

Recubrimiento de una superficie de implante arenada, grabada con ácido y con un agente amortiguador de pH después de la fotofuncionalización al vacío-UV

Chang-Joo Park 1,†, Jae Hyung Lim 2,†, Marco Tallarico 3, Kyung-Gyun Hwang 1, Hyook Choi 1, Gyu-Jang Cho 1, Chang Kim 1, Il-Seok Jang 4, Ju-Dong Song 4, Amy M. Kwon 5, Sang Ho Jeon 6 and Hyun-Kyung Park 7,*

1 División de Cirugía Oral y Maxilofacial, Departamento de Odontología, Facultad de Medicina, Hanyang University, Seúl 04763, Corea; fastchang@hanyang.ac.kr (C.-J.P.); hkg@hanyang.ac.kr (K.-G.H.); chlgur3@nate.com (H.C.); chogu@hanmail.net (G.-J.C.); himychang0@naver.com (C.K.)

2 División de Cirugía Oral y Maxilofacial, Departamento de Odontología, Hospital Ansan de la Universidad de Corea, Ansan 15355, Corea; surgidenta@gmail.com

3 Departamento de Periodoncia e Implantología, Universidad de Sassari, 7100 Sassari, Italia; me@studiomarcotallarico.it

4 Osstem R&D Center, Seoul 07789, Korea; microart@osstem.com (I.-S.J.); jud@osstem.com (J.-D.S.)

5 Biostatistic Core, Medicina-Ingeniería-Bio (MEB) Centro Mundial de Investigaciones para el Desarrollo, Hanyang University, Seúl 04763, Corea; amykwon@hanyang.ac.kr

6 Departamento de Cirugía Oral y Maxilofacial, Hospital Anam de la Universidad de Corea, Seúl 02841, Corea; junsang@korea.ac.kr

7 División de Neonatología, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Hanyang, Seúl 04763, Corea

* Correspondencia: neopark@hanyang.ac.kr; Tel.: +82-2-2290-8391

† Estos dos autores contribuyeron por igual a este trabajo.



Recibido: 24 de septiembre de 2020;
Aceptado: 28 de octubre de 2020;
Publicado: 28 octubre 2020.

ORCID iDs

Marco Tallarico
<https://orcid.org/0000-0001-9206-0454>

Hyun-Kyung Park
<https://orcid.org/0000-0001-5956-9208>

ABSTRACT

La fotofuncionalización ultravioleta (UV) puede resetear el envejecimiento biológico del titanio después de la preparación y el almacenamiento de los implantes dentales al transformar las superficies de titanio hidrófobas en superficies superhidrofílicas. La formación de coágulos de sangre alrededor del implante puede inicializar y promover el proceso de curación en la interfaz hueso-implante. El objetivo de este estudio es evaluar y comparar las capacidades de humectabilidad superficial y coagulación sanguínea de los implantes con una superficie convencional arenada y grabada con ácido (SA), una superficie arenada y grabada con ácido con tratamiento UV al vacío (SA + VUV) y una superficie arenada y grabada con ácido recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento UV al vacío (SA + VUV + BS). Se realizaron pruebas estáticas y dinámicas de humectabilidad superficial y coagulación sanguínea in vitro para SA + VUV y SA + VUV + BS (n = 5), mientras que la hemostasia resultante de la coagulación sanguínea se evaluó in vivo para SA, SA + VUV y SA + VUV + BS (n = 4). La prueba de Kruskal-Wallis mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en todas las pruebas, con la excepción de la prueba in vitro de coagulación sanguínea estática. Por lo tanto, el tratamiento VUV es eficaz para hacer que una superficie SA sea superhidrófila como alternativa a la radiación UV-C de rutina. La adición de un agente amortiguador de pH a SA + VUV también mejoró la humectabilidad de la superficie y la coagulación de la sangre, que son cruciales para una osteointegración exitosa.

Palabras clave

Coagulación sanguínea; implantes dentales; hidrofiliidad; titanio; rayos ultravioleta.

