

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/03/2022.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Aline Cominotte

**Avaliação de diferentes tratamentos de superfícies de Tc₁₂P e Ti-6Al-4V-ELI:
análises físicas, químicas e biológicas *in vitro***

Araraquara

2020



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Mariana Aline Cominotte

**Avaliação de diferentes tratamentos de superfícies de T1cp e Ti-6Al-4V-ELI:
análises físicas, químicas e biológicas *in vitro***

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do título de Doutora em Odontologia, na Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

Araraquara

2020

Cominotte, Mariana Aline

Avaliação de diferentes tratamentos de superfícies de TiCp e Ti-6Al-4V-ELI: análises físicas, químicas e biológicas in vitro / Mariana Aline Cominotte.-Araraquara: [s.n.], 2020.

72 f.; 30 cm.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia
Orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

1. Teste de materiais 2. Implantes dentários
3. Osseointegração I. Título

Mariana Aline Cominotte

**Avaliação de diferentes tratamentos de superfícies de Tícp e Ti-6Al-4V-ELI:
análises físicas, químicas e biológicas *in vitro***

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutorado em Odontologia

Presidente e orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

2º Examinador Claudemiro Bolfarini

3º Examinador Thallita Pereira Queiroz

4º Examinador Eduardo Hochuli Vieira

5º Examinador Leandro Fernandes

Araraquara 30 de março de 2020

DADOS CURRICULARES

Mariana Aline Cominotte

NASCIMENTO 31 de Maio de 1988 - Araraquara / SP

FILIAÇÃO Carlos Alberto Cominotte

 Kelly Kassia Ferreira Cominotte

2008 – 2012: Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

2014 – 2016: Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Periodontia, Nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

2015 – 2017: Curso de Especialização em Periodontia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

2016 – atual: Curso Pós-Graduação em Odontologia, Área de Periodontia, Nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Dedico este trabalho aos amores de minha vida: Mamãe, Papai, Alexandre Cominotte e Alexandre Carmargo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me abençoado durante todos os momentos desta etapa em minha vida, e por ter colocado em meu caminho pessoas especiais com as quais convivi durante o doutorado.

Aos meus pais Kelly e Carlos, meu irmão Alexandre, pessoas maravilhosas que amo incondicionalmente, que me apoiaram e incentivaram durante todos os momentos de minha vida. Sem vocês não seria possível chegar até aqui.

Ao meu amor, Alexandre, pelo apoio, incentivo, atenção, e compreensão, durante os momentos bons e ruins desta fase. Meu melhor amigo, parceiro e marido, sua presença foi indispensável para mim.

Às pessoas especiais que convivem e compartilham comigo todos momentos, minha avó e tia Lili, Arary, Janaina, Josaine, Mariângela, Estevam, Mariana, Stefan e Jackeline. É um prazer conviver com vocês, obrigada pelo carinho.

À amiga Fernanda Florian, companheira, que compartilhou comigo todos os momentos de minha vida acadêmica e pessoal, sendo eles bons ou ruins. Obrigada pela agradável convivência e pelos ensinamentos. Sou muito grata pela amiga que a pós-graduação me deu.

Ao meu orientador Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, por todas as oportunidades, ensinamentos, pela confiança, respeito e parceria, sou muito grata e me sinto muito abençoada pela convivência, você é responsável por todo meu desenvolvimento profissional. Muito obrigada por sua dedicação e paciência.

À Luana Carla Pires Verzola, colega e amiga, que me auxiliou nos primeiros passos laboratoriais da pós-graduação. Em cada etapa, em cada trabalho realizado e concluído, existe um pedacinho seu Lu. Deixo aqui um agradecimento muito especial à você, obrigada pela parceria e pelo companheirismo.

Às colegas de trabalho, pela parceria e companheirismo, no dia a dia da rotina do laboratório, Flavia Gomes Matos, Natalie Aparecida Rodrigues Fernandes e Laura Andréa González Maldonado, muito obrigada pela convivência agradável.

Aos professores da FOAr-UNESP que contribuíram para meu aprimoramento profissional, Profa. Dra. Daniela Zandim, Prof. Dr. Carlos Rossa, Profa. Dra. Silvana Orrico e Prof. Dr. José Eduardo Sampaio, obrigada pelo carinho e por todos os ensinamentos.

Agradeço à todas as pessoas que pertencem à família Marcantonio, Carolina e Camila, pela amizade e parceria, Prof. Dr Elcio Marcantonio Junior, por todas as oportunidades que me proporcionou durante o doutorado, e em especial à Profa. Dra. Adriana Chérico Marcantonio, pelo incentivo, acolhimento e acompanhamento dos meus primeiros passos na área científica, sou muito grata e me sinto abençoada por ter compartilhado meus dias e meus trabalhos com você. Para mim, exemplo de pessoa e profissional.

Às funcionárias da FOAr-UNESP, em especial Isabela, Suleima, Claudia e Lene, as quais sou muito grata pela convivência e por toda ajuda para o desenvolvimento de meu trabalho.

Ao CNPq:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, em reconhecimento ao auxílio financeiro prestado para processo 140193/2017, que possibilitou a realização das etapas de minha pesquisa.

