

Trabalho de Conclusão de Curso

**Avaliação da Superfície de Implantes Dentários Tratados com
Nanotubos Carregados com Doxiciclina e Revestidos com
Biomateriais**

Fernando Fronza Possamai



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Fernando Fronza Possamai

**AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS TRATADOS COM
NANOTUBOS, CARREGADOS COM DOXICICLINA E REVESTIDOS COM
BIOMATERIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Odontologia da UFSC como requisito para a
graduação.

Aluno: Fernando Fronza Possamai

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini

Co orientador: MSc. Artur Breno Wanderley Alécio

Florianópolis

2017

Fernando Fronza Possamai

**AVALIAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS TRATADOS COM
NANOTUBOS, CARREGADOS COM DOXICICLINA E REVESTIDOS COM
BIOMATERIAIS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 17 de Maio de 2017.

Prof^a. Dr^a. Daniela Lemos Carcereri, UFSC

Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini

Orientador

Prof. Dr. Cesar Augusto Magalhães Benfatti

Membro

Prof^a. Dr^a. Ariadne Cristiane Cabral da Cruz

Membro

A toda minha família, em especial aos meus pais, **Eli Páscoal Possamai** e **Márcia Eliana Fronza Possamai**, pelo apoio em minha caminhada, pelo respeito que me ensinaram a ter e pelo amor incondicional,

Com muito carinho dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus** pela oportunidade de nos fazer acreditar em algo que está além da nossa compreensão, ao dom da vida, e a capacidade de buscarmos o conhecimento e de aprendermos a cada dia.

Aos meus **Pais**, que não mediram esforços para que eu pudesse seguir minhas escolhas. Vocês são fonte de muito amor e carinho, que um dia eu possa ser metade dos pais que vocês foram para mim, espero continuar enchendo vocês de orgulho, pois vocês me inspiram isto, ser a cada novo dia uma pessoa melhor. Amo muito vocês.

Aos meus avós maternos, **Tercílio e Nilza**, por todos os ensinamentos transmitidos e por toda paciência. Vocês são responsáveis por grande parte da minha personalidade, se um dia eu chegar ao sucesso, podem ter certeza que vocês também foram culpados.

Aos meus avós paternos, **Osmar (in memoriam) e Iria**, por contribuírem com a minha formação, por me transmitirem apoio e pelo sentimento de orgulho que vocês têm por mim.

Aos meus padrinhos, **Luiz e Sandra** e a minha prima **Luísa** por serem incríveis comigo, vocês são minha segunda família, agradeço imensamente a amizade e o carinho que vocês têm por mim.

Ao Professor **Ricardo de Souza Magini**, pela oportunidade que me concedeu ao realizar este trabalho, a disponibilidade e a sua atenção. Agradeço também pela sua amizade, e pelas conversas informais, você é uma das minhas inspirações como profissional.

Ao mestre **Artur Breno Wanderley Alécio**, que me possibilitou tanto aprendizado com a realização deste trabalho. Agradeço imensamente por você ter compartilhado suas experiências e seu conhecimento comigo. Agradeço também a paciência com esse marinho de primeira viagem.

Ao professor **César Benfatti**, que aceitou fazer parte da banca e por ter me transmitido tanto ensinamento neste último semestre, nossas conversas me ensinaram muito, agradeço também toda confiança depositada na realização dos procedimentos clínicos.

A professora **Ariadne Cruz**, por aceitar ser suplente da banca e por estar sempre disponível quando dúvidas surgiam.

A minha linda namorada e dupla **Maira**, por ser exatamente a pessoa que é, pela perseverança e pela responsabilidade que conduz seus trabalhos. Pelo amor que compartilha comigo, por todo conforto que me possibilita quando surgem momentos de angústia e pelos sonhos compartilhados que trilham a nossa caminhada futuramente fora desta linda universidade. Amo você!

A professora **Analúcia Philippi**, pela amizade que me possibilitou, pelos valores que me ensinou, e pelo carinho com que transmite seu conhecimento. Sou eternamente grato pela oportunidade que tive graças a você.

Ao professor **Sylvio Monteiro Jr.** por me ensinar valores que estão muito além do conhecimento científico, pela sua sabedoria, por demonstrar o grande valor de uma amizade, e até mesmo a importância de um simples futebol de quinta feira.

Aos meus amigos, por serem parte da minha existência, por compartilharem conversas, alegrias, sonhos, medos e anseios. Por viverem querendo o bem do próximo, e por demonstrarem que somos capazes de alcançar qualquer objetivo na vida, juntos.

Aos professores da UFSC, pela carga absurda de conhecimento que possuem e por serem minha fonte de inspiração, vocês realmente fazem a diferença.

Aos servidores da UFSC, que contribuíram para minha formação além da vida acadêmica, aqueles valores que não se encontram escritos em livro nenhum.

“A única maneira de fazer um bom trabalho é amar o que você faz.”

Steve Jobs

RESUMO

Visando diminuir o tempo de osseointegração e aumentar a taxa de sucesso dos implantes dentais, uma estratégia eficaz e bem documentada é a de alterar a sua superfície, melhorando a interação entre o titânio e os componentes biológicos envolvidos no processo de osseointegração. O objetivo deste estudo foi avaliar em MEV a superfície de implantes de titânio tratados com nanotubos, carregados com doxiciclina e revestidos com biomateriais. Oito implantes dentais com superfície nano tratada foram carregados com doxiciclina e recobertos com uma associação dos polímeros quitosana e PLGA. Os implantes dentais com superfície nano tratada (IDSN) e carregados com antibióticos foram então lavados em água destilada durante um dia, e então, dois IDSN foram analisados em Microscopia Eletrônica de Varredura. Na análise pode-se observar um total recobrimento dos implantes pelos biomateriais, não sendo possível localizar superfícies com exposição de nanotubos após inspeção na microscopia mesmo após a lavagem. A técnica de recobrimento utilizada neste estudo foi eficaz para revestir os implantes nano tratados e carregados com doxiciclina, sugerindo um potencial para a entrega local e controlada de fármacos no sítio de instalação de implantes dentários.

Palavras-Chaves: Implantes dentários, tratamento de superfície, osseointegração, doxiciclina, PLGA, quitosana.

ABSTRACT

Aiming to decrease the time of osseointegration and increase the success rate of dental implants, an effective and well-documented strategy is to alter the implants surface, improving the interaction between titanium and the biological components involved in the osseointegration process. The objective of this study was to evaluate in SEM the surface of titanium implants treated with nanotubes loaded with doxycycline and coated with biomaterials. Eight nano treated dental implants were loaded with doxycycline and covered with an association of the polymers chitosan and PLGA. Implants treated with TiNT surface (DINS) and loaded with antibiotics were washed in distilled water during one day, and two DINS were analyzed in Scanning Electron Microscopy. In the analysis, it was possible to observe a total covering of the implants by the biomaterials, not being possible to locate surfaces with nanotube exposure after inspection in microscopy even after washing. The coating technique used in this study was effective for coating nano-treated and doxycycline loaded implants, suggesting a potential for local and controlled delivery of drugs at the dental implant site.

