

O papel da adsorção de proteínas na osseointegração

The role of protein-adsorption in osseointegration

El papel de la adhesión de proteínas en la oseointegración

Maria Cristina Rosifini **ALVES REZENDE**¹
 Cristiane Mayumi **WADA**²
 Maria Raquel Abdala Nascimento Egydio **LOPES**³
 Letícia Cabrera **CAPALBO**⁴
 Vanessa Mosca **GONÇALVES**⁴
 Amanda Dal Bosco **VALENTE**⁴
 João Augusto Guedes de **OLIVEIRA**⁵

¹*Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Brasil*

²*POSMAT, Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Brasil*

³*Graduada em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade do Vale do Paraíba, UNIVAP, Brasil.*

⁴*Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Brasil.*

⁵*Mestre em Odontologia – Universidade de Taubaté (UNITAU) e Doutor em Engenharia de Materiais (UNESP)*

Resumo

A interface formada por tecidos e biomateriais tem grande importância em aplicações biomédicas, tais como o desenvolvimento de biomateriais para implantes dentários. A adsorção de proteínas desempenha um papel importante na interação entre biomaterial e tecidos. Após a implantação ocorre interação essencial de proteínas com superfícies de implantes dentários a qual pode afetar a posterior adesão, migração e diferenciação das células. A adsorção de proteínas é um processo dinâmico acionado por fatores chave (parâmetros pertinentes às proteínas, volume e superfície do titânio, condições do paciente). Este estudo tem por objetivo discutir a influência da adsorção de proteínas na osseointegração.

Descritores: Adsorção; Sinais Direcionadores de Proteínas; Osseointegração; Implantes Dentários.

Abstract

The interface formed by tissues and biomaterials has great importance in biomedical applications such as the development of biomaterials for dental implants. The protein-adsorption plays important roles in the interaction between tissues and biomaterial. Upon implantation occurs essential interaction of proteins with dental implant surfaces which may affect the subsequent adhesion, migration, and differentiation of cells. The adsorption of proteins is a dynamic process that is driven by key factors (protein parameters, titanium bulk and surface, patient conditions). This study aims to discuss the influence of protein-adsorption on osseointegration.

Descriptors: Adsorption; Protein Sorting Signals; Osseointegration; Dental Implants.

Resumen

La interfaz formada entre el tejido y biomateriales es muy importante en aplicaciones biomédicas tales como el desarrollo de biomateriales para implantes dentales. La adsorción de proteínas en la superficie del implante juega un papel importante en la interacción entre el biomaterial y los tejidos. Después de la instalación ocurre la interacción esencial de las proteínas con superficies de implantes dentales que pueden afectar la adhesión posterior, la migración y la diferenciación de las células. La adsorción de proteínas es un proceso dinámico impulsado por factores clave (parámetros referentes a las proteínas, el volumen y la superficie de titanio, la condición del paciente). Este estudio tiene como objetivo discutir la influencia de la adsorción de proteínas en la oseointegración.

Descriptores: Adsorción; Sinais Direcionadores de Proteínas; Oseointegración; Implantes Dentales.

INTRODUÇÃO

A superfície de um biomaterial constitui plataforma para a migração e crescimento celulares. Na região de interface, isto é, zona de interação entre a superfície do material e o meio biológico em que é instalado, mecanismos biológicos, físicos e químicos irão modular a adsorção de proteínas, cuja natureza e quantidade irão responder diretamente pela adesão, migração e proliferação celular subsequente^{1,2}.

Desta forma, no contato entre o biomaterial e os fluidos fisiológicos, a camada de proteínas adsorvida irá alterar a interface de modo a prepará-la para a colonização celular futura³, além de induzir interações indiretas entre as células e o material⁴.

A adsorção de proteínas é um processo que ocorre em questão de segundos após o contato do biomaterial com os tecidos, com formação de monocamada em cerca de 20-30 minutos. Após a formação de uma monocamada de proteína na superfície do material as células podem se aderir e proliferar em um período de 1 a 24 horas². Numerosas proteínas existem no organismo vivo e sua competitiva adsorção, desnaturação nas superfícies e participação na coagulação sanguínea estão diretamente envolvidos, e de forma crítica⁵, com a biocompatibilidade e o desempenho do material^{3,6}.

De um modo geral a adsorção pode ser definida como a reação entre moléculas adsorvidas (proteínas) e sítios ativos do adsorvente (superfície do biomaterial)^{6,7}. Em condições de alta concentração de proteínas o mecanismo é irreversível e ocorre em dois passos: em um primeiro momento a proteína adsorve na superfície do material e, a seguir, sofre alteração da sua conformação estrutural de modo irreversível, com consequente desnaturação da proteína. Em situações de baixa concentração a adsorção quase sempre se mostra reversível⁶. Importante destacar que muitas alterações estruturais das proteínas podem responder por consequências biológicas adversas⁸.