À CAPES:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

“Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante”. Charlie Chaplin

Cominotte MA. Avaliação de diferentes tratamentos de superfícies de Ticp e Ti-6Al-4V-ELI: análises físicas, químicas e biológicas *in vitro* [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

RESUMO

A qualidade do tecido ósseo representa condição “sine qua non” para a estabilidade e longevidade de implantes biomédicos. Diante de fatores sistêmicos relacionados à insuficiência e/ou má qualidade do tecido ósseo peri-implantar, o desenvolvimento de superfícies de titânio com atividade osteogênica é amplamente incentivado na área da implantodontia. Sendo assim, este Estudo avaliou diferentes formas de tratamentos da superfície das amostras de titânio comercialmente puro (Ticp) e titânio liga 6Alumínio-4Vanádio, que visam o favorecimento dos mecanismos celulares de osteogênese. Este estudo foi dividido em 2 capítulos. Na publicação 1 as amostras foram divididas em 3 grupos de acordo com os tratamentos (Grupo 1: Titânio comercialmente puro – MS; Grupo 2: Tratamento com NaOH - AES; Grupo 3: Tratamento com NaOH associado à deposição de Estrôncio (Sr) – Sr-AES. Os resultados demonstraram que as superfícies dos Grupos 2 e 3 apresentaram-se mais rugosas, quando avaliadas em perfilômetro, e mais hidrofílicas em teste de molhabilidade, em comparação às do Grupo 1 ($p < 0.05$, One Way Anova). As células em contato com a superfície do Grupo 3 apresentaram espraiamento celular mais evidente, em comparação aos Grupos 1 e 2, indicando que a adição do estrôncio às amostras foi favorável ao desenvolvimento das células precursoras ósseas. Na publicação, as amostras foram divididas em 3 grupos de acordo com os diferentes tratamentos. Grupo A: titânio comercialmente puro – Ticp; Grupo B: Ti-6Al-4V com jateamento e tratamento duplo-ácido (HCl e H₃PO₄); Grupo C: Ti-6Al-4V com jateamento e tratamento ácido-básico (NaOH + H₃PO₄). Os testes físicos, por meio de avaliações com microscopia confocal à laser, demonstraram que as amostras do Grupo B apresentaram-se mais rugosas, se comparadas ao Grupo A e C, seguidas pelo Grupo C, se comparadas às amostras do Grupo A. As células sobre a superfície do Grupo B demonstraram-se mais viáveis que as células dos Grupos A e C ($p < 0.05$, Two Way Anova), avaliadas por meio do teste de Alamar Blue®. A adesão celular, analisada por meio das imagens de MEV, demonstraram resultados semelhantes para ambos os grupos. Entretanto, a morfologia e o espraiamento celular, analisadas por meio das imagens de fluorescência direta, assim como, a expressão gênica de proteínas relacionadas à via osteogênica, demonstraram-se favoráveis para os Grupos B e C, se comparadas, ao Grupo A. De modo geral, este trabalho demonstra que o jateamento e/ou tratamento químico com substâncias ácidas e básicas, para o aumento da rugosidade superficial, e a adição de estrôncio com potencial osteogênico, visando à maturação celular, foram eficientes, observando-se a correlação direta destas modificações, com os processos de adesão, viabilidade e maturação celular, visto que, nas superfícies mais rugosas, e nas superfícies com adição de estrôncio, as células demonstram estágios mais avançados de diferenciação osteoblástica.

Palavras-chave: Teste de materiais. Implantes dentários. Osseointegração.

Cominotte MA. Evaluation of different surface treatments of cpTi and Ti-6Al-4V-ELI: physical, chemical and biological analysis in vitro. [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

ABSTRACT

The quality of bone tissue represents a “sine qua non” condition for the stability and longevity of biomedical implants. Faced with systemic factors related to insufficiency and / or poor quality of peri-implant bone tissue, the development of titanium surfaces with osteogenic activity is encouraged in the implantology. Thus, this study evaluated different forms of surface treatments of samples of commercially pure titanium (Ticp) and titanium alloy 6Aluminium-4Vanadium, which aim to favor the cellular mechanisms of osteogenesis. This study was divided into 2 chapters. In Publication 1 the samples were divided into 3 groups according to the treatments (Group 1: Commercially pure titanium - MS; Group 2: Treatment with NaOH - AES; Group 3: Treatment with NaOH associated with the deposition of Strontium (Sr) - Sr -AES The results showed that the surfaces of Groups 2 and 3 were rougher when evaluated using a profilometer, and more hydrophilic in a wettability test, compared to Group 1 ($p < 0.05$, One Way Anova). The cells in contact with the Group 3 surface showed more evident cell spread, compared to Groups 1 and 2, indicating that the addition of strontium to the samples was favorable to the development of bone precursor cells. groups according to different treatments Group A: commercially pure titanium (Ticp); Group B: Ti-6Al-4V with blasting and double-acid treatment (HCl and H₃PO₄); Group C: Ti-6Al-4V with blasting and acid-base treatment (NaOH + H₃PO₄). Physical tests, using evaluations with laser confocal microscopy, showed that Group B samples were more rough when compared to Group A and C, followed by Group C, compared to Group A samples. on the surface of Group B, they were more viable than the cells of Groups A and C ($p < 0.05$, Two Way Anova), evaluated by means of the Alamar Blue® test. Cell adhesion, analyzed using SEM images, showed similar results for both groups. However, cell morphology and spread, analyzed by means of direct fluorescence images, as well as the gene expression of proteins related to the osteogenic pathway, proved to be favorable for Groups B and C, if compared, to Group A. in general, this work demonstrates that blasting and/or chemical treatment with acidic and basic substances, to increase surface roughness, and the addition of strontium with osteogenic potential, aiming at cell maturation, were efficient, observing the direct correlation of these modifications, with the processes of adhesion, viability and cell maturation, since, on the rougher surfaces, and on the surfaces with the addition of strontium, the cells demonstrate more advanced stages of osteoblastic differentiation.

