



Incorporação de magnésio a partir de diferentes fontes por meio do plasma eletrolítico de oxidação e sua influência nas características de superfície e atividade antibacteriana do titânio

Palavras-Chave: Titânio. Implantes dentários. Biofilmes.

Autores/as:

Karen Midori Yamashita – UNICAMP

Caroline Dini – UNICAMP

Prof. Dra. Elidiane Cipriano Rangel – UNESP

Prof. Dr. Nilson Cristino da Cruz – UNESP

Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão (Orientador) – UNICAMP

INTRODUÇÃO

Atualmente os implantes dentários têm sido amplamente utilizados para a reabilitação de pacientes que tiveram perda total ou parcial de elementos dentários. Porém, ainda existem casos de insucesso do tratamento reabilitador sob implantes relacionados principalmente a falhas no processo de osseointegração em situações clínicas desafiadoras e ao acúmulo de biofilme e evolução para inflamações peri-implantares. Assim, vários tratamentos de superfície têm sido propostos com o objetivo de modificar as propriedades de superfície do titânio para melhorar tanto o processo de osseointegração como reduzir a colonização microbiana na superfície de implantes dentários.

Existem vários tipos de tratamento de superfície, a técnica chamada de plasma eletrolítico de oxidação (PEO) ou oxidação por micro arco (MAO) é um exemplo de tratamento que tem sido muito utilizado (Nagay et al., 2019; Costa et al., 2020; Dini et al., 2020). Dentre os elementos que podem ser incorporados por meio do PEO, o Mg é um íon que apresenta benefícios em relação à cicatrização de feridas e regeneração de tecidos moles e duros (Jung et al., 2019). Além disso, alguns estudos sugerem uma potencial atividade antibacteriana em função da alcalinidade do meio produzida pela presença dos íons Mg^{2+} (Robinson et al., 2010) e também pela hipótese de que o Mg possui atividade bacteriostática, por meio do rompimento da parede celular e degradação de proteínas, levando a morte celular das bactérias conforme demonstrado em estudo utilizando o *Staphylococcus aureus* (Zhao et al., 2019).

Apesar de estudos prévios apresentarem resultados positivos com a incorporação de Mg na superfície de implantes dentários, o papel da incorporação de íons de Mg por meio de diferentes fontes através do PEO na atividade antibacteriana e características de superfície do titânio ainda não

foi estudado. Desta forma o objetivo do presente estudo foi incorporar o íon Mg através de diferentes fontes e analisar sua influência nas características de superfície e sua atividade antimicrobiana.

METODOLOGIA

Discos de titânio comercialmente puro (TiCP) Grau 2 foram utilizados, compostos quimicamente (em % massa) de 99,7 Ti; 0,16 O₂; 0,004 N₂; 0,006 C; 0,0019 H₂ e 0,12 Fe, utilizados nas dimensões de 10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura. Os discos foram polidos com lixas metalográficas com granulações #320 e #400 e limpos em cuba ultrassônica com acetona, álcool e água destilada e secas com jatos de ar quente (Barão et al., 2011).

Em seguida os discos receberam tratamento de plasma eletrolítico de oxidação, em uma cuba eletrolítica contendo solução de 0,2 M de acetato de cálcio, 0,02 M de glicerofosfato de sódio e 0,04 M e 0,12 M das fontes de magnésio acetato de magnésio (MgAc) e nitrato de magnésio (MgN) e o grupo controle foi tratado somente com o acetato de cálcio e glicerofosfato de sódio (CaP). Por fim as amostras foram lavadas com água deionizada e secas com jatos de ar quente (Beline et al., 2016).

Foram realizadas então as caracterizações de superfície e ensaio microbiológico, conforme detalhado na Fig. 1.