INTRODUCCIÓN

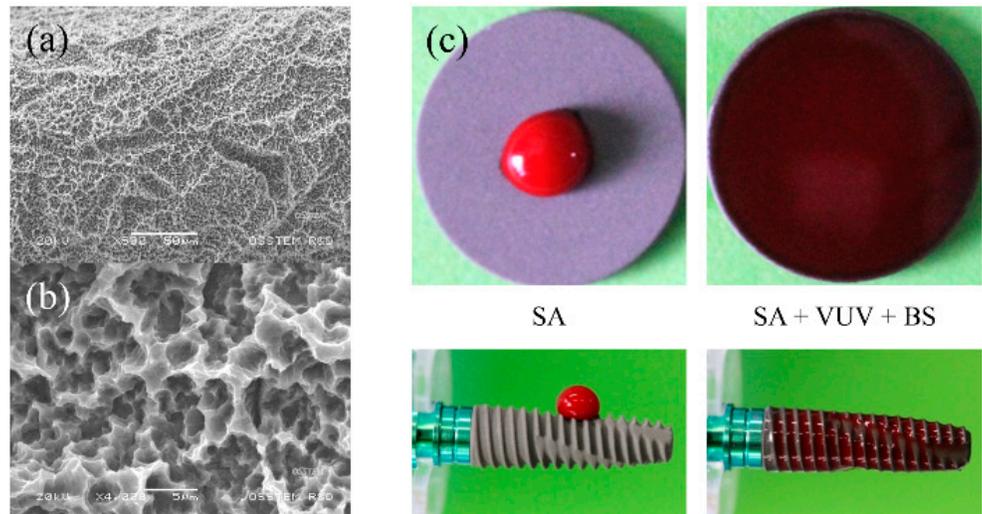
El titanio ha sido ampliamente utilizado para la restauración y reconstrucción dental y ortopédica debido a su biocompatibilidad, resistencia a la corrosión y propiedades mecánicas. El titanio se oxida fácilmente, formando una capa delgada (1-5 nm), estable y pasiva que es autolimitada y protege la superficie del metal de una mayor oxidación [1]. Se considera que esta capa superficial de dióxido de titanio (TiO₂) es responsable de su rendimiento biológico efectivo debido a la transferencia de iones de calcio y fósforo de la matriz ósea dentro de la capa de TiO₂ [2]. Sin embargo, con el tiempo se producen reducciones significativas en la osteointegración y otras capacidades biológicas del titanio a medida que aumenta el carbono en la superficie debido a una deposición inevitable de carbono de la atmósfera en la capa de TiO₂ en forma de hidrocarburo [3]. Este fenómeno se define como el envejecimiento biológico del titanio, y la capacidad de las superficies de titanio para atraer proteínas y células osteogénicas disminuye de manera dependiente del tiempo [4]. Otro cambio notable en las superficies de titanio con el tiempo es la desaparición de la hidrofiliidad. Inmediatamente después del procesamiento, las superficies de titanio exhiben un ángulo de contacto con el agua de 0 o menos de 5 grados, y dichas superficies se denominan superhidrofílicas [4-7]. Esta característica se atenúa gradualmente y se vuelve hidrofóbica en 2 y 4 semanas, con un ángulo de contacto superior a 40 y 60 grados, respectivamente. El tratamiento de superficie se utiliza para modificar la topografía y la energía superficial de los implantes dentales, lo que resulta en una mejor humectabilidad, una mayor proliferación y crecimiento celular y una osteointegración acelerada [1,8,9]. El tratamiento de la superficie se puede lograr mediante una técnica aditiva o sustractiva [9]. La técnica sustractiva elimina o hace rugosa una capa de material central, como se caracteriza por una superficie arenada y grabada con ácido (SA). En la técnica aditiva, otros materiales o agentes químicos se agregan superficialmente a la superficie del titanio a través del recubrimiento, como la pulverización de plasma de titanio, el recubrimiento de hidroxiapatita, el recubrimiento de fosfato de calcio y otros recubrimientos biomiméticos. La perforación antes de la colocación del implante hace que el tejido óseo sufra un traumatismo similar a una fractura. El sitio se vuelve relativamente hipóxico y el pH extracelular se vuelve ácido. En tales condiciones, las células estromales de la médula ósea exhiben una actividad reducida de fosfatasa alcalina (ALP) y síntesis de colágeno, las cuales son importantes en la formación ósea y la osteointegración [10]. También se ha descubierto que la glucólisis y la síntesis de ADN de los osteoblastos se ven afectadas por las condiciones ácidas [11]. La agregación plaquetaria, que es un paso crítico en la formación de coágulos sanguíneos o trombogénesis, también se reduce por la acidosis extracelular, mediada por la vía de entrada de iones de calcio [12]. La formación de un coágulo de sangre suficiente ofrece un enlace directo y estable en la interfaz hueso-implante y desempeña un papel importante en las respuestas trombogénicas y la osteointegración [13]. Además, se encontró una relación entre varias superficies del implante y la extensión del coágulo de fibrina [14]. En nuestro estudio anterior, se introdujo una nueva superficie SA recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento con vacío-UV (VUV) [15,16]. Esta superficie se asoció estrechamente con una mayor afinidad por las proteínas, las células y las plaquetas, lo que promovió una coagulación sanguínea rápida y estable, trombogénesis y osteointegración. El propósito del presente estudio fue evaluar y comparar la humectabilidad de la superficie y la capacidad de coagulación de la sangre de varias superficies de implantes, incluida una superficie SA convencional (SA), una superficie SA con tratamiento VUV (SA + VUV) y una superficie SA recubierta con un agente amortiguador de pH después del tratamiento VUV (SA + VUV + BS), mediante análisis *in vitro* e *in vivo*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación de los implantes