Keywords: Materials testing. Dental implants. Osseointegration.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
1.1 Titânio comercialmente puro.....	09
1.2 Titânio liga 6Al-4V (Ti-6Al-4V)	10
1.3 Modificação superficial dos biomateriais	11
1.4 Jateamento das superfícies	13
1.5 Tratamento químico das superfícies	13
1.6 Tratamento hidrotermal	14
1.7 Bioativação da superfície de Ti com estrôncio – Sr	15
1.8 Características das modificações superficiais	16
2 PROPOSIÇÃO	18
2.1 Objetivos específicos.....	18
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	19
3.2 Publicação 2	37
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE A - Metodologia Detalhada da Publicação 1.....	63
APÊNDICE B - Metodologia Detalhada da Publicação 2.....	69

1 INTRODUÇÃO

Na contextualização atual da produção de próteses ortopédicas e implantes dentários, o titânio e suas ligas, apresentam altas taxas de sucesso com relação à interação e biocompatibilidade celular, e por apresentarem estes pontos positivos, o titânio e suas ligas, são considerados materiais de escolha para a confecção dos implantes dentários^{1,2,3}.

Segundo Branemark⁴, a osseointegração é caracterizada pela adesão e crescimento do tecido ósseo ao redor dos implantes dentários. Entretanto, alguns fatores sistêmicos que causam má qualidade e deficiência óssea, na região periimplantar, podem causar falhas na osseointegração dos implantes dentários, influenciando diretamente a longevidade destes tratamentos⁵. Para que o sucesso a longo prazo destes implantes seja atingido, é necessário que se forme uma unidade mecânica estável, entre a interface osso e implante⁶.

Os metais mais utilizados na confecção de implantes comercializados atualmente são o titânio comercialmente puro (Ticp), a liga Ti-6Al-4V (titânio-6alumínio-4vanádio) e liga Ti-13Nb-13Zr (titânio-nióbio-zircônio)^{2,1}. O titânio comercialmente puro exibe características desejáveis como alta relação resistência/densidade, boa resistência à corrosão e biocompatibilidade. A adição de outros elementos, como alumínio, vanádio, molibdênio, é realizada com intuito de conferir uma melhora nas propriedades mecânicas e químicas, para que estes materiais suportem as cargas mastigatórias, e se relacionem favoravelmente com o tecido osso ao seu redor^{7,8}.

1.1 Titânio comercialmente puro

O titânio comercialmente puro (Ticp) possui grau de pureza em torno de 98 % a 99,5%, sendo que a quantidade das impurezas está relacionada à presença dos elementos químicos: O, C, Fe, N e H, que podem alterar as propriedades físicas deste metal⁹.

O Ti e suas ligas se destacam por suas propriedades como alta resistência à corrosão, baixa densidade e baixo módulo de elasticidade quando comparados com outros materiais metálicos, além de excelente biocompatibilidade. Implantes de Ti provocam uma reação mínima no tecido onde é inserido; geralmente não levam a um processo inflamatório, nem desencadeiam reações alérgicas¹⁰ e são classificados como bioinertes¹¹.

Uma das desvantagens do Tícp é apresentar baixa resistência ao desgaste, inviabilizando seu uso como superfície articular¹². Por isso, o Tícp é preferível em condições onde a resistência à corrosão é a característica de maior importância em relação às propriedades mecânicas¹³. Isto explica seu vasto uso em componentes para cirurgias neurológicas, cardiovasculares, maxilofaciais, em alguns tipos de cirurgias ortopédicas, como por exemplo em componentes de fixação de próteses de quadril, e em cirurgias orais¹⁰. Na Odontologia, o Ti é o material de primeira escolha na fabricação de implantes (parafuso e pilar), coroas, pontes e sobredentaduras¹⁴.

Com relação às suas vantagens, o Ti possui uma alta resistência à corrosão devido ao fato de reagir com o oxigênio do meio, formando uma camada de óxido estável e não porosa em sua superfície, com espessura variando entre 2 a 7 nm¹⁵. Esta camada pode ser espessada e modificada por diversos processamentos que melhoram sua resistência à corrosão e podem promover alterações em sua superfície, aumentando seu grau de biocompatibilidade¹⁶. Além disto, este material demonstra uma rápida osseointegração, promovendo um selamento do implante com as estruturas periimplantares adjacentes, diminuindo a probabilidade de invasão bacteriana¹⁷.

1.2 Titânio liga 6Al-4V (Ti-6Al-4V)

A liga Ti-6Al-4V é utilizada desde 1960, e vem substituindo gradualmente o Tícp, por apresentar maior resistência mecânica. Em temperatura ambiente, o titânio comercialmente puro apresenta estrutura hexagonal representada como fase α , transformando-se em uma estrutura cúbica, denominada fase β , quando submetida à elevadas temperaturas, por volta de 883°C^{18,19}. Esta temperatura de transformação pode ser alterada por meio da adição de elementos químicos que caracterizam o tipo de liga. As propriedades mecânicas das ligas de Ti dependem da relação quantitativa e qualitativa das fases α e β do metal.