Keywords: Dental implants, surface treatment, osseointegration, doxycycline, PLGA, chitosan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Avaliação da superfície dos implantes após a anodização.....	27
Figura 2. Preparação dos implantes para análise em MEV.. ..	27
Figura 3. Magnificações do implante A.....	28
Figura 4. Magnificações do implante B.....	29

LISTA DE SIGLAS

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

TiO₂ – Óxido de titânio

Al₂O₃ – Óxido de Alumínio

FDA – Food and Drug Administration

PLGA – Ácido polilático co-glicólico

BMP-2 – Bone morphogenetic protein 2

bFGF – Basic fibroblast growth factor

MEV – Microscópio Eletrônica de Varredura

IDSNs – Implantes dentais com superfície nano tratada

DCM – Diclorometano

% – Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Tratamento de Superfície	19
2.2 Doxíciclina.....	19
2.3 Ácido polilático co-glicólico (PLGA)	20
2.4 Quitosana	20
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 GERAL.....	22
3.2 ESPECÍFICOS.....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Tratamento da superfície dos implantes dentários	23
4.2 Caracterização da superfície nanotubular	23
4.3 A esterilização dos Implantes	24
4.4 Carregamento de doxíciclina e Revestimento com Quitosana/PLGA	24
4.5 Processo de Carregamento	24
4.6 Processo de revestimento	24
4.7 Análise dos implantes no microscópio eletrônico de varredura (MEV)	24
5 RESULTADOS.....	26
5.1 Avaliação da superfície dos implantes após a anodização.....	26
5.2 Avaliação da superfície dos implantes após o revestimento.....	26
6 DISCUSSÃO	29
7 CONCLUSÃO	32
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, um dos grandes desafios da odontologia é manter ou mesmo restituir ao paciente que por algum motivo sofreu a perda de saúde do sistema estomatognático, como função, fonética e conforto. Quanto maior a perda de referências dentais, maior a dificuldade de sucesso e previsibilidade de reabilitação na odontologia tradicional. Com a implantodontia, as reabilitações orais começaram a abrir novos horizontes, e por este motivo, vêm se tornando uma excelente alternativa terapêutica nas últimas décadas (CARVALHO et al., 2006).

No Início da implantodontia, quando se instalava um implante, a principal pergunta era se iria osseointegrar. Objetivando evitar perdas dos implantes, as cirurgias eram sempre realizadas em dois estágios cirúrgicos e o tempo de espera para total osseointegração eram maiores (4 a 6 meses em média). (BRANEMARK 1977). Atualmente, devido ao desenvolvimento de pesquisas que visam melhorar a superfície e o desenho dos implantes, o índice de falhas na osseointegração é considerado insignificante, desde que sejam seguidos os princípios cirúrgicos básicos durante a instalação. Portanto, os implantes dentais já estão bem documentado em relação as suas taxas de sucesso e atualmente os estudos estão dirigidos em melhorar a sua performance em relação ao tempo de osseointegração e obtenção de estabilidade primária para aplicação de carga imediata à instalação (GOTFREDSEN & KARLSSON 2001; HUEBSCH & MOONEY 2009).

O aperfeiçoamento do formato do corpo e roscas do implante objetiva melhorar o embricamento mecânico com o osso, que resulta em aumento da estabilidade inicial, favorecendo a aplicação de carga imediatamente à instalação do implante, eliminando a segunda etapa cirúrgica (reabertura) e diminuindo o tempo de algumas fases protéticas. Pois, o perfil de emergência protético é criado juntamente com o processo de cicatrização óssea. Já a alteração na superfície visa acelerar obtenção da estabilidade secundária, melhorando a afinidade entre o titânio e as células envolvidas diretamente no processo de osseointegração, que resulta em um menor tempo entre a instalação do implante e a prótese definitiva (CRANIN et al 1982; MISCH 1999; WENNERBERG & ALBREKTSSON 2009).

A superfície do implante pode ser classificada como maquinada (quando não recebem nenhum tratamento) ou tratada (quando algum tipo de tratamento é aplicado, através de macro ou micro texturização). A superfície pode ser tratada por métodos de adição (perfil convexo), quando acrescenta-se algo à superfície do implante, que pode ser do mesmo material do corpo do implante ou não; ou subtração (perfil côncavo), quando por meio de um processo controlado, é removida uma parte da camada superficial. Atualmente os implantes dentais mais utilizados são tratados através da associação de técnicas de subtração, inicialmente é realizado uma macro texturização, que pode ser por jateamento de partículas como silício, óxido de alumínio (Al_2O_3), óxido de titânio (TiO_2) e vidro, criando, por meio de abrasão, uma superfície com ranhuras irregulares, que variam de acordo com o tamanho e a forma das partículas e também das condições do jateamento (pressão, distância do bico do jato à superfície do implante, tempo de jateamento). A rugosidade média pode variar entre 1,20 e 2,20 μm . Logo após é realizada a micro texturização através de ataque ácido em que a rugosidade média da superfície é de 1,30 μm . Existe uma variedade de tratamento de superfície disponível para implantes osseointegráveis que variam em sua técnica de obtenção, rugosidade, características físicas e químicas da superfície. Cada um com as suas vantagens, desvantagens e indicações (WENNERBERG, ALBREKTSSON & ANDERSSON 1996; SYKARAS 2000; WENNERBERG & ALBREKTSSON 2009).

A tecnologia nanotubular como técnica de tratamento de superfície tem sido estudada na tentativa de melhorar ainda mais a integração dos tecidos duro e mole. Uma anodização, realizada através de uma técnica eletroquímica, é utilizada para alterar a camada de óxido de titânio (TiO_2) formando nanoporos na superfície do material, seguindo-se a oxidação e a dissolução assistida pela presença de flúor criando TiO_2 nanotubos (BERGER et al 2011). Este tipo de modificação da superfície mostrou bons resultados na obtenção da osseointegração *in vivo*. (FAN et al 2012) A técnica eletroquímica de oxidação anódica tem sido utilizada por mais de uma década para aumentar a camada de óxido, controlando a espessura e forma dos nanotubos sobre a superfície dos implantes e tem desempenhado um excelente papel, principalmente no processo de osseointegração, devido sua característica hidrofílica. Essa característica na interface osso/implante é crucial para adesão celular. Melhores resultados de osseointegração foram obtidos em superfície de

implantes com camada de óxido anodizados (DEMETRESCU et al., 2010 SMITH et al 2011).

