



Tema: Engenharia de superfície

DESENVOLVIMENTO DE UMA BASE DE CARACTERÍSTICAS DE BIOMATERIAIS PARA AUXILIAR O CONHECIMENTO DA OSSEOINTEGRAÇÃO EM TiO₂*

Mateus Luiz Gamba¹
 Daniel Basílio Marcelo²
 Fabiano Rodrigues Fernandes¹
 Alana Witt Hansen³
 Leonardo Marasca Antonini⁴
 Célia de Fraga Malfatti⁵

Resumo

O titânio e suas ligas são aplicados em grande escala em implantes ósseos por apresentarem excelentes resultados de biocompatibilidade. No entanto, ainda não existe um consenso na literatura com relação à influência das características morfológicas destes implantes na osseointegração, principalmente na definição da melhor rugosidade e energia superficial. Vários trabalhos têm sido realizados com o intuito de comparar diferentes tratamentos superficiais empregados para otimizar a adesão, o crescimento e a proliferação celular. O presente trabalho tem como objetivo apresentar uma base de dados sobre características superfícies *versus* osseointegração para experimentos de biocompatibilidade realizados *in vitro*. Foram feitas coletas e análise de dados qualitativos usando métodos analíticos em artigos científicos publicados em periódicos internacionais, sendo considerados na pesquisa artigos que utilizaram superfícies de Ti/TiO₂ e células osteoblásticas. Os principais atributos definidos para a base de dados foram rugosidade, tamanho da célula, energia da superfície e/ou ângulo de contato, tipo de tratamento superficial, viabilidade e a resposta observada na cultura celular. Espera-se que esse artigo contribua para que futuros trabalhos possam utilizar métodos e estudos que permitam auxiliar na descoberta de conhecimento através de padrões que acelerem o processo de osseointegração impactando diretamente na recuperação do paciente implantado e na sua qualidade de vida.

Palavras-chave: Tratamento superfícies; Osseointegração; TiO₂; Base de dados;

DEVELOPMENT OF A BASE CHARACTERISTICS BIOMATERIALS TO AID IN KNOWLEDGE OSSEOINTEGRATION TiO₂

Abstract

Titanium and its alloys are widely used as bone implants due to their excellent biocompatibility. However there is no consensus in the literature regarding the morphological characteristics of implants influence in osseointegration, especially in defining the best roughness and surface energy. Several studies have been conducted in order to compare different employed surface treatments aiming the optimization of cell adhesion, growth and proliferation. This paper aims to introduce a database on surfaces versus osseointegration characteristics for biocompatibility experiments performed *in vitro*. Qualitative data were collected and analyzed applying analytical methods reported in articles published in journals regarding surface of Ti/TiO₂ and osteoblast cells. The main attributes defined for the database were: roughness, cell size, surface energy and/or contact angle, type of surface treatment, viability and the response of cell culture. It is expected that this paper contributes to the future works in the discovery of knowledge through standards to accelerate the osseointegration process, directly impacting on the recovery and life quality of the implanted patients.

Keywords: Surface treatments; Osseointegration; TiO₂; Database;

¹ Bacharel em Ciência da Computação, Mestrando, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

² Bacharel em Sistema da Informação, Mestrando, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Biomédica, Mestranda, Depto. de Engenharia, Laboratório de Pesquisa em Corrosão (Lapec), UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴ Msc. Químico Industrial, Depto. de Engenharia, Lapec, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵ Engenheira Metalúrgica. Dr. Coordenadora. Depto. de Engenharia, Lapec, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

1 INTRODUÇÃO

Dentre os diversos materiais utilizados com finalidades biomédicas, destaca-se atualmente o titânio (Ti) e suas ligas, por ser um material biocompatível e que apresenta boa resistência à fadiga e a corrosão. Essas características levam-no a ser principalmente empregados na fabricação de próteses ortopédicas e implantes dentários [1].