Figura 1.

Observación morfológica de una superficie arenada y grabada al ácido (SA) mediante microscopio electrónico de barrido (SEM) a $\times 500$ (a) y $\times 4000$ aumentos (b); c) Comparación de los ángulos de contacto de la sangre de oveja desfibrinada en discos de titanio e implantes, respectivamente. SA, una superficie SA convencional; SA + VUV + BS, una superficie SA recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento UV-vacío.



Se prepararon implantes de titanio comercialmente puro (grado IV) como SA, SA + VUV (TS III SA, Osstem, Seúl, Corea) y SA + VUV + BS (TS III SOI, Osstem) para su uso en este estudio. Como se muestra en la Figura 1a,b, se midió que la rugosidad de la superficie de los accesorios del implante era de $2,5 \pm 0,5 \mu\text{m}$ del valor de Ra [15], y el tratamiento VUV para la fotofuncionalización se logró exponiendo un accesorio del implante a lámparas de arco de mercurio de baja presión que emiten UV-C y VUV en el limpiador de ozono UV durante 1 h. El recubrimiento de la superficie del implante con un agente amortiguador de pH, compuesto por grupos iónicos cargados positiva y negativamente, con un valor de pKa de 7,31 a 37 °C [15,16], se complementó para una mejor superhidrofilia (Figura 1c).