A importância da adsorção de proteínas no processo de osseointegração resulta principalmente da tendência inerente que as proteínas têm de se depositarem na superfície do titânio como um adsorvato fortemente ligado, e da influência decisiva que estes depósitos têm nas interações subsequentes entre as células e o implante.

Tanto as propriedades particulares de superfície como as propriedades específicas das proteínas determinam a organização da camada adsorvida e, a natureza desta camada por sua vez, irá jogar papel crucial na intensidade da resposta celular (adesão, migração e proliferação) às superfícies adsorvidas e no processo de osseointegração. Sabe-se que as células só irão aderir e se proliferar sobre uma superfície recoberta por proteínas adsorvidas⁹.

MONOCAMADA DE PROTEÍNA

Estudos de Brash e Lyman¹⁰ buscaram informações relacionadas à interação de proteínas do sangue com superfícies hidrofóbicas não carregadas. Seus resultados mostraram que em condições estáticas as proteínas tendem a ser rapidamente adsorvidas em uma monocamada. Observações semelhantes foram feitas por Young et al.¹¹, e a aproximação do modelo clássico de Langmuir¹² foi utilizado para ajustar dados de adsorção de proteínas¹⁰. Assim, a quantidade de proteína adsorvida por unidade de área em relação à concentração de equilíbrio de proteína em solução origina uma curva que cresce monotonicamente com o aumento da concentração de proteína no fluido, até que um platô seja alcançado. A concentração atingida pelo platô é referente à concentração da monocamada (Figura 1)^{12,13}.

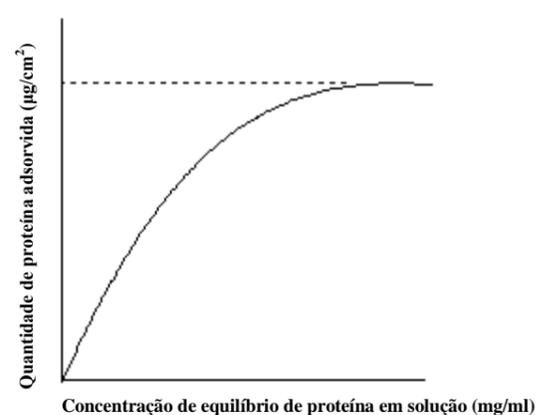


Figura 1. Isoterma de Langmuir^{12,13}

Segundo o isoterma de Langmuir a constante de equilíbrio de adsorção é dada pela razão entre a constante de dessorção e a constante de adsorção. Quanto maior a constante de equilíbrio de adsorção, menor é a interação entre as proteínas adsorvidas e as superfícies¹².

Nogueira¹³ lembra que algumas limitações são apontadas para o modelo de monocamada para adsorção de proteínas em superfícies sólidas. A primeira restrição refere-se à própria equação de Langmuir, que é deduzida, no caso ideal, para a adsorção de gases em sólidos¹³. A segunda diz respeito ao desconhecimento da área superficial real disponível para que a adsorção aconteça, já que a superfície do material geralmente não é regular. Também a orientação estrutural da proteína também não é conhecida. Outra restrição do modelo é que não são consideradas interações laterais entre as moléculas adsorvidas, principalmente para altos valores de proteína adsorvida por unidade de área do material¹³.

Para Horbett⁷, no entanto, mesmo com limitações, o modelo da monocamada parece ajustar de modo adequado os dados de adsorção, além de apresentar valores muito próximos aos valores de monocamada esperados.

Para que a adsorção de proteínas ocorra se fazem

necessárias determinadas condições termodinâmicas: a variação da energia livre de Gibbs precisa se mostrar negativa (Figura 2) indicando que o processo atingiu o patamar mais estável e com menor energia^{3,5}.

$$\Delta G_{\text{ads.}} = \Delta H_{\text{ads.}} - T\Delta S_{\text{ads.}} < 0$$

Figura 2. Equação de Gibbs para cálculo da variação de energia livre³

Por esta equação, a variação da energia livre é dada pela variação da entalpia ($\Delta H_{\text{ads.}}$), temperatura (T) e entropia ($T\Delta S_{\text{ads.}}$).