Existem vários métodos para acelerar o processo de osseointegração do Ti, visto que naturalmente sua superfície não apresenta esta propriedade. Pesquisadores têm procurado modificar a superfície do Ti, por processos físicos e químicos, com o objetivo de diminuir o tempo de osseointegração de um implante [2].

Interações entre biomateriais e células dependem principalmente das características da superfície do material, tais como a energia superficial, a composição química, a estrutura, a rugosidade, a topografia e as condições dos fluidos ambientais [3].

Em indivíduos saudáveis, a osseointegração ocorre de modo regular, porém em indivíduos que apresentam patologias, este processo é prejudicado [4]. Dessa forma o desenvolvimento de superfícies de implantes que acelerem a osseointegração se faz necessário.

Neste contexto, a partir do presente trabalho pretende-se apresentar uma comparação entre os resultados obtidos em diferentes experimentos realizados *in vitro* sobre uma superfície de Ti/TiO₂, avaliando-se para isso as características superficiais *versus* a osseointegração. Pretende-se, a partir desse levantamento, obter uma base de dados que possa contribuir para o entendimento do efeito das características da superfície sobre o processo de osseointegração.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas de dados para elaboração da base de dados baseou-se em análises qualitativas dos métodos analíticos utilizados em artigos científicos publicados em periódicos internacionais.

Foram utilizados somente periódicos internacionais da plataforma Science Direct, sendo que atualmente o Science Direct possui mais de 2.500 revistas científicas, mais de 20.000 livros e mais de 12 milhões de artigos nas áreas científica, tecnológica e médica, representando aproximadamente 25% da produção científica mundial [5].

As principais palavras chaves utilizadas para o filtro da pesquisa foram: TiO₂, *osteoblasts* e *surfaces*; TiO₂, *osteoblasts* e *roughness*; TiO₂, *osteoblasts* e *wettability*.

Dentre os 1700 artigos encontrados, até o momento foram utilizados os seguintes: Feng et al. [3], Györgyey et al. [4], Neupane et al. [6], Hori et al. [7], Qu et al. [8], Sugita et al. [9], Brammer et al. [10] e An et al. [11], os quais apresentam um monitoramento mais completo das propriedades que estavam sendo avaliadas no presente estudo.

A primeira etapa foi determinar as principais características superficiais que facilitam a biofixação dos osteoblastos em superfície de Ti/TiO₂. Essas características foram definidas a partir dos resultados obtidos por diferentes artigos [1-4,6-13].

A segunda etapa consistiu na pesquisa e estudo de artigos que cumpriram os requisitos para que fossem inseridos na tabela da base de dados e a terceira etapa foi à extração, análise e inserção dos valores na tabela.

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As informações retiradas dos artigos [3,4,6-11] foram organizadas em quatro grupos principais: descrição, parâmetros dependentes do tratamento de superfície, variáveis do ensaio *in vitro* e resposta da osseointegração *in vitro*.

O primeiro grupo, identificado como descrição, está contido em todas as tabelas, como forma de correlacionar os grupos entre si.

Os parâmetros dependentes do tratamento de superfície (Tabela 1), formaram o segundo grupo, que foi dividido nas seguintes colunas: estrutura, rugosidade (Ra), energia superficial, ângulo de contato (água) e caráter hidrofílico ou hidrofóbico.

O terceiro grupo foi composto pelas variáveis do ensaio *in vitro* (Tabela 2): origem das células osteoblásticas, solução utilizada na cultura de células, tempo de duração do ensaio.

Os resultados da cultura celular foram avaliados através do ensaio de proliferação celular (MTT), que quantifica espectrofotometricamente o crescimento, a viabilidade e a proliferação celular, e de atividade da fosfatase alcalina (ALP), que é sintetizada pelos osteoblastos, e está envolvida nos processos de formação e mineralização óssea (Tabela 3).