A taxa de sucesso dos implantes osseointegrados é considerada alta (cerca de 95%) mesmo após um período de 10 anos de acompanhamento. O sucesso está relacionado a fatores locais, como quantidade e qualidade óssea disponível para instalação do implante em posição proteticamente favorável. Associado a isto, fatores sistêmicos principalmente relacionados ao grau de resposta inflamatória do hospedeiro diante da agressão bacteriana, influencia na sobrevida do implante a longo prazo. Assim como nos dentes, as bactérias têm papel fundamental no início e desenvolvimento das alterações peri-implantares (ZITZMANN ET AL 2008).

Estudos mostraram que a peri-implantite ocorre em 28-56% dos implantes e sua terapia pode envolver processos químicos e físicos de descontaminação. Uma forma química de descontaminação é a utilização de antibióticos, utilizados local ou sistemicamente. Uma vantagem do uso local de antibióticos é que a quantidade total de fármaco utilizado é consideravelmente mais baixa em comparação com a administração sistêmica. Portanto, os efeitos colaterais, como hipersensibilidade, desconforto gastrointestinal, náuseas, vômitos, colite pseudomembranosa, e outros são menos prováveis de ocorrer quando os sistemas de liberação de fármacos locais são utilizados (FRANSSON ET AL 2005; ROOS-JANSKER ET AL 2006; RENVERT ET AL 2007; KALSI ET AL 2011).

A Abordagem atual para o tratamento da peri-implantite envolve a realização de cirurgia, aplicando substâncias antimicrobianas diretamente sobre a superfície do implante, causando desconforto inerente à realização de procedimentos cirúrgicos. Buscando melhorar as propriedades físicas dos implantes e superar as desvantagens dos tratamentos atualmente disponíveis para a peri-implantite, uma abordagem inovadora seria a modificação da superfície do titânio com nanotubos e utilização como reservatório de fármacos antibióticos comumente empregados para tratar a doença periodontal (amoxicilina, amoxicilina associado a metronidazol e doxiciclina) para liberação local (BAZILEVSKY & SUN 2007; GARRIPELLI ET AL 2010; TOLOU ET AL 2013).

Nos últimos anos, os desenvolvimentos no campo dos biomateriais têm mostrado um grande potencial para os polímeros bioreabsorvíveis, dentre eles está o copolímero Poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico), ou PLGA. A importância de se estudar esses materiais se justifica pelo fato do processo de degradação por hidrólise gerar produtos que são absorvidos pelo organismo, como o ácido láctico e ácido glicólico. Dessa forma, o PLGA se apresenta altamente biocompatível e atóxico (MANO J et al, 2004).

A Quitosana, é um polissacarídeo catiônico produzido através da deacetilação da quitina, um polissacarídeo encontrado no exoesqueleto de crustáceos, através de um processo de alcalinização sob altas temperaturas. Biocompatível, biodegradável e sem toxicidade, a quitosana vem sendo amplamente utilizada nos estudos de liberação de fármacos e na engenharia tecidual (DIAS et al. 2008).

Enquanto a procura por uma distribuição local de fármacos aumenta, a quitosana, que é um polímero biocompatível e de fácil obtenção, vem sendo amplamente utilizada como biomaterial para administração de fármacos. Micropartículas a base de quitosana é um dos sistemas de distribuição de fármacos mais utilizados, juntamente com hidrogéis, nanopartículas e filmes finos (HONG SC et al, 2017). Além disso, a quitosana oferece uma grande versatilidade, pois ela pode ser trabalhada de diferentes formas e tamanhos, desde nanopartículas, até polímeros e membranas. Venkatesan et al. 2017, utilizaram diversas formas de quitosana para liberação do fator de crescimento ósseo (BMP-2) e concluíram que a quitosana tem grandes chances de mostrar bons resultados em estudos clínicos e de ser uma ótima escolha para regeneração tecidual.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tratamento de Superfície

Em 2009, Mendonça et al, mostraram que o tratamento de superfície nanotubular em implantes de titânio aumentam a adesão e diferenciação celular de osteoblastos, melhorando e acelerando a osseointegração dos implantes.

A anodização eletroquímica vem sendo utilizada para a fabricação de nanotubos na superfície de implantes de titânio, além de ser um método que possibilita o carregamento de agentes antimicrobianos ao implante, propicia também alterar a cinética de liberação ou entrega do fármaco ao meio, simplesmente alterando os parâmetros no processo de fabricação dos nanotubos (MOSEKE et al., 2012).

A capacidade de adesão das bactérias logo após a instalação do implante está relacionada não só aos microrganismos, mas também a superfície de contato do material. Implantes tratados com nanotubos e carregados com gentamicina mostraram ser capazes de diminuir a adesão bacteriana. Células cultivadas em uma superfície nanotubular apresentaram níveis de atividade de fosfatase alcalina maiores do que células cultivadas em superfícies de titânio (POPAT et al., 2007)

2.2 Doxíciclina

A doxíciclina é comumente utilizada no controle das inflamações peri-implantares, porém, seu uso sistêmico tem diversas desvantagens quando comparado ao seu uso local. O carregamento de doxíciclina em amostras de titânio-zircônia com tratamento de superfície mostrou ser eficaz no controle do crescimento de microrganismos causadores de mucosite peri-implantar *in vitro* (XING et al., 2015).

Além disso, estudos recentes evidenciaram que a presença de doxíciclina no alvéolo após a exodontia em ratos aumentou significativamente a neoformação óssea quando comparado ao grupo onde o alvéolo não foi tratado com antibiótico (SHAHABOOEI et al., 2015).

Walter et al. (2014) testaram amostras de titânio zircônia carregadas com doxiciclina *in vitro*, analisando o crescimento e maturação de pré-osteoblastos de murino. Posteriormente realizaram um teste *in vivo* na região tibial de um coelho com uma amostra carregada com doxiciclina e analisaram sua bioatividade, demonstrando que o fármaco diminuiu o risco de infecção e aumentou a neoformação óssea ao redor do implante.

O uso de materiais biodegradáveis vem mostrando resultados positivos no sistema de entrega local de fármacos, uma membrana reabsorvível utilizada em regeneração tecidual guiada foi carregada com doxiciclina e avaliada em cães, os resultados mostram efeitos benéficos do uso da membrana carregada com antibiótico sobre a osteogênese (CHANG, YAMADA, 2000).

2.3 Ácido polilático co-glicólico (PLGA)

O Ácido polilático co-glicólico (PLGA) é um copolímero que vem sendo amplamente utilizado em diversas formas aprovadas pela Administração de Drogas e Alimentos Americana (o FDA), devido a sua biocompatibilidade e sua biodegradabilidade (ASTETE, SABLIOV, 2006).

Em 2015, Menegazzo implantou discos de membranas de PLGA associadas a antibiofilmes bacterianos (lactamas ou nanopartículas de prata) em tecidos subcutâneos de ratos. Os resultados sugerem a biocompatibilidade destes materiais.