2.2. Ensayos in vitro

2.2.1. Humectabilidad estática de la superficie

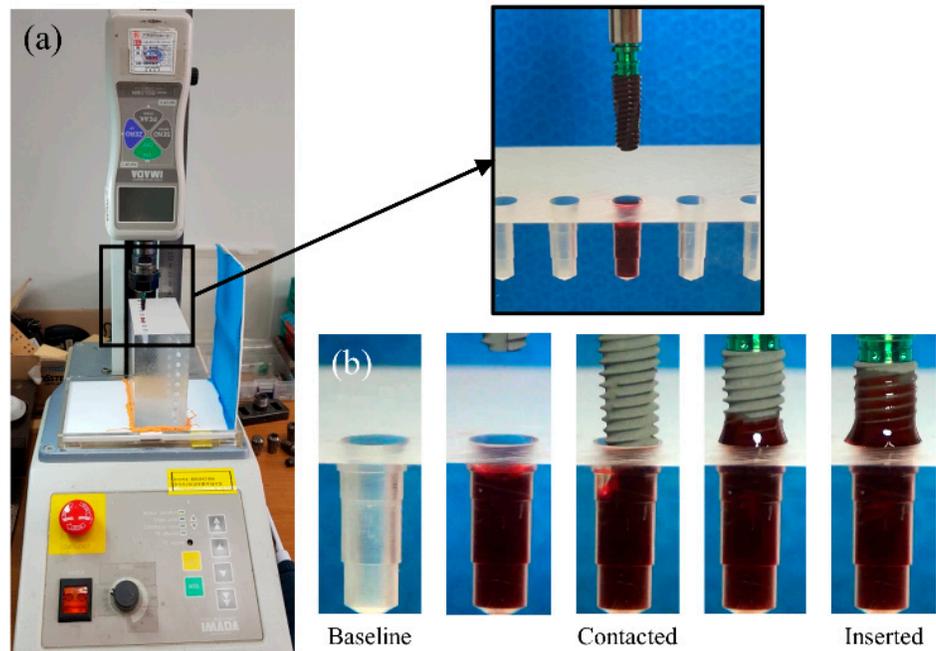
La sangre de oveja heparinizada llenó un plato de 3,5 cm de diámetro a una profundidad de 2 a 3 cm. Los accesorios de implante de SA + VUV y SA + VUV + BS ($n = 5$, respectivamente) se sumergieron en sangre hasta la interrupción superior de las roscas apicales, y se registró el tiempo hasta llegar a la parte superior del implante para calcular la velocidad de humectación. El tiempo no se contabilizó desde el ápice del implante, ya que la presencia de discontinuidad de las roscas apicales hizo que la absorción de sangre se detuviera bruscamente.

2.2.2. Humectabilidad dinámica de la superficie

Para simular las situaciones clínicas de la instalación de la fijación del implante, se realizaron orificios en una placa acrílica transparente para asegurar la visibilidad, de acuerdo con el protocolo de fresado del fabricante para la densidad ósea dura utilizando el 122 Taper Kit (Osstem). Se colocó una muestra de 130 μ M de sangre de oveja desfibrinada en cada orificio de la placa acrílica, y los accesorios de implante de SA + VUV y SA + VUV + BS ($n = 5$, respectivamente) se sumergieron en el orificio mediante un dispositivo de empuje y tracción (MX-500N, Imada Co., Tokio, Japón) a una velocidad de 50 mm/min (MX-500N, Imada Co., Tokio, Japón), y se registraron los tiempos en que la sangre alcanzó hasta los puntos de 2 mm y 4 mm del eje central del implante por encima de la placa horizontal (figura 2).

Figura 2.

Ensayo in vitro de humectabilidad dinámica de la superficie:
a) una placa acrílica transparente con orificios para los implantes en un dispositivo de empuje y tracción;
b) línea de base, contacto del implante con la sangre e inserción completa del implante en el orificio.



2.2.3. Coagulación sanguínea estática

Los implantes de SA + VUV y SA + VUV + BS, de 11,5 mm de largo y 4,5 mm de diámetro ($n = 5$, respectivamente), se sumergieron hasta sus extremos en una placa de 3,5 cm de diámetro llena de 3 mL de sangre de oveja no heparinizada. El peso (g) del coágulo de sangre alrededor del implante se midió a los 5 min, 7,5 min, 10 min y 12,5 min, respectivamente.

2.2.4. Coagulación dinámica de la sangre

Este modelo de coagulación activa de la sangre se diseñó para simular el suministro continuo de sangre por los capilares. Los accesorios de implante SA + VUV y SA + VUV + BS, que tenían 10 mm de largo y un diámetro de 4,0 mm ($n = 5$), se insertaron con 5 N cm de par de inserción preestablecido en un tubo Eppendorf modificado, que se conectó a una bomba de jeringa que infundía la sangre de oveja, mezclada con 1 UI/mL de heparina, en la parte inferior a 37 °C. Después de 30 min de suministro de sangre a una velocidad de infusión de 0,05 mL/min, se midió el tiempo (min) hasta que la sangre dejó de caer por la formación de coágulos de sangre alrededor del accesorio del implante y el volumen (mL) de sangre, que se recogió en el tubo subyacente de 15 mL debajo del tubo de Eppendorf.