Tabela 1. Parâmetros Dependentes do Tratamento de Superfície

Tratamento	Estrutura	Rugosidade (Ra)		Energia Superficial	Ângulo de Contato (solução: água)	Caráter Hidrofílico ou Hidrofóbico
		Nano (nm)	Micro (µm)			
Lixada com grana 120 [3]	Al ₂ O ₃ até Camada Natural de TiO ₂		0,09	33 mJ.m ⁻²		
Lixada com grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos ao ar [3]	Al ₂ O ₃ até Camada de TiO ₂ formada por tratamento térmico		0,21	35 mJ.m ⁻²		
Lixada com grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos em oxigênio corrente (90%) a 0,5 L/m [3]	Al ₂ O ₃ até Camada de TiO ₂ formada por tratamento térmico		0,26	34 mJ.m ⁻²		
Lixada com grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos em vapor d'água com 1,13-1,15x10 ⁵ Pa [3]	Al ₂ O ₃ até Camada de TiO ₂ formada por tratamento térmico		0,3	38 mJ.m ⁻²		
Tratadas com jato de areia e ataque químico [4]	Camada Natural de TiO ₂	544				
Tratadas com jato de areia e ataque químico + irradiados ao laser Nd:YAG Laser Ablated (532 nm, 1.3 J/cm ² , 10 ns,	Camada Natural de TiO ₂	275				

* Contribuição técnica ao 69^o Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14^o ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

200 pulses) [4]

Tratadas com jato de areia e ataque químico + irradiados ao laser KrF excimer laser Ablated (248 nm, fluence 0.4 J/cm ² , FWHM 18 ns, 2000 pulses) [4]	Camada Natural de TiO ₂	288				
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 (Ti) [6]	Camada Natural de TiO ₂		0,13	27,928 mJ m ⁻²	102.9°	Hidrofóbico
Lixado por papéis de SiC com grana 220-800 + topografia formada de nanotubo sem adição de um surfactante (TN) [6]	Anodização + Nanotubos TiO ₂ diâmetro médio 80 nm comprimento 550 nm espessura da parede 20 nm		0,22	67,451 mJ m ⁻²	22.4°	Hidrofílico
Lixado por papéis de SiC com grana 220-800 + Matrizes nanotubular com adição de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB-TN) [6]	Anodização + Nanotubos TiO ₂ diâmetro médio 75 nm comprimento 750 nm espessura da parede 28 nm		0,13	63,495 mJ m ⁻²	29.80°	Hidrofílico
Lixado por papéis de SiC com grana 220-800 + Nanotubos com adição de sulfato de sódio dodecil (SDS-TN) [6]	Anodização + diâmetro médio 65 nm comprimento 800 nm espessura da parede 28 nm		0,17	62,401 mJ m ⁻²	32.3°	Hidrofílico
Usinada suavemente [7]	Camada Natural de TiO ₂		0,17			
Usinada suavemente + ataque químico de 3% HF e 66% H ₂ SO ₄ (Micropitted) [7]	Camada Natural de TiO ₂		0,35			
Usinada suavemente + ataque químico de 3% HF e 66% H ₂ SO ₄ (Micropitted) + pulverização catódica do nanonodule [7]	Nanonodule de alta-montagem 200 nm de TiO ₂		1,35			
Revestimento Liso de TiO ₂ por Ultra short pulsed laser deposition (USPLD) [8]	Camada Natural de TiO ₂	20			114°	Hidrofóbico
Revestimento Liso de TiO ₂ por Ultra short pulsed laser deposition (USPLD) [8]	Camada Natural de TiO ₂	60			115°	Hidrofóbico
Ataque químico com 66% H ₂ SO ₄ [9]	Nanopartículas de TiO ₂ com diâmetro médio de 120 nm		0,17		54°	Hidrofílico