Zou et al. (2012) utilizaram microesferas de PLGA carregadas com fator de crescimento de fibroblastos (bFGF) e avaliaram os efeitos locais da osseointegração de implantes de titânio em ratos diabéticos, e concluíram que microesferas PLGA carregado com bFGF, ao redor dos implantes, podem diminuir o tempo de osseointegração de implantes em ratos diabéticos.

2.4 Quitosana

Yoo et al. 2015 realizaram o revestimento de implantes de titânio com o copolímero PLGA associado a uma proteína óssea e avaliaram a atividade de

osteoblastos *in vitro*, demonstrando resultados positivos que podem acarretar em uma diminuição no tempo de cicatrização da área peri-implantar.

Em 2017, Hong et al. descreveram aplicações da quitosana na área de engenharia tecidual. Plataformas com base de quitosana propiciam a adesão celular e conseqüentemente, o crescimento destas células sobre a plataforma de biomaterial, o qual pode ser uma grande vantagem quando comparado aos hidrogéis utilizados hoje em dia.

Babu e Ramesh, 2007, descreveram o uso da quitosana na terapia anticâncer, sendo utilizada como auxiliar na entrega de genes e da quimioterapia, bem como imunoadjuvante para vacinas.

Chien e Chung (2012) realizaram uma comparação entre colutórios a base de quitosana e colutórios comerciais, e obtiveram resultados semelhantes, demonstrando assim, que a solução de quitosana tem efeito antimicrobiano na cavidade oral.

Em 2006, Costa et al. avaliaram clinicamente a capacidade angiogênica após implantarem por enxertia interlamelar uma membrana de quitosana na córnea de coelhos. No pós-operatório observaram que a membrana de quitosana teve efeito significativo na formação de vasos capilares e esse efeito permaneceu leve até 30 dias.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

O objetivo geral deste estudo foi avaliar em microscopia eletrônica de varredura (MEV) a superfície de implantes tratados com nanotubos, carregados com doxiciclina e revestidos com biomateriais.

3.2 ESPECÍFICOS

Avaliar se a metodologia utilizada para o revestimento dos implantes foi eficaz.

Analisar em MEV a uniformidade da cobertura dos biomateriais sobre os implantes nano tratados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tratamento da superfície dos implantes dentários

Os nanotubos foram incorporados perpendicularmente aos implantes dentários. A fim de limpar a superfície dos implantes dentários antes da fabricação, os mesmos foram embebidos em acetona (Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) durante 30 min, lavados em água deionizada e secos com ar. A técnica de anodização eletroquímica foi usada para fabricar nanotubos sobre a superfície dos implantes perpendicular à sua superfície plana. A anodização foi executada sob condições otimizadas, determinada em estudos anteriores (Sinha-Ray et al., 2011).

IDSNs foram ligados a uma fonte de tensão DC (2400 Keithley SourceMeter) como o eletrodo de trabalho, enquanto uma malha de cobre foi utilizada como contra-eletrodo. Ambos os eletrodos foram imersos numa mistura de eletrólitos de etileno glicol (Fisher Scientific), 0.3 wt% NH₄F (Fisher Scientific) e 10 vol.% de água deionizada. Dados preliminares indicam que as melhores configurações para anodização de amostras são 120V durante 2 horas. As amostras anodizadas neste cenário mostraram mais liberação de droga. Um agitador magnético foi usado para agitar o eletrólito como uma tensão contínua de 120V aplicada durante 2 horas. A anodização foi executada à temperatura ambiente.

4.2 Caracterização da superfície nanotubular

As dimensões médias de nanotubos foram verificadas usando um Microscópio Eletrônico de Varredura (FESEM) (JEOL JSM-6320F). A fim de determinar as dimensões dos nanotubos, eles foram removidos do substrato por raspagem. Partículas separadas foram colocadas numa fita dupla face de carbono condutora e ligada a uma ponta de alumínio para gerar a imagem. Finalmente foi utilizado o programa *ImageJ* para medir as dimensões dos nanotubos. As medições foram repetidas por três vezes.

4.3 A esterilização dos Implantes

Todas as amostras foram limpas num banho ultrassônico utilizando tricloroetileno como detergente e enxaguadas duas vezes em etanol absoluto. Depois a técnica de carregamento foi realizada com os implantes experimentais.

4.4 Carregamento de doxiciclina e Revestimento com Quitosana/PLGA

Seis implantes dentários com tratamento de superfície com nanotubos (IDSNs) foram carregadas com doxiciclina dissolvida em água deionizada (50 mg / ml) e posteriormente revestidos com uma solução de poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) e quitosana (70:30) em diclorometano (DCM). O citrato de trietilo foi utilizado como um plastificante (5% de PLGA).

4.5 Processo de Carregamento

Os IDSNs foram submergidos em solução de doxiciclina com 50 mg/ml, permaneceram em sonicação (Branson 2800 Ultrasonic banho de 40kHz, de Danbury, Connecticut, EUA) durante 10 min, aspirados a vácuo durante 5 min e deixados para secar em temperatura ambiente durante 10 min sob exaustor. O processo de carregamento foi repetido 3 vezes, a fim de tentar um aumento no carregamento dos IDSNs.

4.6 Processo de revestimento

As amostras foram imersas em solução de quitosana e PLGA (1:2 v/v). Em seguida, foram secas à temperatura ambiente durante 7 horas, sob exaustor e aspiradas a vácuo durante 9 horas. O procedimento foi repetido por quatro vezes, a fim de incrementar as camadas de polímero dos IDSNs. Logo após, os implantes foram lavados em água destilada por uma hora e secados durante à noite. O revestimento foi caracterizado por meio da microscopia electrónica de varredura (MEV, JEOL JSM-6390LV).

4.7 Análise dos implantes no microscópio eletrônico de varredura (MEV)

Dois IDSNs foram selecionados para análise morfológica. Os implantes passaram por uma cobertura em ouro de 300 Å Alterações na morfologia da

superfície do implante foram inspecionadas através do MEV (JEOL JSM-6390LV). Os implantes foram completamente inspecionados pelo MEV em 10.00 kV, em diversas magnificações.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da superfície dos implantes após a anodização

A análise em MEV após o tratamento de superfície mostrou uma formação uniforme de nanotubos com aproximadamente 70 nm de diâmetro (Figura 1). Os implantes encontravam-se com nanotubos perpendiculares a sua superfície e com tamanho suficiente para serem carregados com doxiciclina.