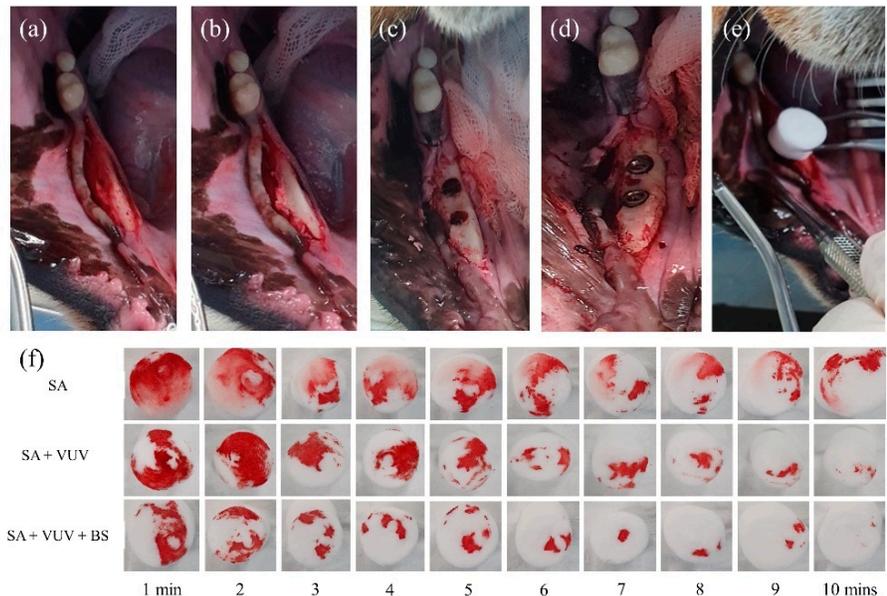
2.3. Ensayo in vivo

Se utilizó un modelo de mandíbula de perro beagle. Todos los procedimientos se realizaron con la aprobación del Comité de Ética de Experimentación Animal del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (CRONEX-IACUC 20191002; Cronex, Hwasung, Corea) de acuerdo con las directrices de Animal Research: Reporting in Vivo Experiments (ARRIVE).

Cuatro hembras de beagle de 18 meses de edad fueron sometidas a extracción bilateral de sus premolares mandibulares y el primer molar bajo anestesia general. El protocolo anestésico para todos los procedimientos quirúrgicos incluyó una inyección intramuscular de 1 mL con una dosis de 15 mg/kg de tiletamina/zolazepam (Zoletil 50, Virbac, Seúl, Corea) y 5 mg/kg de xilacina (Rompun, Bayer Corea, Seúl, Corea). Después de la anestesia local, se elevó un colgajo mucoperióstico de espesor completo adyacente a los premolares y molares mandibulares (Figura 3). Los dientes se hemiseccionaron bajo abundante irrigación con una pequeña fresa de fisura. Las extracciones se realizaron con elevadores y fórceps. Los colgajos se cerraron con suturas interrumpidas simples. El protocolo de cuidados postoperatorios incluyó antibióticos y control del dolor. Durante este intervalo, todos los perros se mantuvieron con una dieta blanda y agua ad libitum.

Figura 3.

Prueba in vivo de la coagulación de la sangre:
 a) incisión y apertura del colgajo;
 b) aplanamiento de la cresta alveolar;
 c) preparación de orificios de implantes;
 d) colocación de la fijación del implante;
 e) aplicación de pellets de algodón para la absorción de hemorragias;
 f) Patrón de pellets de algodón según el tiempo. SA, una superficie SA convencional; SA + VUV, una superficie SA con tratamiento UV-vacío; SA + VUV + BS, una superficie SA recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento al vacío-UV.