O titânio α é muito suscetível à deformação e ao superaquecimento, o que produz uma estrutura distorcida²⁰. Pesquisas que estudam o aperfeiçoamento das ligas de Ti para a Implantodontia, visam as ligas do tipo β , que possui características como baixo módulo de elasticidade, assemelhando-se mais ao módulo de elasticidade óssea, maior resistência mecânica e à corrosão e melhor resposta tecidual quando comparadas com ligas tipo $\alpha+\beta$ ²⁰. Quando elementos de liga são adicionados ao titânio, estes elementos exercem efeito sobre a transformação das fases α e β . Os

elementos adicionados que aumentam ou mantêm a faixa de temperatura de estabilidade da fase α são chamados de α -estabilizadores, e são eles alumínio, estanho e zircônio. Os elementos adicionados que estabilizam a fase β são chamados de β -estabilizadores, eles incluem o molibdênio, vanádio e ferro^{20, 21}.

A liga Ti-6Al-4V-ELI (intersticiais extra baixos – extra low interstitials) apresenta duas fases em sua composição, fase α e fase β . A incorporação do Al e do V nesta liga, tem como objetivo tornar o titânio puro, passível de tratamentos térmicos, a fim de se alcançar um módulo de elasticidade mais compatível com as características ósseas¹².

Os primeiros implantes dentários foram confeccionados sem nenhum tipo de tratamento da superfície, apenas eram realizados processos de usinagem, que produziam superfícies de aspecto liso. Estes implantes pioneiros foram utilizados durante muito tempo, até começarem os estudos sobre os processos que texturizavam as superfícies, buscando-se melhoras nos processos de osseointegração, visando a estabilidade por longos períodos de tempo.

Atualmente a maioria dos processos de fabricação que envolvem os implantes metálicos, geram camadas superficiais de óxidos muito irregulares, e pouco favoráveis aos processos de osseointegração. Por este motivo, vários estudos propõem modificações nas superfícies dos materiais, com o objetivo de melhorar a biocompatibilidade destas estruturas, auxiliando os processos celulares.

Um material biocompatível deve exibir bons resultados de resistência à corrosão, e características que favoreçam à osseointegração¹². Um implante sem adequada biocompatibilidade pode ter sua funcionalidade reduzida ou anulada, ou ainda induzir respostas indesejadas pelos tecidos do hospedeiro, gerando desconforto e dor ao paciente, até que ocorra a perda destas estruturas.

1.3 Modificação superficial dos biomateriais

A modificação superficial dos biomateriais assume um papel fundamental para amparar os processos envolvidos nos mecanismos celulares da osteogênese. Estudos *in vivo* demonstram os efeitos positivos da modificação da superfície de Ti sobre a osseointegração dos implantes endósseos^{13,22}, e estudos *in vitro* com cultura celular tem ressaltado a influência das propriedades físico-químicas da superfície de Ti nas propriedades celulares que favorecem a osteogênese^{23,10}.

As superfícies de titânio podem ser modificadas pelos processos químicos e mecânicos, também denominados de subtração ou adição. Os processos de subtração podem ser realizados por meio dos tratamentos de eletropolimento, polimento mecânico, jateamento, condicionamento ácido, básico e oxidação anódica. Já os processos de adição, são caracterizados pelo revestimento das superfícies com algumas substâncias, a exemplo: hidroxiapatitas (HA) e outros compostos a base de Cálcio e Fosfato (apatitas); além da técnica de plasma-spray, que também é caracterizada pela incorporação de substâncias aos metais.

O Quadro 1 abaixo demonstra os principais tipos de tratamentos superficiais, com objetivo de funcionalização das superfícies dos biomateriais que visam favorecer a osseointegração.

Quadro 1 - Estratégias para funcionalização das superfícies dos biomateriais, visando a osseointegração

<i>Estratégia</i>	<i>Efeito</i>	<i>Limitação</i>
Aumento da rugosidade – processos de subtração (Ra em escala μm)	Melhora a osseointegração devido a maior retenção mecânica	Também pode aumentar a adesão bacteriana
Revestimentos inorgânicos (Ca/P/apatitas)	Potencial osteocondutor e osteoindutor	Também podem aumentar a adesão bacteriana
Revestimentos orgânicos (proteínas/peptídeos)	Potencial osteocondutor e osteoindutor	Também podem aumentar a adesão bacteriana
Revestimentos antiadesivos	Inibe a adesão bacteriana	A adesão de células eucarióticas também é comprometida
Revestimentos bactericidas	Morte bacteriana ou inibição de sua adesão	A adesão, função e viabilidade das células eucarióticas podem ser comprometidas

Fonte: Adaptado de Mas-Moruno et al.¹ (2019).

1.4 Jateamento das superfícies

Para aumentar a rugosidade superficial dos biomateriais, pode-se utilizar um tratamento com jateamento de partículas, caracterizado por lançar em alta velocidade, partículas contra as superfícies. O material de jateamento deve ser quimicamente estável, biocompatível e não deve prejudicar a osseointegração dos implantes²⁵.