Biopolímeros complexos, as proteínas são constituídas por quatro níveis estruturais: primário, secundário, terciário e quaternário. O nível primário compreende a sequência linear específica dos 20 L-aminoácidos codificados pelo DNA celular, unidos por ligações peptídicas. A organização desta cadeia polipeptídica primária em α -hélices, folhas- β e "loops" irão determinar o nível secundário. A conformação local de algumas regiões da cadeia polipeptídica em α -hélice, β -pregueada e dobras β caracterizam o nível secundário. Os elementos da estrutura secundária por sua vez irão se organizar para formar o nível terciário em um arranjo tridimensional da cadeia polipeptídica, inclusive com interações entre aminoácidos mais distantes. O nível quaternário compreende o arranjo tridimensional de diferentes cadeias polipeptídicas, cada uma com um terminal inicial N-terminal e um terminal final C-terminal, carregados, respectivamente, positiva e negativamente¹⁴.

Sempre que uma proteína é adsorvida à superfície de um biomaterial mecanismos para diminuição da energia deflagram dessorção, difusão superficial ou relaxação estrutural da proteína¹⁵, com alterações na forma, dimensão e área de contato das proteínas em relação a sua conformação antes da adsorção. Se estas alterações forem permanentes, diz-se que a proteína foi desnaturada (Figura 3)^{3,5,14}.



Figura 3. Processo de adsorção de proteína^{3,14}

Pelo modelo de adsorção esquematizado na Figura 3, a partir da concentração da proteína na solução, modulada pelas taxas de reação direta e inversa, ocorre adsorção de determinada concentração

da proteína, a qual, por sua vez modulada pela taxa de reação final, culmina na concentração de adsorção irreversível^{3,5,14}. Quando a superfície do material entra em contato com várias proteínas ao mesmo tempo o processo de adsorção é mais complexo, uma vez que há competição entre as diferentes proteínas na reação com a superfície. Proteínas de menor peso molecular serão adsorvidas inicialmente e substituídas por proteínas com maior afinidade e com maior peso molecular posteriormente, caracterizando o *Efeito de Vroman* (Figura 4)^{3,5,14}.

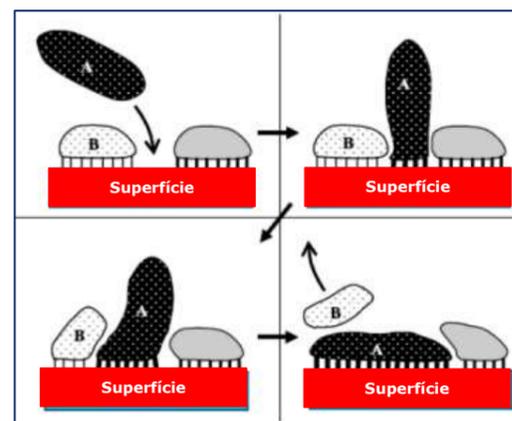


Figura 4. Efeito de Vroman^{3,14}

Importante observar que propriedades do meio biológico tais como pH, temperatura e força iônica desempenham papel essencial na singularidade estrutural da proteína, isto é, na localização ordenada e preferencial de resíduos polares na superfície e apolares no interior da molécula¹³. Fora destas condições as proteínas se mostram vulneráveis à desnaturação. Proteínas desnaturadas, com maior número de resíduos hidrofóbicos de aminoácidos, podem assim apresentar maior afinidade do que proteínas nativas às superfícies dos materiais⁶.

PROPRIEDADES DE SUPERFÍCIE DO MATERIAL

O processo de osseointegração é o resultado da somatória de diversos fatores associados ao paciente, ao procedimento cirúrgico e à reabilitação protética¹⁵⁻¹⁷. Os fatores relacionados ao hospedeiro incluem a condição sistêmica (presença de alterações metabólicas), seu estilo de vida (consumo de drogas lícitas e ilícitas), condição local (qualidade/quantidade óssea, perfil de higiene bucal e hábitos parafuncionais). As variáveis pertinentes à condição cirúrgica estão relacionadas à habilidade do profissional (técnica e instrumentação), trauma cirúrgico local, protocolo cirúrgico equivocado e antibioticoterapia ineficaz ou ausente (episódio infeccioso no pós-operatório). Por fim, os fatores relacionados à reabilitação protética dizem respeito sobretudo ao planejamento incorreto, sobrecarga oclusal e às condições de carregamento.

Para Busquim¹⁵ o tratamento de superfície reúne um leque de objetivos: reduzir o tempo de carregamento após a cirurgia, acelerar o crescimento e

a maturação óssea para permitir o carregamento imediato, aumentar a estabilidade primária, garantir o sucesso dos implantes quando instalados em regiões que apresentam condições ósseas deficientes, obter o crescimento ósseo diretamente na superfície do implante, obter maior área possível de osseointegração, obter contato osso-implante sem a interposição de camadas protéicas amorfas, atrair células osteoblásticas, pré-osteoblásticas e mesenquimais, atrair proteínas de ligação específicas para células osteogênicas (fibronectina) e obter maior concentração possível de proteínas de ligação celular.