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

Ti [10]	Processo de anodização two-electrode-setup	9,7		
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	Processo de anodização two-electrode-setup. Diâmetro médio 30 nm Altura 1:3 Espessura ~300 nm	13	11	Hidrofílico
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	Processo de anodização two-electrode-setup. Diâmetro médio 50 nm Altura 1:3 Espessura ~300 nm	12,7	9	Hidrofílico
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	Processo de anodização two-electrode-setup. Diâmetro médio 70 nm Altura 1:3 Espessura ~300 nm	13,5	7	Hidrofílico
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	Processo de anodização two-electrode-setup. Diâmetro médio 100 nm Altura 1:3 Espessura ~300 nm	13,2	4	Hidrofílico
Nano-cristalina, pré-tratada com lixa até grana 1500 [11]	TiO ₂ Obtido por Anodização com densidade de corrente galvanostática igual a 20 A/m ² em eletrólito 1 M de Na ₂ SO ₄ e 0,5 % de NaF	0,41	23°	Hidrofílico
Micro-cristalina, pré-tratada com lixa até grana 1500 [11]	TiO ₂ obtido por Anodização com densidade de corrente galvanostática igual a 70 A/m ² em meio aquoso	2,3	23°	Hidrofílico

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

**Tabela 2.** Variáveis do Ensaio *in vitro*

Tratamento	Origem das células osteoblásticas	Solução utilizada na cultura de células	Tempo de ensaio de cultura
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 [3]	Coelho	F-12 + 100IU/ml de penicilina + 100IU/ml estreptomicina + 10% FCS	24 horas
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos ao ar [3]	Coelho	F-12 + 100IU/ml de penicilina + 100IU/ml estreptomicina + 10% FCS	24 horas
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos em oxigênio corrente (90%) a 0,5 L/m [3]	Coelho	F-12 + 100IU/ml de penicilina + 100IU/ml estreptomicina + 10% FCS	24 horas
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos em vapor d'água com 1,13-1,15x10 ⁵ Pa [3]	Coelho	F-12 + 100IU/ml de penicilina + 100IU/ml estreptomicina + 10% FCS	24 horas
Tratadas com jato de areia e ataque químico [4]	MG-63	EMEM + FBS + penicilina / estreptomicina + L-glutamina	72 horas
Tratadas com jato de areia e ataque químico + irradiados ao laser Nd:YAG Laser Ablated (532 nm, 1.3 J/cm ² , 10 ns, 200 pulses) [4]	MG-63	EMEM + FBS + penicilina / estreptomicina + L-glutamina	72 horas
Tratadas com jato de areia e ataque químico + irradiados ao laser KrF excimer laser Ablated (248 nm, fluence 0.4 J/cm ² , FWHM 18 ns, 2000 pulses) [4]	MG-63	EMEM + FBS + penicilina / estreptomicina + L-glutamina	72 horas
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 (Ti) [6]	MC3TE-E1	α-MEM + 10% FBS + 1% penicilina/estreptomicina	24 horas
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 + Anodização + topografia formada de nanotubo sem adição de um surfactante (TN) [6]	MC3TE-E1	α-MEM + 10% FBS + 1% penicilina/estreptomicina	24 horas
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 + Anodização + Matrizes nanotubular com adição de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB-TN) [6]	MC3TE-E1	α-MEM + 10% FBS + 1% penicilina/estreptomicina	24 horas
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 + Anodização + Nanotubos com adição de sulfato de sódio dodecil (SDS-TN) [6]	MC3TE-E1	α-MEM + 10% FBS + 1% penicilina/estreptomicina	24 horas
Usinada suavemente [7]	Ratazana	α-MEM + 15% FBS a 50 mg / ml de ácido ascórbico + 10 mM Na-β-glicerofosfato + 10 ⁻⁸ M + dexametasona solução de antibiótico-antimicótico contendo 10.000 unidades/ml de penicilina G sódio, 10000 mg/ml de sulfato de estreptomicina + 25 mg/ml de anfotericina B.	336 horas

* Contribuição técnica ao 69^o Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14^o ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