Atualmente muitos estudos são desenvolvidos com a finalidade de criar superfícies rugosas em implantes de Ti visando favorecer a osseointegração^{26,27}. Estas superfícies rugosas são usualmente obtidas por meio do jateamento com alumina (Al_2O_3) e dióxido de titânio (TiO_2), sendo na maioria das vezes, acompanhado pelos tratamentos por ataque ácido. As partículas provenientes do jateamento são incorporadas na superfície do implante, e posteriormente a este processamento utilizam-se ácidos com o objetivo de remoção destas impurezas, que podem interferir nos processos de osseointegração¹².

Le Guehennec et al.²⁵ em 2008, observaram o crescimento de células *in vitro* sobre superfícies de TiCP que foram jateadas com alumina, e demonstraram a possibilidade da obtenção de bioatividade com esse tipo de modificação superficial. Zhou et al.⁶ (2010), demonstraram o efeito do jateamento da superfície de Ti, associada à utilização do ácido fluorídrico, sobre a osseointegração e ancoragem de implantes de Ti. O tratamento induziu um aumento na rugosidade da superfície em escala nanométrica, favorecendo a osseointegração e a ancoragem mecânica.

1.5 Tratamento químico das superfícies

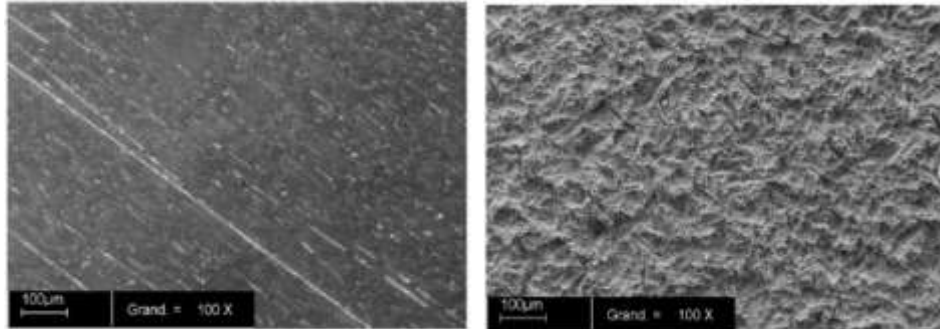
A modificação das superfícies por meio do tratamento químico pode ser realizada com ataque de substâncias ácidas e substâncias alcalinas.

A utilização de ácidos e bases na superfície de implantes de titânio são empregados com o objetivo de alterar a rugosidade (Figura 1), composição da superfície, bem como a molhabilidade/energia superficial²⁵. Dentre os principais ácidos utilizados atualmente nos estudos, encontram-se: clorídrico, sulfúrico, fluorídrico e fosfórico, além da mistura dos mesmos, pois quando associados demonstram o favorecimento da osseointegração²⁸.

As substâncias de caráter alcalino também promovem alterações na topografia superficial (Figura 2), sendo a mais utilizada, o hidróxido de sódio (NaOH). Esta base promove reações químicas na camada superficial do TiO_2 , causando sua dissolução parcial. As partículas negativas desta camada combinam-se com partículas alcalinas

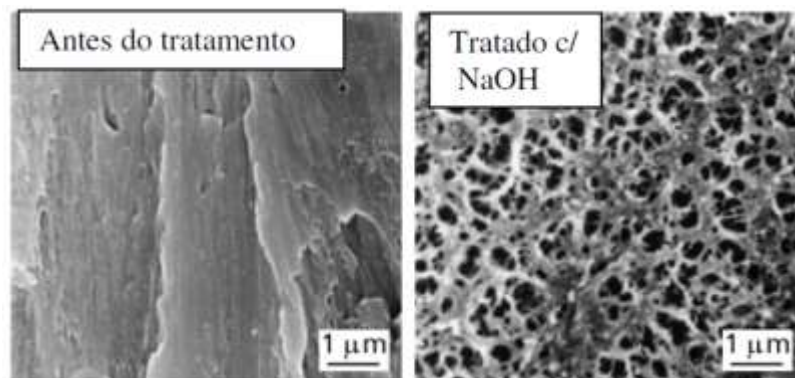
da solução de NaOH, formando uma camada de titanato de sódio sobre a superfície de Ti, demonstrando-se bioativa em contato com solução *SBF* – *simulated body fluid*²⁹.

Figura 1 - Superfície de Ticp e Ticp com tratamento de ácido Sulfúrico (H_2SO_4). Magnificação de 100x, barra com 100 μm



Fonte: Le Guehenec et al.²⁵ (2008).

Figura 2 - Superfície de Ticp e Ticp com tratamento de NaOH



Fonte: Adaptado de Kim et al.³⁰ (1997).

1.6 Tratamento hidrotermal

O tratamento hidrotermal ou hidrotérmico (EQHT), é amplamente utilizado para aumentar a solubilidade das partículas adicionadas às soluções, facilitando a cristalização destas partículas amorfas, sobre determinadas superfícies, em condições de temperatura e pressão atmosférica controladas.

