com a ativação única de 10 min. Serão necessários mais estudos para otimização da estabilidade desta técnica de funcionalização.

REFERÊNCIAS

¹Dini C, Yamashita KM, Sacramento C, et al. Tailoring magnesium-doped coatings for improving surface and biological properties of titanium-based dental implants.. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*. 2024;246: 114382. ²Wang S, Zhao X, Hsu Y, et al. Surface modification of titanium implants with Mg-containing coatings to promote osseointegration.. *Acta biomaterialia*. 2023. ³Alenezi A, Alasmari DS. Effect of Magnesium-Modified Titanium Implants on Osseointegration: A Systematic Review and Meta-Analysis of Preclinical Studies. *Journal of Clinical Medicine*. 2026; ⁴Almeiriadi, A. H. (2021). Effect of Magnesium-Based Coatings on Titanium or Zirconia Substrates on Bone Regeneration and Implant Osseointegration- A Systematic Review. *Butucescu, M., Balasae, B. V., Imre, M., Pană, L., Radulescu, R., Dăicu, F., Dinu, M., Rus, F., Paras, A., Kiss, A. E., Muscuirei, C., Popa, A., Viteanu, C., Cerniga, A., Riposty, A., Vădulescu, A., & Păruș, S. (2023). Biological Response of Human Osteoblasts Cultured on Magnesium-Doped Hydroxyapatite Coatings on Ti6Al4Nb Alloy Substrates. *Ceramics International*. ⁵Zhang H, Wu Z, Wang Z, Yan X, Duan X, Sun H. Advances of surface modification techniques for titanium implants: a review of osteogenic and antibacterial strategies. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2025;13. doi:10.3389/fbio.2025.1543438 ⁶Reis BAD, Da Ponte Leguizamón N, Del Rey YC, Fernandes L, Nascimento DC, Vaz LG. Bacterial response to Ti-35Nb-7Zr-5Ta alloy incorporated with calcium, phosphate and magnesium. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*. 2023;34 ⁷Gioika M, Rausch-Fan X. Antimicrobial Effects of Metal Coatings or Physical, Chemical Modifications of Titanium Dental Implant Surfaces for Prevention of Peri-Implantitis: A Systematic Review of In Vivo Studies. *Antibiotics*. 2024;13. ⁸Baklian F, Alshamrani H, Youssef A, Hawaswi RA, Alreshdi A, Alkhashram M. Evaluation of Adhesion and Viability of Human Gingival Fibroblasts on Strontium-Coated Titanium Surfaces: an in vitro Study. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*. 2024;16:127 – 134. ⁹Wang L, Luo Q, Zhang X, Qiu J, Qian S, Liu X. Co-implantation of magnesium and zinc ions into titanium regulates the behaviors of human gingival fibroblasts. *Bioactive Materials*. 2020;6:64 - 74. ¹⁰Panahipour L, Wang L, Imari A, et al. Cytokine expression of soft tissue cells cultured with titanium discs and their respective supematants in vitro. *Clinical Oral Investigations*. 2025;29. ¹¹Qiao X, Yang J, Shang Y, et al. Magnesium-doped Nanostructured Titanium Surface Modulates Macrophage-mediated Inflammatory Response for Ameliorative Osseointegration. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:7185 – 7198. ¹²Zahtreh S, Hafner D, Strauss M, et al. Thin magnesium layer confirmed as an antibacterial and biocompatible implant coating in a co-culture model. *Molecular Medicine Reports*. 2017;15:1624 - 1630. ¹³Zhao Q, Yi L, Jiang L, Yi, Lin H, Dong J. Osteogenic activity and antibacterial ability on titanium surfaces modified with magnesium-doped titanium dioxide coating.. *Nanomedicine*. 2019;14 9 : 1109-1133. ¹⁴Miyake R, Shimabukuro M, Terauchi M, Marukawa E, Kawashita M. Amorphous Magnesium Coating for Achieving Functional Changes from Antibacterial to Osteogenic Activities.. *ACS applied bio materials*. 2024.*