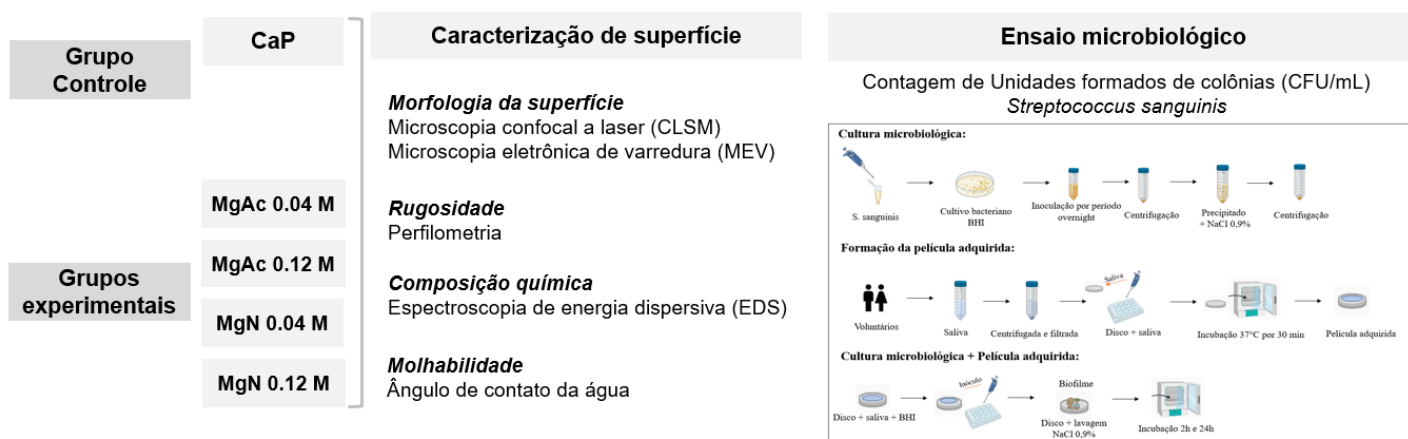


Figura 1. Desenho experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incorporação de magnésio na superfície do titânio promoveu modificações físico-químicas e topográficas na superfície. A amostra controle CaP, e as experimentais de MgAc 0,04 e MgAc 0,12 apresentaram característica vulcânica com a presença de poros de diferentes diâmetros e as superfícies experimentais MgN 0,04 e MgN 0,12 apresentaram superfícies irregulares com agregados não uniformes e presença de crateras, como observado na Fig 2. Com relação aos elementos químicos e as concentrações de cada elemento nas superfícies controle e experimental,

foi observado que no grupo controle CaP o elemento Ca apresentou uma concentração de 14,8% e P 11,4%. Nos grupos experimentais MgAc 0,04 apresentou uma concentração de Ca de 22,2%, P 18,8% e Mg 2,3%. O grupo MgAc 0,12 apresentou uma concentração de Ca de 24,2%, P 20,8%, Mg 4,3%. O grupo MgN 0,04 obteve uma concentração de Ca de 5,3%, P 4,8%, Mg 2,9%; enquanto o grupo MgN 0,12 apresentou 12,9% de Ca, 10,6% de P e 4,8% de Mg (Fig. 3). Uma

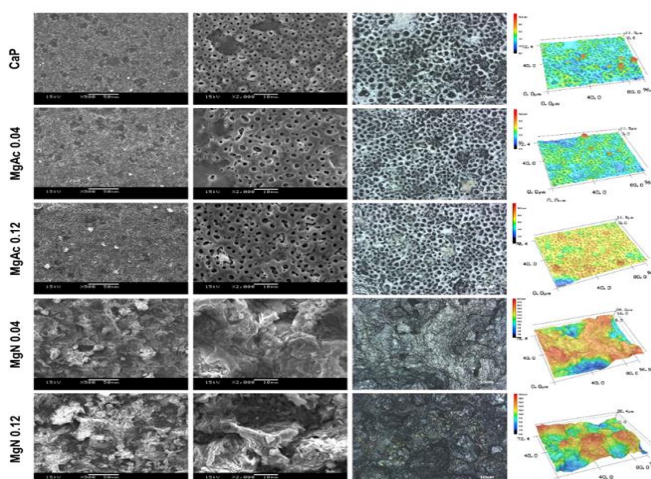


Figura 2. Micrografias obtidas a partir do microscópio eletrônico de varredura nas magnificações de 500 e 2000x e imagens bi e tridimensionais obtidas a partir de microscópio confocal a laser.

maior rugosidade média foi observada para os grupos CaP, MgN 0,04 e MgN 0,12, comparadas as amostras MgAc 0,04 e MgAc 0,12 que apresentaram os menores valores (Fig. 4). Esses resultados podem ter influência da fonte de nitrato utilizada, como observado por Nagay et al. (2019), que utilizou o nitrato de bismuto e obteve uma superfície irregular com crateras.