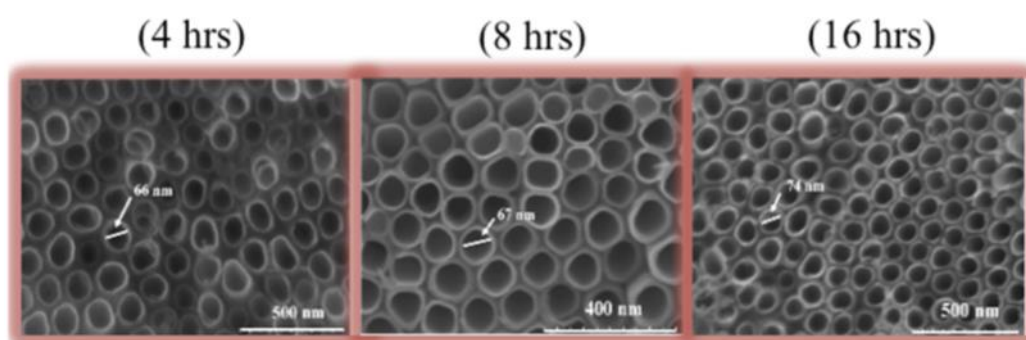


FIGURA 1 – Superfície dos implantes após o tratamento de superfície por anodização. Nota-se uma uniformidade dos nanotubos, tanto em quantidade quanto ao tamanho dos mesmos.

5.2 Avaliação da superfície dos implantes após o revestimento

A análise em MEV dos implantes após o revestimento apresentou uma superfície com cobertura uniforme dos polímeros PLGA e quitosana, não apresentando falhas na superfície.

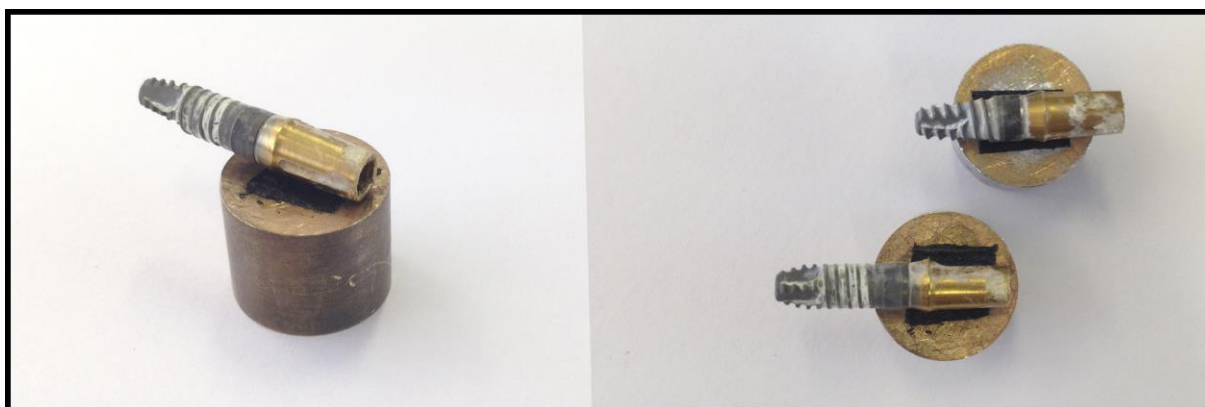


FIGURA 2 – Implantes sendo preparados para análise em MEV, os implantes foram colados nos suportes metálicos com auxílio de uma fita dupla face. Posteriormente, os implantes passaram por uma cobertura em ouro de 300 Å.

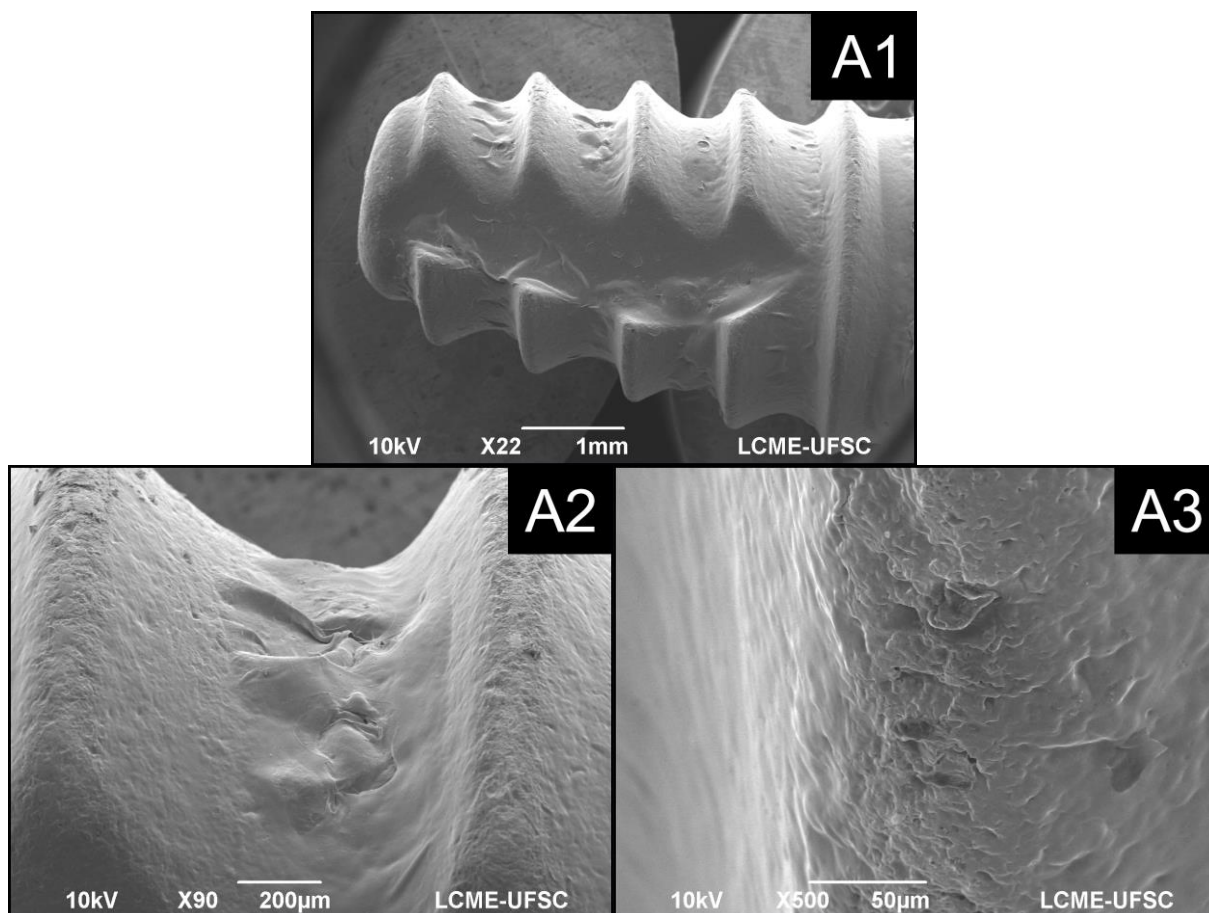


FIGURA 3 – Diferentes magnificações do primeiro implante (A) estão expostas nesta figura, nota-se um completo revestimento do IDSN, por polímero. Uma criteriosa inspeção foi realizada no intuito de encontrar nanotubos expostos, porém nenhuma área exposta foi observada.