Um estudo realizado por Pang et al.¹⁷ (2018), avaliou o efeito da superfície de Ti tratada com HA por meio do método EQHT, sobre a morfologia, diferenciação, proliferação e citotoxicidade de osteoblastos em cultura celular. O estudo demonstrou que este método produziu uma estrutura superficial nano-ordenada, mais favorável à osteogênese, em comparação à superfície de Ti usinada, verificando-se maior

expressão dos genes *Alp*, *Runx2*, *Col1a1* e *Ocn* nos grupos com revestimento de HA nos períodos de 7, 14 e 21 dias.

Recentemente, Tsimbouri et al.³¹ (2016), avaliaram o potencial osteogênico e antimicrobiano de superfícies de Ti submetidas a diferentes padrões de tratamento hidrotérmico, e demonstraram que em determinada temperatura e tempo de tratamento, ocorreu maior estímulo de células osteoblásticas, com redução na colonização bacteriana, devido à nanoestrutura superficial formada.

Deste modo, este tipo de tratamento apresenta-se atualmente como um processamento viável para ser utilizado na modificação de superfícies de Ti.

1.7 Bioativação da superfície de Ti com estrôncio – Sr

Atualmente, os bisfosfonatos são muito utilizados devido à eficiência no tratamento das patologias ósseas^{1,32}. Estes compostos são reguladores endógenos da mineralização óssea, atuando na inibição da ativação de células osteoclásticas, estabilizando a perda óssea ocasionada por doenças metabólicas⁵.

Contudo, os bisfosfonatos, apresentam forte ligação química, com alta permanência no tecido ósseo³³, devido a isto, atualmente estes medicamentos são relacionados aos casos de fraturas ósseas, lesões renais e gastrointestinais³⁴, apresentando também correlação com o aumento das taxas de risco de osteonecrose³⁵ e câncer de esôfago⁸. Por este motivo, estes fármacos não são utilizados em favorecimento aos procedimentos odontológicos³⁶. Alguns estudos atuais têm observado efeitos positivos com relação à utilização dos bisfosfonatos em áreas de baixa qualidade óssea; porém, estes resultados estão sendo alcançados com baixas concentrações destes medicamentos, por meio dos protocolos com efeito local, aplicando-os previamente na região que receberá os implantes, ou incorporando-os às superfícies dos implantes³⁷. Porém, devido aos efeitos colaterais e riscos sistêmicos dos bisfosfonatos, a busca de outras drogas com efeito osteoindutor ou que bloqueie a reabsorção óssea tem sido pesquisada, com destaque a medicamentos à base de estrôncio.

O estrôncio (Sr) é um elemento químico que pertence ao grupo dos metais alcalinos-terrosos, estando localizado logo abaixo do cálcio na tabela periódica, e devido a isto, este elemento químico assemelha-se com o cálcio. Apresenta absorção intestinal, eliminação renal, e alta afinidade pela hidroxiapatita, incorporando-se ao

tecido ósseo e dentes³⁸, e ao contrário dos bisfosfonatos, os medicamentos à base de estrôncio, agem em conjunto nos mecanismos de formação e reabsorção óssea³⁹.

Em um estudo realizado por Fernandes et al.⁴⁰ (2019), o efeito do estrôncio em fibroblastos gengivais foi avaliado para elucidar o papel desta substância sobre as interações entre os implantes dentários e a gengiva. Os autores demonstraram que o estrôncio diminuiu a apoptose celular, e aumentou a atividade destas células com relação à fixação celular nos pilares próticos.

Zhou et al.⁶, em 2019 utilizou células de medula óssea (BMSC's) para avaliação dos efeitos do estrôncio sobre a adesão inicial, proliferação e diferenciação adipogênica, e confirmaram a influência do estrôncio sobre o metabolismo celular, verificando aumento na adesão e proliferação das BMSC's, bem como, a diminuição do estresse oxidativo das células, e a inibição da adipogênese, sendo estas características favoráveis à osseointegração.

Li et al.³⁹, em 2010, avaliaram a administração de ranelato de estrôncio e instalação de implantes em ratas osteoporóticas, e demonstraram aumento nas taxas de fixação e volume ósseo ao redor dos implantes, inferindo que sua abordagem é eficaz na osseointegração de implantes em organismos osteoporóticos.

Buehler et al.⁴¹, em 2001, administraram diferentes doses de ranelato de estrôncio (100; 275; 750 mg/kg/dia) em macacos, durante um período de 6 meses, demonstrando resultados favoráveis com relação à diminuição da reabsorção óssea, mantendo deste modo a formação óssea, com efeito expressivo apenas para a máxima concentração.

Por estes resultados favoráveis do metabolismo ósseo, associado à utilização do estrôncio, surgem novas possibilidades de incorporação deste composto à medicamentos, suplementos, e superfícies de biomateriais com a finalidade de atuação nas patologias ósseas.

1.8 Características das modificações superficiais

É demonstrado na literatura, que os processos de texturização superficial dos implantes dentários, são responsáveis pela modificação da rugosidade, produzindo superfícies de caráter macro, micro e nanométrico. Estes três tipos de escala atuam diretamente nas respostas celulares, podendo modular os eventos que envolvem a osseointegração.

As superfícies denominadas de usinadas, são confeccionadas por meio do lixamento superficial de suas estruturas. Este processo mecânico confere ranhuras às superfícies de com tamanhos entre 20 μm a 40 μm ²⁸.