Segundo Kirst-Post¹⁶, particularmente as técnicas de texturização têm sido desenvolvidas com diferentes parâmetros e protocolos, produzindo superfícies implantares capazes de biomodular os fenômenos de sinalização celular, atuando, assim, nas interações célula-matriz-substrato.

Visto que a imobilização de proteínas na superfície dos implantes dentários é um processo dependente das propriedades físico-químicas e parâmetros energéticos de superfície, Sevastyanov¹⁷ destaca as seguintes propriedades como potencializadoras do mecanismo de adsorção: composição da superfície (polar/apoiar, ácido/base, ponte de hidrogênio, cargas iônicas, biomoléculas imobilizadas); movimentos moleculares de superfície (extremidades de cadeias poliméricas, anéis e sua flexibilidade); topografia da superfície (aspereza, porosidade, imperfeições e microbolhas de gás); domínios (distribuições e tamanhos); tendência à biodegradação/ erosão/ corrosão e estrutura cristalina/amorfa da superfície.

A afinidade da superfície do implante dentário por sangue, isto é, sua hemocompatibilidade, implica no favorecimento da adesão plaquetária e trombogenicidade, ativação da cascata de coagulação e do sistema complemento, em relação direta com a hidrofília do titânio¹⁸⁻²¹.

A trombogenicidade, por exemplo, aumenta com o aumento da contribuição polar da energia livre (γP) de superfície^{22,23}.

Xiong et al.²⁴ defendem que a energia de superfície é o parâmetro determinante na proliferação celular e não a cristalinidade ou micro-rugosidade da superfície.

Horbett⁶ lembra que a sensibilidade das interações entre plaquetas e proteínas adsorvidas se deve a expressão de glicoproteínas pela membrana plaquetária que funcionam como receptores de proteínas de adesão para proteínas específicas do plasma. A adsorção de proteínas à superfície em grande concentração, aliada as alterações conformacionais após a adsorção, parecem acentuar e regular as interações entre os receptores de adesão e as proteínas^{6,25}. Proteínas com formas intensamente

deformadas não são propícias à ligação celular, disparando inclusive os mecanismos de rejeição ao material: inflamação e até mesmo mutação tecidual^{25,27}.

FORMAÇÃO DO COÁGULO DE FIBRINA

Sabe-se que durante a coagulação sanguínea, logo após a formação do botão plaquetário, a rede de fibrina se organiza e inicia sua ação estabilizadora sobre o coágulo primário. Duas vias caracterizam essa fase: via intrínseca (ou via do fator de contato) e via extrínseca (ou via do fator tecidual), embora ocorra a participação de fatores de contato e tecidual nas duas vias simultaneamente. O que ativa a via extrínseca é a exposição do fator tecidual ao espaço intravascular após a lesão do endotélio/trauma ou pela liberação de citocinas. O fator tecidual liga-se ao fator VII ativado (Fator VIIa) que corresponde a 1% de todo fator VII circulante. O complexo fator tecidual/fator VIIa ativará os fatores IX e X, e este o Fator V, formando um complexo que tem como resultado final a formação de pequena quantidade de trombina a partir da protrombina. Sob ação do fator Va a protrombina tem duas ligações peptídicas quebradas. A protrombina é constituída por uma única cadeia polipeptídica com aproximadamente 608 aminoácidos e três cadeias de oligossacarídeos²⁸. A trombina formada será capaz de ativar plaquetas, fator VIII, fator V e fator XI. Sobre a superfície da plaqueta ativada o complexo Fator VIIIa/Fator IXa ativará o fator X com eficiência 50 vezes maior que o complexo Fator Tecidual/Fator VIIa. Como resultado o Fator Xa irá se ligar ao Fator Va em outro local da superfície plaquetária formando o complexo protrombinase, gerador de grandes quantidades de trombina a partir do Fator Xa. A trombina formada converterá fibrinogênio em fibrina, por meio da quebra seletiva de ligações Arg-Gly²⁹, promovendo a ativação plaquetária e ativando o fator XIII, que responde pela polimerização da fibrina e pela maior resistência do coágulo. Outra via de coagulação sanguínea envolve o fator XII, cininogênio de alto peso molecular, precalicreína e fator XI com posterior ativação do fator IX. O papel desempenhado por esta via é bastante discutido já que a deficiência do fator XII não provoca alteração na coagulação, ao contrário da deficiência do fator XI, a qual pode ocasionar episódios moderados de sangramento³⁰. Roberts et al.³¹ acreditam que a deficiência do fator XI ocasiona alterações da coagulação com pequeno impacto clínico.