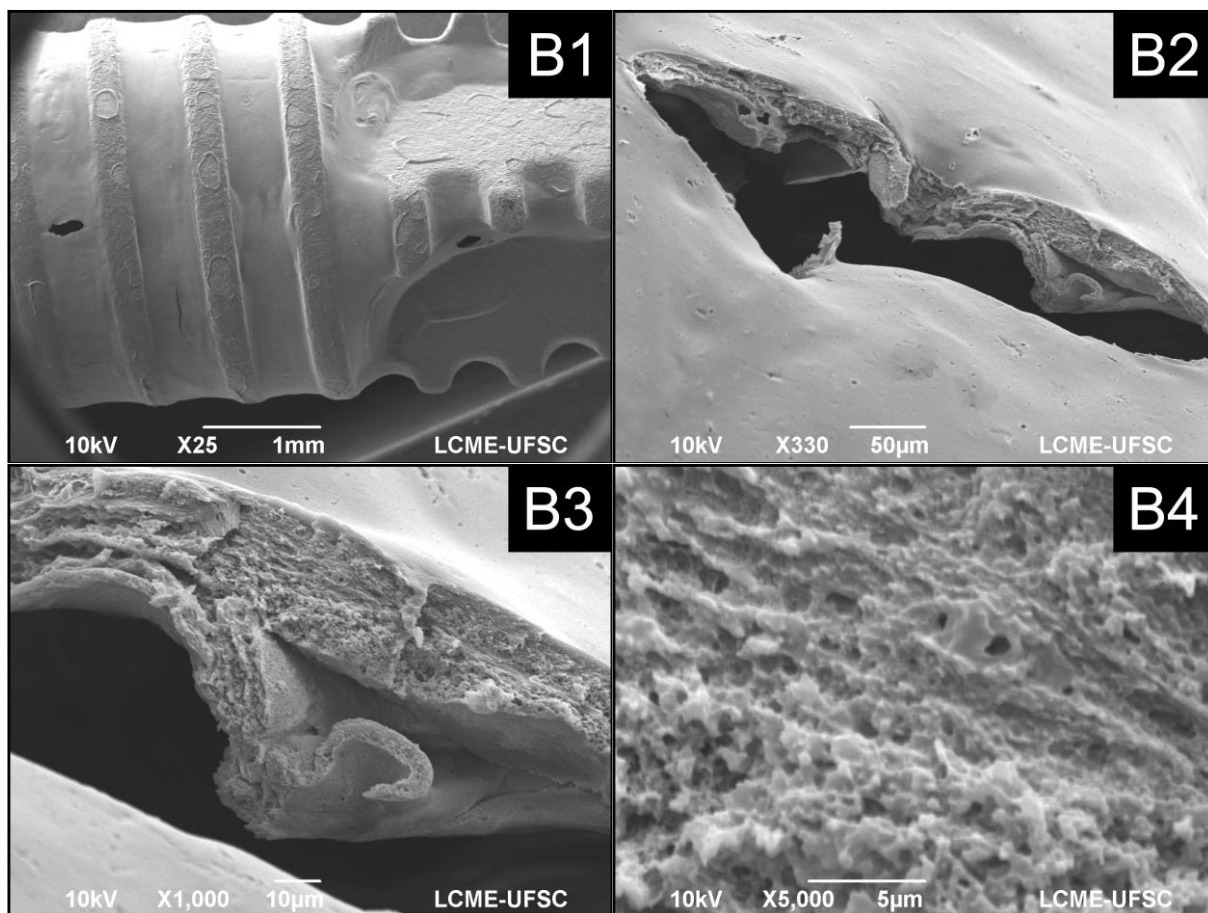


FIGURA 4 – Diferentes ampliações do segundo implante (B) expostas nesta figura. Novamente nenhuma região com nanotubos visíveis foi encontrada, porém neste implante observamos um pequeno defeito na cobertura, neste defeito é possível observar a espessura da camada de polímeros obtida.

6 DISCUSSÃO

Nos dias de hoje, a odontologia vivencia algo muito melhor do que foi vivido no século passado, perdas dentais eram muito mais comuns, porém ao contrário do que pode parecer, estudos epidemiológicos mostram que houve um grande aumento por procedimentos reabilitadores/restauradores, consequências do aumento populacional, maior expectativa de vida e o envelhecimento dessa população (ZAVANELLI et al., 2011).

Não há dúvidas de que o tratamento com implantes osseointegrados trouxe inúmeros benefícios e vantagens aos pacientes e ao sistema mastigatório, trazendo maior conforto, segurança, longevidade e maior grau de satisfação em relação aos tratamentos convencionais (BRANEMARK et al., 1969)

Atualmente, os implantes osseointegrados são tratamentos extremamente seguros, com taxas de sucesso em média de 94,4%, podendo variar de 76,0% a 98,7%, e mesmo em situações críticas como em áreas enxertadas e protocolos de carga imediata, verifica-se altos índices de sucesso, sendo 86,8% e 94,0%, respectivamente. No entanto, ainda existe uma pequena percentagem (menos de 10,0%) em que os implantes podem ser perdidos, fraturados, apresentar-se com mobilidade, ser motivo de dor ou infecção, aspectos que coincidem radiograficamente com doença peri-implantar ou perda óssea marginal crítica (PAQUETTE, BRODALA, WILLIAMS, 2006)

Buscar um melhor e maior contato osso/implante é uma forma de tornar o tratamento mais seguro, rápido e viável, por isso, a otimização da superfície do implante é uma das formas mais estudadas para aprimorarmos o tratamento com implantes, a fim de influenciar diretamente essa união entre células e superfície. O processo de reparo, agilizando e aumentando a aposição óssea pode ser estimulado pela superfície dos implantes. Então, passamos de uma superfície somente usinada e bruta, para uma superfície que trará uma melhor resposta biológica, diminuindo o tempo de osseointegração (GOTO et al., 2004).

Morra et al. (2005) estudaram a relação entre a topografia da superfície de implantes e a capacidade do osteoblasto em produzir matriz, concluindo que a topografia pode afetar diretamente a resposta celular. Superfícies tratadas

promovem um melhor espaço e volume para a migração e acomodação celular, facilitando a osteogênese.

Zavanelli et al., 2011, estudaram os fatores de risco associados ao insucesso dos implantes, e concluíram que não há fator de risco, tanto local ou sistêmico que contraindique o tratamento com implantes, porém alertam que a taxa de sucesso diminui em pacientes fumantes, e que posteriormente à instalação a infecção é uma das principais causas de perdas de implantes.

Moslesmi et al., 2016, analisaram os efeitos do uso de antibiótico sistêmico sobre o sítio de instalação de implantes, e concluíram que, a administração de amoxicilina sistêmica durante uma semana após cirurgias simples de um estágio não foi efetiva na redução de bactérias sobre a região peri-implantar quando comparado ao grupo controle. Além disso, observaram uma diminuição no número de bactérias facultativas sensíveis ao antibiótico e um aumento no número de bactérias anaeróbicas resistentes ao antibiótico, quando comparadas ao grupo controle, sugerindo a ineficácia do antibiótico, quando administrado de maneira sistêmica.