O processamento por jateamento das superfícies, promovem rugosidades de caráter macrométrico, enquanto que, o condicionamento com substâncias ácidas ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HCl}$) das superfícies, promovem alterações de caráter micrométrico, com tamanhos entre 1,0 μm a 10,0 μm , e o tratamento com substâncias alcalinas (NaOH) promovem nanorugosidades com tamanhos abaixo de 100 nm^{30,42,43}.

Dentro de todo o contexto abordado, observamos a importância de estudos que avaliem e elucidem as repostas das células, quando há o contato direto com diferentes tipos de superfícies de implantes, visto que, vários são os parâmetros que podem influenciar, na adesão, proliferação e maturação celular, consequentemente otimizando a osseointegração e restringindo possíveis falhas biológicas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de diferentes superfícies é um ponto crítico a ser discutido, de modo que, as propriedades físicas e químicas superficiais de um implante influenciam diretamente as interações entre proteínas e células osteogênicas, podendo determinar a qualidade da união entre a interface implante-osso.

Diversos métodos estão sendo desenvolvidos ou aprimorados para melhorar a qualidade óssea ao redor dos implantes dentários, bem como, diminuir o tempo de osseointegração, aumentando-se a taxa de sucesso nas reabilitações orais. As modificações superficiais, por meio da utilização de substâncias ácidas/básicas, deposição de partículas bioativas, ou jateamento de partículas, apresentam uma vasta literatura, com relação à biologia óssea, demonstrando resultados promissores em relação ao favorecimento da osseointegração de dispositivos implantáveis.

Este estudo propôs a caracterização física, química, biológica e microbiológica das superfícies de titânio comercialmente puro, bem como, a caracterização física e biológica da liga Ti-6Al-4V-ELI, ambas modificadas por meio de tratamentos superficiais, investigando-se as respostas celulares frente às diferentes texturizações promovidas nas superfícies. Diante das análises dos resultados, podemos dizer que, os tratamentos de superfície realizados por este trabalho atingiram os objetivos de texturização superficial, modificando-se as características físicas e químicas das amostras de TiCp e de Ti-6Al-4V-ELI, de forma que, os eventos celulares intermediários observados, sugerem o favorecimento das atividades osteoblásticas envolvidas na osseointegração.

Contudo, mais estudos em modelos in vivo são necessários para o completo entendimento das vantagens e desvantagens dessas modificações superficiais, afim de que, seja elucidado seu devido papel na osseointegração, promovendo novas perspectivas no âmbito da Implantodontia.

REFERÊNCIAS*

- 1- Mas-Moruno C, Su B, Dalby MJ. Multifunctional Coatings and Nanotopographies: Toward Cell Instructive and Antibacterial Implants. *Adv Healthc Mater.* 2019; 8(1): 1801103.
- 2- Kim HM, Miyaji F, Kokubo T, Nakamura T. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. *J Mater Sci Mater Med.* 1997; 8: 341–47.
- 3- Chen Q, Thouas GA. Metallic implant biomaterials. *Mater Sci Eng R Reports.* 2015; 87: 1-57.
- 4- Branemark PI. Tissue-Integrated Prostheses Osseointegration *Clin Dent.* 1985; 54(4): 611-12.
- 5- Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer.* 2000; 88(S12): 2961-78.
- 6- Zhou C, Chen YQ, Zhu YH, Lin GF, Zhang LF, Liu XC et al. Antiadipogenesis and Osseointegration of Strontium-Doped Implant Surfaces. *J Dent Res.* 2019 98(7): 795-802.
- 7- Oliveira NTC, Guastaldi AC. Electrochemical stability and corrosion resistance of Ti-Mo alloys for biomedical applications. *Acta Biomater.* 2009; 5(1): 399-405.
- 8- Orozco C, Maalouf NM. Safety of Bisphosphonates. *Rheum Dis Clin North Am.* 2012; 38(4): 681-705.
- 9- Niinomi M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Mater Sci Eng A.* 1998; 243(1-2): 231-36.
- 10- Conforto E, Caillard D, Müller L, Müller FA. The structure of titanate nanobelts used as seeds for the nucleation of hydroxyapatite at the surface of titanium implants. *Acta Biomater.* 2008; 4(6): 1934-43.
- 11- Sela J, Gross UM, Kohavi D, Shani J, Dean DD, Boyan BD, Schwartz Z. Primary mineralization at the surfaces of implants. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000; 11 (4): 423-36.
- 12- Aparicio C, Gil FJ, Fonseca C, Barbosa M, Planell JA. Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications. *Biomaterials.* 2003; 24(2): 263-73.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