Usinada suavemente + ataque químico de 3% HF e 66% H ₂ SO ₄ (Micropitted) [7]	Ratazana	α-MEM + 15% FBS a 50 mg / ml de ácido ascórbico + 10 mM Na-β-glicerofosfato + 10 ⁻⁸ M + dexametasona solução de antibiótico-antimicótico contendo 10.000 unidades/ml de penicilina G sódio, 10000 mg/ml de sulfato de estreptomina + 25 mg/ml de anfotericina B.	336 horas
Usinada suavemente + ataque químico de 3% HF e 66% H ₂ SO ₄ (Micropitted) + pulverização catódica do nanonodule [7]	Ratazana	α-MEM + 15% FBS a 50 mg / ml de ácido ascórbico + 10 mM Na-β-glicerofosfato + 10 ⁻⁸ M + dexametasona solução de antibiótico-antimicótico contendo 10.000 unidades/ml de penicilina G sódio, 10000 mg/ml de sulfato de estreptomina + 25 mg/ml de anfotericina B.	336 horas
Revestimento Liso de TiO ₂ por Ultra short pulsed laser deposition (USPLD) [8]	SaOs-2	α-MEM + FBS + penicilina / estreptomina + L-glutamina	48 horas
Revestimento Liso de TiO ₂ por Ultra short pulsed laser deposition (USPLD) [8]	SaOs-2	α-MEM + FBS + penicilina / estreptomina + L-glutamina	48 horas
Ataque químico com 66% H ₂ SO ₄ [9]	Ratazana	α-MEM + 15% FBS + 50 mg/ml ácido ascórbico + 10 mM de Na-β-glicerofosfato + 108 M de dexametasona e solução de antibiótico / antimicótico.	48 horas
Ti [10]	MC3T3-E1	a-MEM + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin	48 horas
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	MC3T3-E1	a-MEM + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin	48 horas
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	MC3T3-E1	a-MEM + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin	48 horas
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	MC3T3-E1	a-MEM + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin	48 horas
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	MC3T3-E1	a-MEM + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin	48 horas
Nano-cristalina, pré-tratada com lixa até grana 1500, anodizada com densidade de corrente galvanostática igual a 20 A/m ² em eletrólito 1 M de	Rato	α-MEM + 10% FBS + 1% de penicilina/estreptomina e 1% de l-glutamina a 200 ml	48 horas

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

Na₂SO₄ e 0,5 % de NaF [11]

Micro-cristalina, pré-tratada com lixa até grana 1500, anodizada com densidade de corrente galvanostática igual a 70 A/m ² em meio aquoso [11]	Rato	α-MEM + 10% FBS + 1% de penicilina/estreptomicina e 1% de I-glutamina a 200 ml	48 horas
---	------	--	----------

Tabela 3. Resposta de Osseointegração *in vitro*

Tratamento	Viabilidade	
	MTT	ALP
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 [3]		1,9/U/L
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30m ao ar [3]		3,5/U/L
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos em oxigênio corrente (90%) a 0,5 L/m [3]		4,4/U/L
Lixada com Al ₂ O ₃ até grana 120 e tratado termicamente a 600°C por 30 minutos em vapor d'água com 1,13-1,15x10 ⁵ Pa [3]		2,6/U/L
Tratadas com jato de areia e ataque químico [4]	0,410	0,203
Tratadas com jato de areia e ataque químico + irradiados ao laser Nd:YAG Laser Ablated (532 nm, 1.3 J/cm ² , 10 ns, 200 pulses) [4]	0,403	0,184
Tratadas com jato de areia e ataque químico + irradiados ao laser KrF excimer laser Ablated (248 nm, fluence 0.4 J/cm ² , FWHM 18 ns, 2000 pulses) [4]	0,372	0,199
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 (Ti) [6]		0,31
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 + Anodização + topografia formada de nanotubo sem adição de um surfactante (TN) [6]	0,34	0,69
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 + Anodização + Matrizes nanotubular com adição de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB-TN) [6]	0,31	0,37
Polido por papéis de SiC com grana 220-800 + Anodização + Nanotubos com adição de sulfato de sódio dodecil (SDS-TN) [6]	0,3	0,5
Usinada suavemente [7]		0,17
Usinada suavemente + ataque químico de 3% HF e 66% H ₂ SO ₄ (Micropitted) [7]		0,27
Usinada suavemente + ataque químico de 3% HF e 66% H ₂ SO ₄ (Micropitted) + pulverização catódica do nanonodule [7]		0,28
Revestimento Liso de TiO ₂ por Ultra short pulsed laser deposition (USPLD) [8]	0,86	
Revestimento Liso de TiO ₂ por Ultra short pulsed laser deposition (USPLD) [8]	1,22	
Ataque químico com 66% H ₂ SO ₄ [9]	1,92	
Ti [10]	0,09	0,21 mmol/hour/μg protein
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	0,2	0,36 mmol/hour/μg protein
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	0,165	0,41 mmol/hour/μg protein