Dentro deste contexto, a doxiciclina tem sido frequentemente pesquisada desde a sua descoberta. Sua aplicabilidade é ampla dentro e fora da odontologia, se estendendo desde marcadores de formação óssea no campo da imagiologia por fluorescência até o tratamento de periodontites e peri-implantites. E isso se deve, sobretudo, às suas propriedades antibacteriana, anti-inflamatória, anti-colagenases, imunossupressora e anti-osteoclastogênese, sugerindo uma excelente aplicação no sistema de entrega local desta droga no sítio de implantes osseointegrados, já que suas propriedades oferecem inúmeras vantagens a região operada, além da maior estabilidade química comparada às outras tetraciclinas e às concentrações bactericidas alcançadas no fluido gengival com a sua aplicação local. (BASSETTI et al., 2013; CATON, RYAN, 2011).

Em outro estudo, foi utilizado a doxiciclina, na forma de gel 10%, sobre defeitos críticos criados na calvária de ratos, que mostrou efeitos positivos no processo de cicatrização. Esse processo foi potencializado no grupo que teve associação de gel de doxiciclina a Bio-Oss, também confirmando o efeito benéfico da doxiciclina na cicatrização óssea (SILVA, 2015).

As técnicas de revestimento de biomateriais tem se tornado cada vez mais estudadas para a liberação local de fármacos. Uma vez que a liberação local é mais eficaz e mais conservadora que a administração sistêmica. Além de propiciar um maior controle, inúmeras nanopartículas podem ser incorporadas e administradas, de uma maneira muito menos agressiva para o organismo humano. Outra vantagem, além do controle da infecção é incorporar substâncias que estimulam o processo de cicatrização (TOBIN EJ, 2017).

Moseke et al. (2012) demonstraram um método para potencializar o carregamento de implantes dentários. Matrizes de nanotubos foram incorporados na superfície de implantes de titânio através de um processo de anodização. Esses implantes tratados com nanotubos não só possibilitavam um carregamento muito maior de agentes antimicrobianos, como também possibilitavam ajustar diferentes cinéticas de liberação do fármaco, fazendo com que esta seja entregue de uma maneira mais controlada no meio inserido.

Jain, (2000) descrevia, ainda no começo do século, o crescente interesse das empresas na administração de fármacos utilizando polímeros de PLGA biodegradáveis devido à sua excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. Além disso, eles são fáceis de serem manipulados em dispositivos portadores de fármacos foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA). Além disso são versáteis para a entrega de inúmeras classes de fármacos. As microesferas de PLGA em particular, podem ser modificadas através da composição, peso molecular, tamanho dos poros, entre outros, para se adaptar ao fármaco que será carregado.

A quitosana é outro biomaterial que está atraindo os olhares da comunidade científica, devido a suas características de biocompatibilidade e por ser também biodegradável. Algumas propriedades favoráveis para o revestimento dos implantes são que a quitosana possui uma atividade antimicrobiana e uma sensibilidade maior ao pH do meio, degradando-se com mais velocidade quando exposta a meio ácido, meio ácido este que é uma das características de um processo inflamatório. Guaresti, et al. (2017), avaliaram as características de um hidrogel de quitosana e este mostrou-se pH sensível, biocompatível e bacteriostático, características promissoras para um biomaterial, além disso, sua biodegradabilidade e não toxicidade promovem o uso de quitosana como um sistema de liberação controlada de drogas para o corpo humano.

7 CONCLUSÃO

Os implantes testados, mesmo depois de serem lavados em água destilada durante uma hora, não perderam a camada de polímeros sobre a sua superfície, mantendo a doxiciclina dentro dos nanotubos. A técnica de recobrimento utilizada neste estudo foi eficaz para revestir os implantes nano tratados e carregados com doxiciclina

8 REFERÊNCIAS

- AMSEN, D.; DE VISSER, K.E.; TOWN, T. Approaches to determine expression of inflammatory cytokines. **Methods Mol Biol** 2009;511:107-142.
- BABU, A.; RAMESH, R. Multifaceted Applications of Chitosan in Cancer Drug Delivery and Therapy. 2017, **Mar. Drugs** 2017, 15, 96;
- BASSETTI, M. et al. Anti-infective therapy of peri-implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial. **Clinical Oral Implant Research**, p. 1-9, 2013.
- BAZILEVSKY, A.V. et al. Room-temperature, open-air, wet intercalation of liquids, surfactants, polymers and nanoparticles within nanotubes and microchannels. **J Mater Chem** 2008;18:696-702.
- BAZILEVSKY, A.V. et al. Selective intercalation of polymers in carbon nanotubes. **Langmuir** 2007;23:7451-7455.
- BERGER, S.A. et al. The origin for tubular growth of TiO₂ nanotubes: A fluoride rich layer between tube-walls. **Surface Science** 2011;605:L57-L60.
- BRANEMARK, P.I. et al. Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. Experience from a 10-year period. **Scand J Plast Reconstr Surg**. 1977; 11 (suppl 16): 1-132
- BRANEMARK, P.I. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I: experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg**. 1969;3(2):81- 100.
- MOSEKE, C. et al. TiO₂ nanotube arrays deposited on Ti substrate by anodic oxidation and their potential as a long-term drug delivery system for antimicrobial agents / **Applied Surface Science** 258 (2012) 5399– 5404
- CARVALHO, N.B. et al. Treatment Planning in Implantodontology: a Contemporary View. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-Fac. Camaragibe** v.6, n.4, p. 17 - 22, outubro/dezembro 2006

CATON, J.; RYAN, M.E. Clinical studies on the management of periodontal diseases utilizing subantimicrobial dose doxycycline. **Pharmacological Research**, v. 63, n. 2, p. 114–120, 2011.

CHANG, C.Y.; YAMADA, S. Evaluation of the regenerative effect of a 25% doxycycline-loaded biodegradable membrane for guided tissue regeneration. **J Periodontol**. 2000 Jul;71(7):1086-93.

CHUNG, Y.C.; CHEN, C.Y. Antibacterial characteristics and activity of acid soluble chitosan. **BioresourTechnol**. V. 99, p. 2806-14, 2007.

COSTA, T.A.C. et al. Clinical and morphometric evaluations of the angiogenic capacity of chitosan membrane in rabbit corneas. **Arq Bras Oftalmol**. 2006;69(6):817-21

CRANIN, A.N. et al. The requirements and clinical performance of dental implants. **Biocompatibility of dental materials** 1982; 4: 92-102

DEMETRESCU, I.; PIRVU, C.; MITRAN, V. "Effect of nano-topographical features of Ti/TiO₂ electrode surface on cell response and electrochemical stability in artificial saliva". **Bioelectrochemistry**, v.79, p.122-129, 2010.