- 13- Gotfredson K, Wennerberg A, Johansson C, Skovgaard LT, Hjorting-Hansen E. Anchorage of TiO₂-blasted, HA-coated, and machined implants: An experimental study with rabbits. *J Biomed Mater Res.* 1995; 29 (10): 1223-31.
- 14- Elias CN, Lima JHC, Valiev R, Meyers MA. Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM.* 2008; 60: 46-9. <https://doi.org/10.1007/s11837-008-0031-1>.
- 15- Lausmaa J. Surface spectroscopic characterization of titanium implant materials. *J Electron Spectros. Relat. Phenomena.* 1996; 2048 (95): 02530-8.
- 16- Basu B, Nath S. Fundamentals of biomaterials and biocompatibility. In: Basu B, Katti DS, Kumar A, Editors. *Advanced biomaterials: fundamentals, processing and applications.* Hoboken: John Wiley & Sons; 2009; p. 1-18.
- 17- Pang S, He Y, He P, Luo X, Guo Z, Li H. Fabrication of two distinct hydroxyapatite coatings and their effects on MC3T3-E1 cell behavior. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2018; 171: 40-8.
- 18- Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ.* 2003; 67 (8): 932-49.
- 19- Bello SA, De Jesús-Maldonado I, Rosim-Fachini E, Sundaram PA, Difffoot-Carlo N. In vitro evaluation of human osteoblast adhesion to a thermally oxidized γ -TiAl intermetallic alloy of composition Ti-48Al-2Cr-2Nb (at.%). *J Mater Sci Mater Med.* 2010; 21(5): 1739-50.
- 20- Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. *Prog Mater Sci.* 2009; 54: 397-425.
- 21- Cattoni D, Ferrari C, Lebedev L, Pazos L, Svoboda H. Effect of Blasting on the Fatigue Life of Ti-6Al-7Nb and Stainless Steel AISI 316 LVM. *Procedia Mater Sci.* 2012; 60: 46-9.
- 22- Buser D, Nydegger T, Oxland T, Cochran DL, Schenk RK, Hirt HP et al. Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: A biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res.* 1999; 45(2): 75-83.
- 23- Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials.* 2006; 27(15):2907-15.
- 25- Le Guehennec L, Lopez-Heredia MA, Enkel B, Weiss P, Amouriq Y, Layrolle P. Osteoblastic cell behaviour on different titanium implant surfaces. *Acta Biomater.* 2008; 4 (3): 535-43.
- 26- Raphel J, Holodniy M, Goodman SB, Heilshorn SC. Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. *Biomaterials.* 2016; 84: 301-314.
- 27- Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater.* 2007; 23 (7): 844-54.

- 28- Bagno C, Di Bello. Surface treatments and roughness properties of Ti-based biomaterials. *J Mater Sci Mater Med*. 2004; 15(9): 935-19.
- 29- Kokubo T, Kim HM, Kawashita M, Nakamura T. Bioactive metals: Preparation and properties. *J Mater Sci Mater Med*. 2004; 51: 294-99.
- 30- Kim HM, Miyaji F, Kokubo T, Nakamura T. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. *J Mater Sci Mater Med*. 1997; 8: 341-47.
- 31- Tsimbouri PM, Fisher L, Holloway N, Sjoström T, Nobbs AH, Meek RMD, Su B, Dalby MJ. Osteogenic and bactericidal surfaces from hydrothermal titania nanowires on titanium substrates. *Sci Rep*. 2016; 6: 36857.
- 32- Adachi JD, Saag KG, Delmas PD, Liberman UA, Emkey RD, Seeman E et al. Two-year effects of alendronate on bone mineral density and vertebral fracture in patients receiving glucocorticoids: A randomized, double-blind, placebo-controlled extension trial. *Arthritis Rheum*. 2001; 44 (1): 202-11.
- 33- Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: Risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005; 64(12): 1771-79.
- 34- Green J, Czanner G, Reeves G, Watson J, Wise L, Beral V. Oral bisphosphonates and risk of cancer of oesophagus, stomach, and colorectum: Case-control analysis within a UK primary care cohort. *BMJ*. 2010; 341: c4444.
- 35- Lazarovici TS, Yahalom R, Taicher S, Elad S, Hardan I, Yarom N. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws: A Single-Center Study of 101 Patients. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67(4): 850-55.
- 36- Maïmoun L, Brennan TC, Badoud I, Dubois-Ferriere V, Rizzoli R, Ammann P. Strontium ranelate improves implant osseointegration, *Bone*. 2010; 46 (5): 1436-41.
- 15- Blake GM, Fogelman I. Strontium ranelate: a novel treatment for postmenopausal osteoporosis: a review of safety and efficacy. *Clin Interv Aging*. 2006; 1(4): 367-75.
- 37- Jakobsen T, Bechtold JE, Jensen T, Marianne T, Medical M. Increases Fixation of Hydroxy-Coated. *Implants*. 2019; 35(5): 974-79.
- 38- Blake GM, Fogelman I. Strontium ranelate: a novel treatment for postmenopausal osteoporosis: a review of safety and efficacy. *Clin Interv Aging*. 2006; 1(4): 367-75.
- 39- Li Y, Feng G, Gao Y, Luo E, Liu X, Hu J. Strontium ranelate treatment enhances hydroxyapatite-coated titanium screws fixation in osteoporotic rats. *J Orthop Res*. 2010; 28(5): 578-82.
- 40- Fernandes G, Vanyo ST, Alsharif SBA, Andreana S, Visser MB, Dziak R. Strontium Effects on Human Gingival Fibroblasts. *J Oral Implantol*. 2019; 45: 274-80.
- 41- Buehler J, Chappuis P, Saffar JL, Tsouderos Y, Vignery A. Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone*. 2001; 29(2): 176-79.

43- Oliveira NTC, Aleixo G, Caram R, Guastaldi AC. Development of Ti-Mo alloys for biomedical applications: Microstructure and electrochemical characterization. *Mater Sci Eng A*. 2007; 50(4): 938-45.

44- Zhu X, Chen J, Scheideler L, Reichl R, Geis-Gerstorfer J. Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials*. 2004; 25(18): 4087-4103.