andreia.vieira@edu.uilisboa.pt



LISBOA
UNIVERSIDADE DE LISBOA



Gibbo
LIPN - LISBOA



42



XLVII
CONGRESSO ANUAL DA
SPEMD
2026

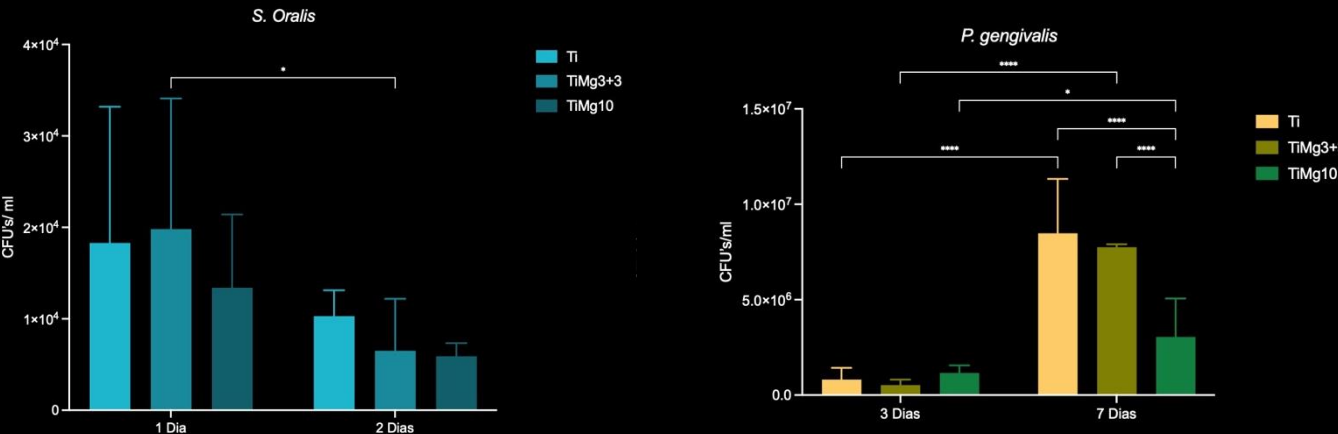
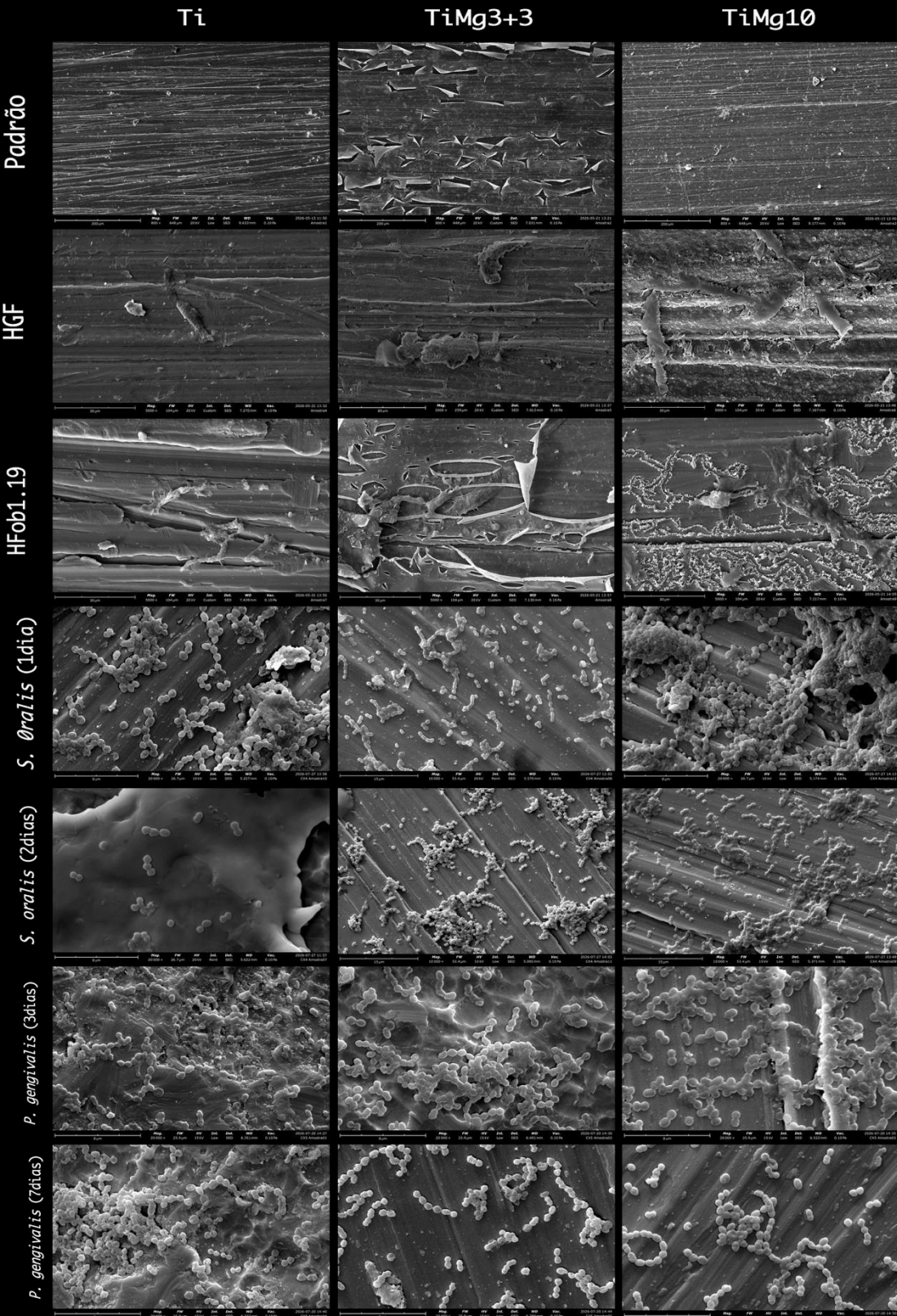