Para a formação do coágulo de fibrina, inicialmente monômeros se polimerizam em longos filamentos que se ligam entre si por fracas pontes de hidrogênio, formando um frágil reticulado. Na sequência, o fator estabilizador de fibrina atua de modo enzimático formando pontes covalentes entre os

monômeros de fibrina e entre as cadeias poliméricas adjacentes, assegurando resistência à malha de fibrina formada, sustentando as etapas seguintes de agregação e proliferação celular^{19-22,32}.

DISCUSSÃO

Titânio e suas ligas, graças as suas propriedades mecânicas, físicas e biológicas, têm histórico de uso bem sucedido e documentado na Implantodontia. Existem quatro graus de titânio comercialmente puro utilizados na Odontologia (graus I, II, III e IV) e um grau de liga de titânio (grau V). A condição de superfície, independente do grau do titânio ou liga, é similar, altamente ativa e extremamente bem tolerada pelos tecidos bucais³³⁻³⁶.

Quando a superfície de implantes usinados é exposta aos meios oxidantes o titânio forma uma camada superficial e espontânea, densa, contínua, com grande estabilidade e altamente aderente³⁷.

Esta camada, ao entrar em contato com o meio biológico o protegerá da influência tóxica da dissolução de elementos do substrato metálico³⁸. Por outro lado, também será atapetada por uma monocamada de proteínas, responsáveis por ligações cruciais com as células formadoras dos tecidos reparacionais. Podemos assim afirmar que a osseointegração está primariamente relacionada com o filme de óxido formado sobre a superfície do titânio e as proteínas sobre ele adsorvidas³⁹ como resposta, principalmente, à similaridade elétrica do titânio com a água do meio biológico, em função da elevada molhabilidade de superfície³⁷.

O óxido de titânio pode ser encontrado em três formas cristalográficas, o anatásio (tetragonal), o rutilo (tetragonal) e a brookita (ortorrômbico)^{40,41}, mas o tipo de óxido em implantes cirúrgicos é essencialmente amorfo³⁴.

O filme de óxido de titânio nativo formado sobre implantes usinados apresenta espessura entre 1,5 e 17 nm. Além disso, para uma larga faixa de pH, composição de eletrólitos e fluidos corporais, este filme apresenta alta integridade estrutural e estabilidade química^{36,39,40,41-45}. Quando este óxido é exposto aos tecidos vivos ocorre um aumento em sua espessura da ordem de 200nm³⁶.

Mish³⁶ adverte que, a despeito da presença de uma camada de óxido termodinamicamente estável na superfície do titânio, a interação entre o implante dentário e o hospedeiro se dará ao longo de vários anos, acompanhada da liberação de produtos de corrosão. Williams⁴⁶ alerta que o filme óxido não mostra suficiente estabilidade para resistir ao desgaste e abrasão em sistemas de suporte sob carga. Solar et al.⁴⁷ acrescentam que titânio e suas ligas são susceptíveis a alterações óxidas causadas por

micromovimento mecânico.

A literatura tem documentado altas taxas de sucesso clínico a longo prazo para implantes dentários de titânio para implantes dentários de titânio com camadas de óxido nativas⁴⁷⁻⁵² em função do sítio implantar (maxila ou mandíbula), da qualidade óssea (osso do tipo II ou IV) e do comprimento dos implantes (longos ou outros)⁵³⁻⁵⁶. Assim, situações clínicas podem exigir implantes com tratamento de superfície para acelerar o processo inicial de osseointegração^{22,32,53-56}.

Serrão et al.⁵⁷ em estudo clínico com 122 implantes instalados em 53 pacientes, em situações de implante com superfície tratada ou não-tratada em leitos ósseos com ou sem enxerto observaram que o leito ósseo receptor teve maior influência no sucesso da instalação dos implantes do que a superfície dos implantes.

Tratamentos da superfície dos implantes dentários são capazes de afetar fortemente a adsorção de proteínas e, por conseguinte, potencializar a relação de interação com o meio biológico⁵⁸. Isto se dá pelos efeitos dos vários tipos de tratamento sobre a cinética de atração, tipos de íons e proteínas atraídas, suas concentrações na superfície e forma de imobilização/conformação dessas proteínas na superfície tratada³⁷. Interações não covalentes, tais como ligações de hidrogênio, forças electrostáticas, interações hidrofóbicas e forças de Van der Waals também precisam ser consideradas⁵⁹.

Implantes dentários, a exemplo dos biomateriais de modo geral, devem ser considerados bem mais que meros substitutos anatômicos e funcionais, pois assumem no organismo a posição de plataformas para diferenciação celular e decorrente neoformação de tecidos. A compreensão dos aspectos bioquímico-moleculares e biomecânicos envolvidos no processo de reparação^{52,58-62}, e consequentemente no melhor desempenho dos implantes dentários permite a síntese de dispositivos que tragam mais rápida recuperação ao paciente, com ganho na qualidade de vida².