Tres meses después de las extracciones, se realizó la colocación quirúrgica de implantes dentales en los sitios de extracción cicatrizados en condiciones estériles. Después de la anestesia local, se elevó un colgajo de espesor completo para exponer la cresta alveolar y se aplanó la cresta alveolar irregular. Se realizaron fresados secuenciales para sitios de implantes consecutivos, que eran más grandes que el accesorio del implante, utilizando una fresa guía, una helicoidal de 2,2 mm, una cónica de 3,0 mm, una fresa cónica de 4,0 mm y una fresa cónica de 6,0 mm. Se colocaron bilateralmente un total de 12 implantes de SA, SA + VUV y SA + VUV + BS, de 8,5 mm de largo con un diámetro de 3,5 mm, con 35 N cm de torque de inserción preestablecido. El sangrado completo del espacio entre el orificio y el accesorio del implante se colocó en una bolita de algodón hasta 10 minutos después de la colocación del implante, y el peso (g) de la bolita de algodón se midió cada minuto para evaluar el potencial de coagulación de la sangre de las fijaciones del implante. Todos los animales de experimentación fueron sacrificados después de la cirugía por una sobredosis intravenosa de cloruro de potasio.

2.4. Análisis estadístico

Debido al pequeño tamaño de la muestra, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, que es una comparación no paramétrica de la diferencia de las medias sin supuesto de normalidad, para examinar las diferencias entre SA + VUV y S + VUV + BS in vitro y entre SA, SA + VUV y SA + VUV + BS in vivo, con una significación estadística de $p < 0,05$ a $\alpha = 0,05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS, versión 9.4 (SAS Inc., Cary, NC, USA).

3. RESULTADOS

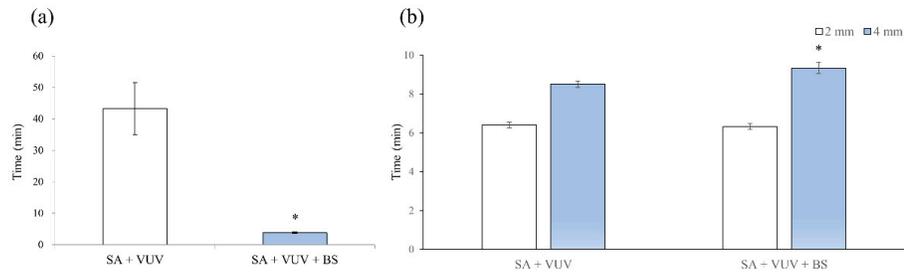
3.1. Preparación de los implantes

3.1.1. Humectabilidad estática de la superficie

Los tiempos transcurridos antes de que la sangre llegara a la parte superior del implante fueron de $43,3 \pm 8,3$ min y de $3,8 \pm 0,3$ min en SA + VUV y SA + VUV + BS, respectivamente, y se evidenció una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre ambos (Figura 4a).

Figura 4.

Ensayo in vitro de humectabilidad estática y dinámica de la superficie: a) tiempo (min) para llegar a la parte superior del implante; b) tiempo (min) para alcanzar 2 mm y 4 mm por encima de la placa horizontal, respectivamente. SA + VUV, una superficie SA con tratamiento UV-vacío; SA + VUV + BS, una superficie SA recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento UV-vacío. Media \pm DE, * $p < 0,05$ por la prueba de Kruskal-Wallis.



3.1.2. Humectabilidad dinámica de la superficie

Los períodos de tiempo antes de que la sangre alcanzara los 2 mm por encima de la placa horizontal fueron de $6,4 \pm 0,1$ min y de $6,3 \pm 0,2$ min, y para 4 mm por encima de la placa horizontal, fueron de $8,5 \pm 0,2$ min y $9,3 \pm 0,3$ min en SA + VUV y SA + VUV + BS, respectivamente. Solo se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre SA + VUV y SA + VUV + BS durante el tiempo anterior a que la sangre alcanzara 4 mm por encima de la placa horizontal (Figura 4b)