DIAS, F.S. et al (2008). «Um sistema simples para preparação de microesferas de quitosana». **Química Nova**. 31 (1): 160-163.

DOUGLAS, C.W.; SHIH, A.; OSTRY, L. Will there be a need for complete dentures in the United States in 2020? **J Prosthet Dent**. 2002;87(1):5-8.

TOBIN, E.J. Recent coating developments for combination devices in orthopedic and dental applications: A literature review, **Adv. Drug Deliv. Rev.** (2017).

FAN, X. et al. Fabrication of TiO₂ nanotubes on porous titanium scaffold and biocompatibility evaluation in vitro and in vivo. **J Biomed Mater Res A** 2012;100:3422-3427.

FRANSSON, C. et al. Prevalence of subjects with progressive bone loss at implants. **Clin Oral Implants Res** 2005;16:440-446.

GARRIPELLI, V.K. et al. A novel thermosensitive polymer with pH-dependent degradation for drug delivery. **Acta biomaterialia** 2010;6:477-485.

GOTFREDSEN, K.; KARLSSON, U. A prospective 5-year study of fixed partial prostheses supported by im- plants with machined and TiO₂-blasted surface. **J Prosthodont.** 2001;10:2-7.

GOTO, T. et al. The initial attachment and subsequent behavior of osteoblastic cells and oral epithelial cells on titanium. **J Biomed Mater Eng**, v. 14, p.537-544, 2004.

PAQUETTE, D.W.; BRODALA, N.; WILLIAMS, R.C. Risk factors for endosseous dental implant failure. **Dent Clin N Am.** 2006;50(3):361-74.

GUARESTI, A. et al. Synthesis and characterization of a biocompatible chitosan-based hydrogel cross-linked via 'click' chemistry for controlled drug release. **International Journal of Biological Macromolecules** 102 (2017) 1–9

HONG, S.C. et al. 2017 Chitosan-Based Multifunctional Platforms for Local Delivery of Therapeutics. **Mar. Drugs**, 15, 60.

HSU, S.H. et al. Characterization and biocompatibility of a titanium dental implant with a laser irradiated and dual-acid etched surface. **Biomed Mater Eng**, 2007;17:53-68.

HUEBSCH, N.; MOONEY, D.J. Inspiration and application in the evolution biomaterials. **Nature** 2009; 462: 426-432

JAIN, R.A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. **Biomaterials** 21 (2000) 2475-2490

VENKATESAN, J. et al. Chitosan as a vehicle for growth factor delivery: Various preparations and their applications in bone tissue regeneration, **International Journal of Biological Macromolecules**

POPAT, K.C. et al. 2007, Decreased Staphylococcus epidermis adhesion and increased osteoblast functionality on antibiotic-loaded titania nanotubes **Biomaterials** 28 (2007) 4880–4888

KALSI, R.; VANDANA, K.L.; PRAKASH, S. Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. **Journal of Indian Society of Periodontology** 2011;15:304-309.

KLOKKEVOLD, P.R. et al. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface, **Clin. Oral Implants Res.** 1997;8:442-7.

MANO, J. et al. Bioinert, Biodegradable and Injectable Polymeric Matrix Composites for Hard Replacement: State of the Art and Recent Developments, **Composites Science and Technology**, v. 64, pp. 789–817, 2004.

MISCH, C.E. Contemporary implant dentistry. *Implant Dentistry* 1999; 8: 90 [DOI: 10.1097/00008505-199901000-00013]

MORRA, C.M. et al. Surface analysis and effect on interfacial bone microhardness of collagen-coated titanium. **Int J Oral Maxillofac Implants.** 2005 Jan-Feb;20(1):23-30.

MOSLEMI, N. et al. Effect of Postoperative Amoxicillin on Early Bacterial Colonization of Peri-Implant Sulcus: A Randomized Controlled Clinical Trial. **J Dent**, 2016, Vol.13, No.5

PILLIAR, R.M. Overview of surface variability of metallic endosseous dental implants: textured and porous surface-structured designs. **Implant Dent.** 1998;7:305-14.

RENVERT, S. et al. Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. **Clin Oral Implants Res** 2007;18:509-516.

ROOS-JANSKER, A.M. et al. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: presence of peri-implant lesions. **Journal of clinical periodontology** 2006;33:290-295.

SHAHABOOEI, M. et al. A histomorphometric study of the effect of doxycycline and erythromycin on bone formation in dental alveolar socket of rat. **Adv Biomed Res** 2015;4:71.

SILVA, A.C. Gel de Doxiciclina a 10% como inibidor da osteoclastogênese na regeneração óssea, associado ou não ao Bio-Oss – Estudo histomorfométrico e tomográfico em ratos. 2015, 98.. Tese de Mestrado. Alfenas-MG

SINHA-Ray, S.; SAHU, R.P.; YARIN, A.L. Nano-encapsulated smart tunable phase change materials. **Soft Matter** 2011;7:8823-8827.

SMITH, G.C. et al. Soft tissue response to titanium dioxide nanotube modified implants. **Acta biomaterialia** 2011;7:3209-3215.

SYKARAS, N. et al. Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2000; 15: 675-690 [PMID: 11055135]

SHOKUH FAR, T. et al. Intercalation of anti-inflammatory drug molecules within TiO₂ nanotubes. **RSC Adv** 2013;3:17380-17386.

WALTER, M.S. et al. Bioactive implant surface with electrochemically bound doxycycline promotes bone formation markers in vitro and in vivo. **Dent. Mater.** 30 200–14.

WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T.; ANDERSSON B. Bone tissue response to commercially pure titanium implants blasted with fine and coarse particles of aluminum oxide. **Int J Oral Maxillofac Implants** 1996; 11: 38-45 [PMID: 8820121]

WENNERBERG, A. ALBREKTSSON, T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. **Clin. Oral Impl. Res.** 20 (Suppl. 4), 2009; 172–184. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01775.x

WENNERBERG, A. ALBREKTSSON, T. On Implant Surfaces: A Review of Current Knowledge and Opinions. **Int J Oral Maxillofac Implants** 2009;24:63–74

XING, R. et al. Antibacterial effect of doxycycline-coated dental abutment surfaces. **Biomed. Mater.** 10 (2015) 055003

YOO, S.Y. et al. 2015, Biochemical Responses of Anodized Titanium Implants with a Poly(lactide-co-glycolide)/Bone Morphogenic Protein-2 Submicron Particle Coating. Part 1: An In Vitro Study. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants** v. 30, n. 3, p. 512 – 518, 2015

ZITZMANN, N.U.; BERGLUNDH, T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. **Journal of clinical periodontology** 2008;35:286-291.

ZOU, G.K. et al. Effects of local delivery of bFGF from PLGA microspheres on osseointegration around implants in diabetic rats. 2012, **Oral and Maxillofacial Surgery** Vol. 114 No. 3 p. 284-289.