CONCLUSÃO

O tipo e a quantidade de proteínas adsorvidas após a instalação do implante dentário fornecem uma das condições mais importantes relacionadas ao sucesso clínico, já que respondem pela mediação da adesão subsequente, proliferação e diferenciação de células, assim como pela deposição de tecido mineralizado.

Parâmetros ligados à própria proteína (tamanho, estrutura, concentração), ao implante (volume e superfície) e ao paciente (idade, condições locais e sistêmicas) controlam a dinâmica do mecanismo de adsorção das proteínas em contato com os tecidos

vivos. Por essa razão, a natureza desse processo é de grande importância não só para melhor compreensão do processo de osseointegração, como também para a síntese de novos implantes que assegurem a cronologia da formação óssea periimplantar.

REFERÊNCIAS

- Martins OPM. Estudo, *in vivo*, de uma hidroxiapatite de arquitetura otimizada [dissertação]. Coimbra: Universidade de Coimbra; 2009.
- Ferreira ES. Interação da albumina do soro bovino (BSA) com substratos sintéticos [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2009.
- Ribeiro CO. Comportamento de proteínas em stents vasculares modificados por pulverização catódica [dissertação]. Coimbra: Universidade de Coimbra; 2009.
- Dolatshahi-Pirouz A, Rechendorff K, Hovgaard M B, Foss M, Chevallier J, Besenbacher F. Bovine serum albumin adsorption on nano-rough platinum surfaces studied by QCM-D. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2008;66(1):53-9.
- Completo CDS. Adsorcao de albumina bovina e acido hialuronico em ceramicos de titânio [dissertação]. Lisboa: Instituto Superior Tecnico; 2008.
- Kim JH, Yoon JY. Protein adsorption on polymer particles. In: *Encyclopedia of Surface and Colloidal Science*; Hubbard TA, Ed. New York: Marcel Dekker, pp 4373–81.
- Horbett TA. Principles underlying the role of adsorbed plasma proteins in blood interaction with foreign materials. *Cardiovasc Pathol*.1993; 2(3):S137- S148.
- Yaseen M, Salacinski HJ, Seifalian AM, Lu JR. Dynamic protein adsorption at the polyurethane copolymer/water interface. *Biomed Mater*. 2008;3(3):034123.
- Bonfield W, Tanner KE. Biomaterials - A new generation. *Materials World*. 1997;5(1):18-20.
- Brash JL, Lyman DJ. Adsorption of plasma proteins in solution to uncharged, hydrophobic polymer surfaces. *J Biomed Mater Res*.1969;3(1):175-89.
- Young BR, Pitt WG, Cooper SL. Protein adsorption on polymeric biomaterials I. adsorption isotherms. *J Colloid Interface Sci*. 1988;124(1): 28-43.
- Langmuir I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J Am Chem Soc*. 1918;40(9):1361–1403.
- Nogueira DAR. Adsorção de proteínas na superfície de biomateriais poliméricos [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 1999.
- Latour RA. Biomaterials: Protein–surface interactions. In: Wnek GE, Bowlin GL, editores. *The encyclopedia of biomaterials and bioengineering*, 2^a ed. New York: Informa Healthcare; 2008. vol. 1, p. 270-84.
- Busquim TP. Estudo invitro e in vivo da osseointegração de implantes de titânio com superfície biomimetizada [tese]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2012
- Kirst-Post L. Análise da resposta tecidual em diferentes superfícies implantares – estudo em modelo experimental coelho [tese]. Porto Alegre: Pontificia Universidade Catolica do Rio Grande do Sul; 2009.
- Sevastyanov VIA. interrelation of protein adsorption and blood compatibility of biomaterials, cap. 21, In: M Szycher, editors. *High Performance Biomaterials. A Comprehensive Guide to Medical and Pharmaceutical Applications*. Basel: Technomic Publishing AG; 1991. cap. 21.
- De Oliveira JA, do Amaral Escada AL; Alves Rezende MC, Mathor MB; Alves-Claro, AP. Analysis of the effects of irradiation in osseointegrated dental implants. *Clin Oral Impl Res*. 2012; 23(4):511-4.
- Okamoto T, Alves-Rezende MC, Okamoto AC, Buscariolo IA, Garcia IR Jr: Osseous regeneration in the presence of fibrin adhesive material(Tissucol) and epsilon-aminocaproic acid (EACA). *Braz Dent J*. 1995; 6(2):77-83
- Okamoto T, Okamoto R, Alves-Rezende MC, Gabrielli MF: Interference of the blood clot on granulation tissue formation after tooth extraction. *Histomorphological study in rats*. *Braz Dent J*. 1994; 5(2):85-92.
- Alves Rezende MCR, Fiorin LG, Cury MTS, Gonçalves VM, Alves Rezende LGR, Wada CM, Rangel ALR, Alves Claro APR. Efeito do ácido tranexâmico associado à cola de fibrina sobre o reparo ósseo: estudo histológico em ratos. *Arch Health Invest*. 2014; 3(4): 59-65.
- Lyman DJ, Muir WM, Lee IJ. The effect of chemical structure and surface properties of polymers on the coagulation of blood. I. Surface free energy effects. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*.1965;11:301–6.
- Nyilas E, Morton WA, Lederman DM, Chiu TH, Cumming RD. Interdependence of hemodynamic and surface parameters in thrombosis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*.1975;21:55–70.
- Xiong TY, Cui X, Kim HN, Kawashita M., Kokubo T, Wu J, Jin H, Nakamura T., Effect of Surface Morphology and Crystal Structure on Bioactivity of Titania Films Formed on Titanium Metal via Anodic Oxidation in Sulfuric Acid