* Contribuição técnica ao 69^o Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14^o ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.

Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	0,175	0,46 mmol/hour/ μ g protein
Ti + nanotubos preparadas numa proporção volumétrica 1:7 de ácido acético + 0,5% w/v ácido fluorídrico em água + 5, 10, 15 e 20 V durante 30 minutos [10]	0,15	0,57 mmol/hour/ μ g protein
Nano-cristalina, pré-tratada com lixa até grana 1500, anodizada com densidade de corrente galvanostática igual a 20 A/m ² em eletrólito 1 M de Na ₂ SO ₄ e 0,5 % de NaF [11]		1
Micro-cristalina, pré-tratada com lixa até grana 1500, anodizada com densidade de corrente galvanostática igual a 70 A/m ² em meio aquoso [11]		0,9

O resultado preliminar de mapeamento de resposta do crescimento celular é consequência do tratamento de superfície empregado no Ti. Na Tabela 1, a coluna Caráter Hidrofílico ou Hidrofóbico foi preenchida conforme ângulo de contato, considerando hidrofílica quando este for menor que 60° graus e hidrofóbico quando maior [9]. Estudos demonstraram que superfícies com caráter hidrofílico apresentam melhor adesão e por consequência melhor proliferação e crescimento celular [6].

Nem todos os artigos avaliam a influência simultânea da nano e da micro rugosidade, sendo que de acordo com alguns autores, esses dois parâmetros influenciam o crescimento celular [11]. A rugosidade da superfície, tanto na escala nano quanto na escala micro, é de extrema importância para a adesão celular. De acordo com alguns autores [12], de modo geral, a rugosidade nanométrica aumenta a molhabilidade, influenciando positivamente na adesão e proliferação celular, favorecendo uma osseointegração mais rápida.

Além do caráter hidrofílico ou hidrofóbico e rugosidade, a estrutura de TiO₂ formada na superfície, em formato de nanotubos, também tem influência no crescimento celular. A existência de nanotubos promove uma melhor fixação de osteoblastos e crescimento ósseo [6].

A partir das Tabelas 1, 2 e 3, verificou-se que mesmo o substrato (Ti/TiO₂) e o tipo celular (osteoblasto) sendo mantidos constantes, os resultados de adesão, crescimento e proliferação celular, mensurados pelos testes de MTT e ALP, apresentaram variação. Pode-se determinar desta forma a influência do tratamento superficial empregado.

É necessário ressaltar, contudo, que a origem das células (coelho, rato, etc.) e o meio de cultura utilizado (F12, PBS, soro bovino) variaram entre os diferentes artigos estudados. Esta consideração é importante devido ao fato do meio de cultura poder favorecer a proliferação das células utilizadas [13].

A comparação entre os resultados de osseointegração obtidos pelos diferentes artigos é complexa, visto que vários parâmetros são modificados simultaneamente. Neste contexto, é ressaltada a importância deste trabalho como uma ferramenta que reúne, para avaliação, as variáveis dos parâmetros de superfície e os resultados obtidos pela cultura celular.

4 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de uma base de dados que ajude a compreender a influência do tratamento de superfície no Ti/TiO₂, é complexo. Mesmo com a utilização de filtros que delimitem a busca de artigos, diversos parâmetros são modificados em cada

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.



estudo, dificultando a correlação dos resultados obtidos por um autor em relação aos resultados obtidos por outros autores.