3.1.3. Coagulación sanguínea estática

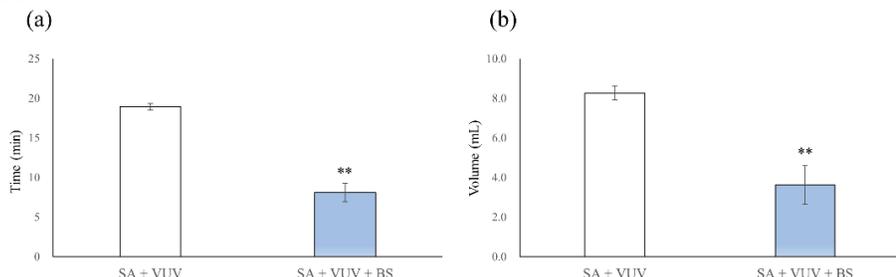
En SA + VUV, los pesos del coágulo sanguíneo formado alrededor de la fijación del implante, que se midieron a los 5 min, 7,5 min, 10 min y 12,5 min después de sumergir la fijación del implante en la sangre, fueron de $0,04 \pm 0,01$ g, $0,09 \pm 0,03$ g, $0,23 \pm 0,06$ g y $0,39 \pm 0,16$ g, respectivamente. En SA + VUV + BS, los pesos fueron de $0,07 \pm 0,03$ g, $0,12 \pm 0,02$ g, $0,39 \pm 0,20$ g y $0,61 \pm 0,18$ g, respectivamente, y no se midieron diferencias estadísticamente significativas entre SA + VUV y SA + VUV + BS en ningún momento ($p > 0,05$).

3.1.4. Coagulación dinámica de la sangre

Los tiempos de hemostasia completa fueron de $19,0 \pm 0,4$ min y de $8,1 \pm 1,2$ min en SA + VUV y SA + VUV + BS, respectivamente, y hubo diferencia estadísticamente significativa entre SA + VUV y SA + VUV + BS ($p < 0,01$, Figura 5a). Además, los volúmenes de sangre recolectados en el tubo subyacente fueron de $8,27 \pm 0,36$ mL y de $3,64 \pm 0,99$ mL en SA + VUV y SA + VUV + BS, respectivamente, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$, Figura 5b) evidente entre SA + VUV y SA + VUV + BS.

Figura 5.

Prueba in vitro de coagulación sanguínea dinámica: a) tiempo (min) hasta la hemostasia completa; b) volumen (mL) de la sangre recolectada en el tubo subyacente. SA + VUV, una superficie SA con tratamiento UV-vacío; SA + VUV + BS, una superficie SA recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento UV-vacío. Media \pm DE, ** $p < 0,01$ por la prueba de Kruskal-Wallis.



3.2. Ensayo in vivo

Entre SA, SA + VUV y SA + VUV + BS, hubo diferencias estadísticamente significativas en los pesos de la sangre total absorbida en el pellet de algodón medido a los 5 min, 6 min y 7 min ($p < 0,01$, Figura 6). En la Tabla 1 se muestran los estadísticos resumidos de este estudio.

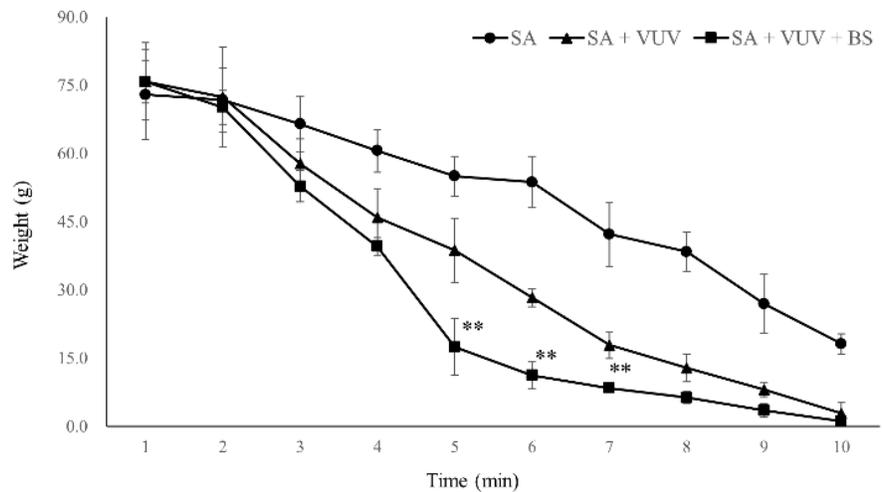
Tabla 1. Resumen estadístico de este estudio.