- Solution. In: Key Engineering Materials. Stafa-Zurich: Trans Tech Publications; 2009.p.254 – 256, 375-378.
25. Lu DR, Park K. Effect of surface hidrofobicity on the conformational changes of adsorbed fibrinogen. *J Colloid Interface Sci.* 1991;144(1):271-81.
 26. Kasemo B, Lausmaa J. Surface Science Aspects on Inorganic Biomaterials. *Crc Crit Rev Biocomp*, 1986. 2(4):335-80.
 27. Read MJ, Burkett SL, Mayes AM. Control and characterization of protein adsorption on ceramic surfaces. In: Panjian L (Editor). *Mineralization in Natural and Synthetic Biomaterials*. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. p.337-342.
 28. Becker RC, Spencer FA. Thrombin: structure, biochemistry, measurement and status in clinical medicine. *J Thromb Thrombolys.* 1998;5(3) 215-29.
 29. Yuan Y, Liu C, Yin M. Plasma polymerized n-butyl methacrylate coating with potential for re-endothelialization of intravascular stent devices. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(5):2187-96.
 30. Dahlback B. Blood coagulation and its regulation by anticoagulant pathways: genetic pathogenesis of bleeding and thrombotic diseases. *J Intern Med.* 2005;57:209-223.
 31. Roberts I, Shakur H, Ker K, Coats T, CRASH-2 trial collaborators. Antifibrinolytic therapy for acute traumatic injury. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;19(1):CD004896
 32. Alves Rezende MCR, Wada CM, Capalbo LC, Gonçalves VM. Adesivo tecidual de fibrina e sua aplicação na implantodontia. *Arch Health Invest.* 2014;3(6): 55-60.
 33. Alves Rezende MC, Alves AP, Codaro EM, Dutra CA. Effect of comercial mouthwashes on the corrosion resistance of Ti-10Mo experimental alloy. *J Mater Sci Mater Med.* 2007;18(1):149-54.
 34. Claro APRA, de Oliveira JAG, Escada AL do A, Carvalho LMF, Louzada MJQ, Rezende MCRA. Histological analysis of the osseointegration of Ti-30Ta dental implants after surface treatment. In: Ochsner A, da Silva LFM, Altenbach H, editors. *Characterization and Development of Biosystems and Biomaterials. Advanced Structured Materials*. Berlin: Springer-Verlag; 2013. p. 175-181.
 35. Escada AL, Machado JP, Schneider SG, Rezende MC, Claro AP. Biomimetic calcium phosphate coating on Ti-7.5Mo alloy for dental application. *J Mater Sci Mater Med.* 2011; 22(11):2457-65.
 36. Misch CE, Dietsch F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent.* 1993;2(3):158-67.
 37. Pinto LESC. Tratamento químico da superfície de implantes de titânio [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia; 2006.
 38. Eisenbarth E, Velten D, Schenk-Meuser K, Linez P, Biehl V, Duschner H, et al. Interactions between cells and titanium surfaces. *Biomol Eng.* 2002;19(2-6):243-9.
 39. Nygren H, Tengvall P, Lundström I. The initial reactions of TiO₂ with blood. *J Biomed Mater Res.* 1997;34(4):487-92 .
 40. Textor M, Sitting C, Frauchiger V, Tosatti S, Brunette D. Properties and biological significance of natural oxide films on titanium and its alloys. *Titanium Med* 2001;7:171-224.
 41. Eliades T. Passive film growth on titanium alloys: Physicochemical and biological considerations. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1997;12(5):621-7.
 42. Ellingsen JE, Johansson CB, Wennerberg A, Holmén A. Improved retention and bone-to-implant contact with fluoride-modified titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19(5):659-66.
 43. Yoshinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K. Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. *Biomaterials.* 2001;22(14):2043-8.
 44. Williams DF. Titanium as a metal for implantation. Part 1: physical properties. *J Med Eng Technol.* 1977;1(4):195-8, 202.
 45. Williams DF. Titanium as a metal for implantation. Part 2: biological properties and clinical applications. *J Med Eng Technol.* 1977;1(5):266-70.
 46. Solar RJ, Pollack SR, Korostoff E. In vitro corrosion testing of titanium surgical implant alloys: an approach to understanding titanium release from implants. *J Biomed Res.* 1979;13(2):217-50.
 47. Gil L de M, Ladeira TC, Menezes GC, Silva Filho FC. A interface célula-matriz extracelular-biomaterial e a biocompatibilidade de implantes de titânio. *Innov Implant J Biomater Esthet.* 2009;4(3):58-64.
 48. Buser D, Mericske-Stern R, Bernard JP, Behneke A, Behneke N, Hirt HP, Belser UC, Lang NP. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(3):161-72.
 49. Lambrecht JT, Filippi A, Künzel AR, Schiel HJ. Long-term evaluation of submerged and non submerged ITI solid-screw titanium implants: a 10-year life table analysis of 468 implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003;18(6):826-34.
 50. Schwartz-Arad D, Laviv A, Levin L. Survival of immediately provisionalized dental implants placed immediately into fresh extraction sockets. *J Periodontol.* 2007;78(2):219-23.