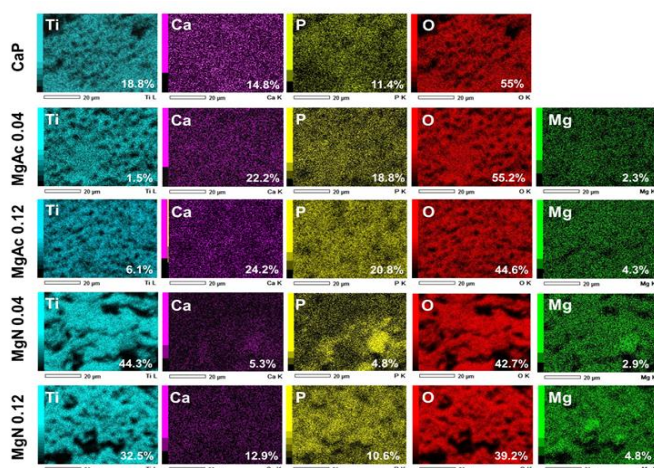


Figura 3. Mapeamento químico por espectroscopia de energia dispersiva das concentrações de cada elemento nas superfícies (% em peso).

a maior rugosidade (Shi et al., 2009). Além disso, a superhidrofilicidade encontrada para MgN 0,04 e MgN 0,12 pode ser atribuída a presença do nitrogênio na estrutura de $Mg(NO_3)_2$, resultando em vacâncias de oxigênio que podem ser ocupadas por água e por grupos hidroxila que tornam a superfície mais molhável (Garlisi et al., 2018).

A contagem de unidades formadoras de colônias demonstrou que as superfícies experimentais com a incorporação de magnésio não

Com relação a molhabilidade da superfície, os grupos MgN 0,04 e MgN 0,12 apresentaram os menores valores (Fig. 5). Considerando que o aumento da rugosidade pode levar a uma maior molhabilidade da superfície, esse pode ser um fator que explica os valores de molhabilidade encontrados, uma vez que para todos os parâmetros de rugosidade os grupos com fonte de nitrato de magnésio apresentaram

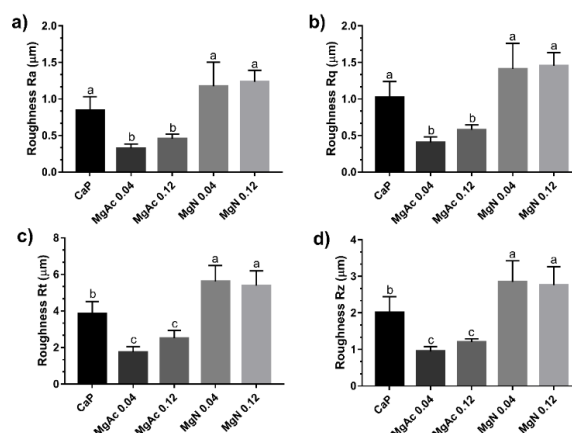


Figura 4. Parâmetros de rugosidade da superfície (R_a = rugosidade aritmética, R_q = média da raiz média quadrada, R_t = altura máxima e R_z = altura média de pico a vale) por perfilometria. Letras diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$; teste Tukey HSD).

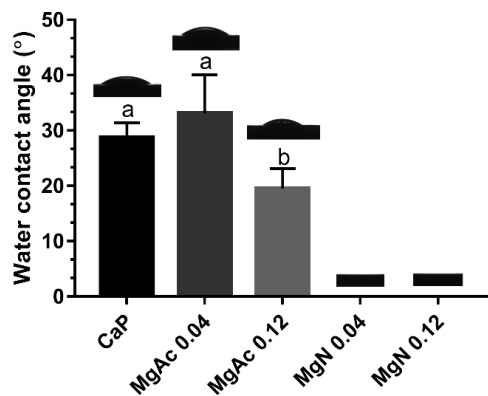


Figura 5. Ângulo de contato da água e imagens representativas do ângulo de contato nas superfícies. Letras diferentes indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$; teste Tukey HSD).

apresentaram nenhuma redução bacteriana (Fig. 6). No entanto, alguns estudos têm observado uma diminuição significativa de bactérias nas superfícies de implantes revestidos com íon Mg comparado a superfícies controle (Khan et al., 2020; Zhao et al., 2019). Estes estudos testaram altas concentrações de magnésio entre 5% e 15%, diferentemente do presente estudo em que obtivemos concentrações de 2,3% a 4,8% de Mg. Dessa forma, este pode ser um fator que explica a ausência de redução bacteriana.

O desenvolvimento de superfícies rugosas e com maior molhabilidade pode favorecer a proliferação celular

e biocompatibilidade dos implantes (Shi et al., 2009). Afinal, essas características de superfície permitem a ativação de macrófagos, que são responsáveis por limpar a superfície e ativar agentes anti-inflamatórios promovendo a cicatrização e aumento da osseointegração (Hotchkiss et al., 2016). A utilização do íon Mg sugere características de superfície promissoras, entretanto serão necessários mais estudos com concentrações superiores de Mg para identificação da presença ou não de atividade antimicrobiana.