O presente trabalho coloca em evidência aspectos que podem inclusive comprometer a comparação de resultados que descrevem o desempenho das superfícies, como é o caso da composição da solução empregada na cultura de células. Fatores como esse, dentre outros aqui evidenciados, podem comprometer o direcionamento dos pesquisadores na escolha do tratamento de superfície adequado.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Faculdade SATC pela apreciável contribuição dos recursos para o desenvolvimento desse trabalho.

REFERÊNCIAS

- 1 Lima GG. Propriedades mecânicas e de biotividade de filmes anódicos de titânio, contendo íons de Ca e P, submetidos a tratamentos térmicos e de hidrotérmicos. Paraná: Universidade Federal do Paraná; 2012.
- 2 Almeida Filho E, Assis CM, Vercik LO, Guastaldi AC. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspersão térmica. Quím. Nova [online]. 2007; 30(5): 1129-1232. ISSN 0100-4042.
- 3 Feng B, Weng J, Yang BC, Qu SX, Zhang XD. Characterization of surface oxide films on titanium and adhesion of osteoblast. Biomaterials. 2003; 24: 4663–4670.
- 4 Györgyey A, Ungvári K, Kecskeméti G, Kopniczky J, Hopp B, Oszkó A, Pelsöczy I, Rakonczay Z, Nagy K, Turzó K. Attachment and proliferation of human osteoblast-like cells (MG-63) on laser-ablated titanium implant material. Materials Science and Engineering: C, 2013; 33: 4251-4259.
- 5 ScienceDirect. Elsevier. 2014 [acesso em 20 fev. 2014]. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/>.
- 6 Neupane MP, Park IS, Bae TS, Yi HK, Watari F, Lee MH. Biocompatibility of TiO₂ nanotubes fabricated on Ti using different surfactant additives in electrolyte. Materials Chemistry and Physics, 2012; 134: 536-541.
- 7 Hori N, Iwasa F, Ueno T, Takeuchi K, Tsukimura N, Yamada M, Hattori M, Yamamoto A, Ogawa T. Selective cell affinity of biomimetic micro-nano-hybrid structured TiO₂ overcomes the biological dilemma of osteoblasts. Dental Materials, 2010; 26: 275-287.
- 8 Qu C, Myllymaa S, Prittinen J, Koistinen AP, Lappalainen R, Lammi MJ. Osteoblast behavior on various ultra short pulsed laser deposited surface coatings. Materials Science and Engineering: C, 2013; 33: 1676-1682
- 9 Sugita Y, Ishizaki K, Iwasa F, Ueno T, Minamikawa H, Yamada M, Suzuki T, Ogawa T. Effects of pico-to-nanometer-thin TiO₂ coating on the biological properties of microroughened titanium. Biomaterials. 2011; 32: 8374-8384.
- 10 Brammer KS, Oh S, Cobba CJ, Bjurstenb LM, Heydec HVD, Jin S. Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO₂ nanotube surface. Acta Biomaterialia, 2009; 5: 3215–3223.
- 11 An SH, Matsumoto T, Sasaki JI, Miyajima H, Narayanan R, Imazato S, Kim KH. In vitro bioactivity evaluation of nano- and micro-crystalline anodic TiO₂: HA formation, cellular affinity and organ culture. Materials Science and Engineering: C. 2012; 32: 2516-2522.
- 12 Czekanska EM, Stoddart MJ, Richards RG, Hayes JS. In Search of an Osteoblast Cell Model for in vitro Research. European Cells and Materials, 2012; 24:1-17.
- 13 Brandão ML, Esposti TBD, Bisognin ED, Harari ND, Vidigal Jr. GM, Conz MB. Superfície dos implantes osseointegrados X resposta biológica. Rev. Implantnews, 2010; 7(1): 95-101.

* Contribuição técnica ao 69º Congresso Anual da ABM – Internacional e ao 14º ENEMET - Encontro Nacional de Estudantes de Engenharia Metalúrgica, de Materiais e de Minas, 21 a 25 de julho de 2014, São Paulo, SP, Brasil.