51. Marchetti C, Pieri F, Corinaldesi G, Degidi M. A long-term retrospective study of two different implant surfaces placed after reconstruction of the severely resorbed maxilla using Le Fort I osteotomy and interpositional bone grafting. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008;23(5):911-8.
52. Alves Rezende MCR, Bertoz APM, Grandini CR, Louzada MJQ, Santos APA, Capalbo BC, Alves Claro APR. Osseointegração de Implantes Instalados sem Estabilidade Primária: o Papel dos Materiais à Base de Fibrina e Fosfato de Cálcio. *Arch Health Invest*. 2012; 1(1): 33-40
53. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology. *Eur J Oral Sci*. 1998;106(1):527-51.
54. Stach RM, Kohles SS. A meta-analysis examining the clinical survivability of machined-surfaced and osseotite implants in poor-quality bone. *Implant Dent*. 2003;12(1):87-96.
55. Feldman S, Boitel N, Weng D, Kohles SS, Stach RM. Five-year survival distributions of short-length (10 mm or less) machined-surfaced and Osseotite implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2004;6(1):16-23.
56. Weng D, Jacobson Z, Tarnow D, Hurzeler MB, Faehn O, Sanavi F, Barkvoll P, Stach RM. A prospective multicenter clinical trial of 3i machined-surface implants: results after 6 years of follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18(3):417-23.
57. Serrão CR, Zanetti LSS, Rodrigues RM, Carvalho PSP. Avaliação do sucesso de implantes de superfície tratada comparados com superfície lisa em maxilas enxertadas e não enxertadas: estudo retrospectivo. *Rev Bras Pesq Saúde*. 2010;12(1):34-9.
58. Kopf BS, Ruch S, Berner S, Spencer ND, Maniura-Weber K. The role of nanostructures and hydrophilicity in osseointegration: In-vitro protein-adsorption and blood-interaction studies. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103(8):2661-72
59. Andrade JD, Hlady V. Protein adsorption and materials biocompatibility: A tutorial review and suggested hypotheses. *Biopolymers/ Non-Exclusion HPLC*. Berlin Heidelberg: Springer; 1986. p 1-63.
60. Alves-Rezende MCR, Okamoto T. Effects of fibrin adhesive material (Tissucol) on alveolar healing in rats under stress. *Braz Dent J*. 1997;8(1):13-9.
61. Okamoto T, Alves-Rezende MC, Buscariolo IA, Okamoto AC, Mendes VS, Garcia-Jr IR. Implante da associação esponja de fibrina (Fibrinol®)/adesivo fibrínico (Tissucol®) em cavidade cirúrgica preparada em tibia de rato. Estudo histológico. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1996;10(1):33-7.
62. Padovan LE, Okamoto T, Rezende MC, Curvêllo VP, Nicolielo D, Matsumoto MA. Fibrin adhesive implant in wound healing repair of dental sockets with topical application of epsilon-aminocaproic acid: histological analysis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;73(2):209-13

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Maria Cristina Rosifini Alves Rezende

rezende@foa.unesp.br

Submetido em 20/03/2015

Aceito em 13/04/2015