Gráfico de linhas demonstrando a contagem de colônias de *S. oralis* e *P. Gingivalis* respetivamente em superfície de implantes de titânio com Mg com, ao fim de 3 dias. O gráfico apresenta a contagem de colônias bacterianas em CFU's/mL, as barras referem-se a uma média aritmética de 3 ensaios. As linhas de erro representam o intervalo de desvio padrão. As linhas assinaladas com * representam os resultados estatisticamente significativos (n=6)



Imagens obtidas de SEM de padrão apresentam ampliações de 800x; As imagens de SEM com contacto celular com hFob1.19 ou HGF apresentam ampliações de 2000 ou 5000x e foram obtidas por contacto direto da amostra com a respetiva célula, ao fim de 1 dia; as imagens de SEM com contacto bacteriano apresentam ampliações de 1000 ou 2000x e foram obtidas por contacto direto da amostra com a respetiva bactéria, ao fim de 1e 2 dias para *S. Oralis* e 3 e 7 dias para *P. Gingivalis*.

DISCUSSÃO

. A adição de Mg como *coating* bioativo apresenta-se como uma alternativa capaz de melhorar a proliferação das células peri-implantares e diminuir a adesão bacteriana inicial^(1-4,7,8). Contudo estes resultados dependem da técnica e de perceber qual o efeito da dissolução do filme de Mg⁽⁹⁻¹⁰⁾.

. As amostras revestidas com Mg utilizando as duas técnicas propostas não apresentaram citotoxicidade e de uma forma geral demonstraram comportamento em linha do descrito na literatura para coatings de Mg onde em fibroblastos o impacto na viabilidade é inexpressivo, assegurando a manutenção do selamento marginal, enquanto que osteoblastos se observa um aumento de viabilidade tardio comparativamente com o controlo ^(3-5, 10).

. As amostras revestidas com Mg utilizando a técnica proposta apresentam uma resposta pró inflamatória mediada por IL-1 beta aumentada nas amostras revestidas o que não seria expectável tendo em conta o descrito na literatura. No entanto, quando considerada a resposta anti-inflamatória baseada em IL-10, que foi potenciada pelo contacto com superfície de Mg, os resultados estão de acordo com a literatura⁽¹¹⁻¹²⁾. Mais estudos serão necessários para compreender esta resposta.

. A resposta antibacteriana inicial a *S. oralis* foi expressiva ^(13,14). O comportamento *P. gingivalis* pode dever-se à rápida dissolução do filme perante o meio de cultura. Mais estudos serão necessários^(9,10,15).