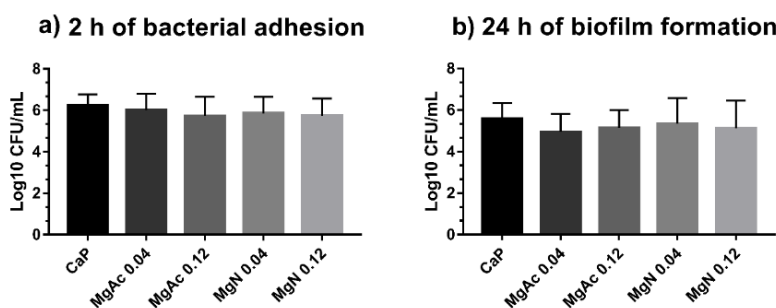


Figura 6. UFC (\log_{10} UFC/mL) do *S. sanguinis* após 2 h de adesão (a) e após 24 de formação de biofilme (b).

CONCLUSÕES:

Conclui-se que a incorporação de magnésio leva à diferentes características de superfície, incluindo uma superfície rugosa e com maior molhabilidade que podem favorecer a resposta biológica de implantes dentários. No entanto, estudos futuros são necessários com maiores concentrações do íon magnésio para determinar se há atividade antibacteriana.

BIBLIOGRAFIA:

Barão V, Mathew M, Assunção W, Yuan J, Wimmer M, Sukotjo C. The role of lipopolysaccharide on the electrochemical behavior of titanium. *J Dent Res.*, 2011;90(5):613–8.

Beline T, Marques I, Matos A, Ogawa A, Ricomini A, Rangel E, da Cruz , Sukotjo C, Mathew M, Landers R. Production of a biofunctional titanium surface using plasma electrolytic oxidation and glow-discharge plasma for biomedical applications. *Biointerphases*, 2016; 11:11–13.

Costa RC, Souza JGS, Cordeiro JM, Bertolini M, de Avila ED, Landers R, et al. Synthesis of bioactive glass-based coating by plasma electrolytic oxidation: Untangling a new deposition pathway toward titanium implant surfaces. *J Colloid Interface Sci.* 2020 Nov 1;579:680-98. doi: 10.1016/j.jcis.2020.06.102.

Dini C, Nagay B, Cordeiro J, Cruz N, Rangel E, Filho A, et al. UV-photofunctionalization of a biomimetic coating for dental implants application. *Mater Sci Eng C* 2020. 110:110657. doi: 10.1016/j.msec.2020.110657.

Garlisi, C.; Lai, C.; George, L.; Chiesa, M.; Palmisano, G. Relating Photoelectrochemistry and Wettability of Sputtered Cu- and N-Doped TiO₂ Thin Films via an Integrated Approach. *J. Phys. Chem. C* 2018, 122, 12369–12376.

Hotchkiss M.; Reddy B.; Hyzy L.; Schwartz Z.; Boyan B , Olivares-Navarrete R. Titanium surface characteristics, including topography and wettability, alter macrophage activation. *Acta Biomaterialia*, v. 31, p. 425–434, 2016.

Jung O, Smeets R, Hartjen P, Schnettler R, Feyerabend F, Klein M, Wegner N, Walther F, Stangier D, Henningsen A, Rendenbach C, Heiland M, Barbeck M, Kopp A. Improved In Vitro Test Procedure for Full Assessment of the Cytocompatibility of Degradable Magnesium Based on ISO 10993-5/-12. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20:255.

Khan AS, Awais M. Low-cost deposition of antibacterial ion-substituted hydroxyapatite coatings onto 316l stainless steel for biomedical and dental applications. *Coatings.* 2020;10:880. doi: Org/10.3390/Coatings10090880.

Nagay BE, Dini C, Cordeiro JM, Ricomini-Filho AP, de Avila ED, Rangel EC, et al. Visible-light-induced photocatalytic and antibacterial activity of tio₂ codoped with nitrogen and bismuth: new perspectives to control implant-biofilm-related diseases. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2019 May;11(20):18186-202. doi: 10.1021/acsami.9b03311.

Robinson DA, Griffith RW, Shechtman D, Evans RB, Conzemius MG. In vitro antibacterial properties of magnesium metal against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomater.* 2010 May;6(5):1869-77. doi: 10.1016/j.actbio.2009.10.007.

Shi X; Wang Q; Wang F; Ge S. Effects of electrolytic concentration on properties of micro-arc film on Ti6Al4V alloy. *Mining Science and Technology (China)*, v. 19, n. 2, p. 220–224, 2009.

Zhao Q, Yi L, Jiang L, Ma Y, Lin H, Dong J. Osteogenic activity and antibacterial ability on titanium surfaces modified with magnesium-doped titanium dioxide coating. *Nanomedicine (Lond).* 2019 May;14(9):1109-33. doi: 10.2217/nnm-2018-0413.