Tests	Categorías	Grupos	N	X2	DF	p Valor
In vitro	Humectabilidad estática superficial	SA+VUV vs. SA+VUV+BS	5	3.8571	1	0.0495*
	Humectabilidad dinámica superficial	SA+VUV vs. SA+VUV+BS	5	-	-	-
	2mm	-	-	0.4839	1	0.4867
	4min	-	-	4.5000	1	0.0339*
	Coagulación sanguínea estática	SA+VUV vs. SA+VUV+BS	5	-	-	-
	5 min	-	-	2.3333	1	0.1266
	7.5 min	-	-	1.1905	1	0.2752
	10 min	-	-	2.3333	1	0.1266
	12.5	-	-	1.1905	1	0.2752
	Coagulación sanguínea dinámica	SA+VUV vs. SA+VUV+BS	5	-	-	-
	Tiempo	-	-	12.9630	2	0.0015**
	Volumen	-	-	12.5448	2	0.0019**
	In vivo	Coagulación sanguínea	SA vs. SA+VUV vs. SA + VUV+BS	4	9.8462	2

DF: grados de libertad, N: número de muestras, SA: una superficie SA convencional; SA + VUV: una superficie SA con tratamiento UV-vacío; SA + VUV + BS: una superficie SA recubierta con un agente amortiguador de pH después del tratamiento UV-vacío. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$ por la prueba de Kruskal-Wallis.

Figura 6.

Prueba in vivo de coagulación de la sangre. Peso (g) de la sangre total absorbida en el pellet de algodón medido desde cada sitio del implante según el tiempo. SA, una superficie SA convencional; SA + VUV, una superficie SA con tratamiento UV-vacío; SA + VUV + BS, una superficie SA recubierta con un agente amortiguador del pH después del tratamiento UV-vacío. Media \pm DE, ** $p < 0,01$ por la prueba de Kruskal-Wallis.



● 73.0 ± 9.8 71.8 ± 7.0 66.5 ± 6.1 60.6 ± 4.7 55.1 ± 4.4 53.8 ± 5.6 42.3 ± 7.1 38.4 ± 4.3 27.0 ± 6.5 18.2 ± 2.2
 ▲ 75.9 ± 8.5 72.4 ± 11.0 57.8 ± 5.5 46.0 ± 6.3 38.8 ± 7.0 28.4 ± 2.0 17.9 ± 2.9 12.9 ± 3.1 8.1 ± 1.6 2.9 ± 2.4
 ■ 75.8 ± 4.7 70.2 ± 3.7 52.8 ± 3.4 39.6 ± 1.9 17.5 ± 6.4 11.3 ± 2.9 8.4 ± 0.7 6.4 ± 1.4 3.5 ± 1.5 1.2 ± 0.2

4. DISCUSIÓN

Se ha propuesto la fotofuncionalización UV, un método para modificar las superficies de titanio después del tratamiento UV que incluye la alteración de las propiedades fisicoquímicas y la mejora de las biocompatibilidades, para restablecer el envejecimiento biológico del titanio [7]. Después del tratamiento con radiación UV, la capa de TiO₂ de una superficie de titanio incorporada con hidrocarburos se volvió notablemente hidrófila o superhidrófila.

Se sabe que la cantidad de carbono de la superficie varía dependiendo de la edad de la superficie y, según se informa, puede aumentar a aproximadamente el 60% al 70% de los componentes atómicos de la superficie. El tratamiento UV limpia dichas superficies de titanio contaminadas con carbono, reduciendo el porcentaje de carbono a menos del 20% y, al mismo tiempo, aumentando el nivel de osteointegración [7]. En el espectro UV, tanto la UV-A como la UV-C convierten las superficies de titanio biológicamente envejecidas de hidrofóbicas a superhidrofilicas, pero solo se sabe que la UV-C (200-280 nm) reduce eficazmente el carbono de la superficie a un nivel equivalente a una nueva superficie y mejora la bioactividad [17]. La UV-C es capaz de eliminar el hidrocarburo de una capa de TiO₂ de titanio mediante fotodescomposición directa, que es más eficaz que la fotocatalisis por UV-A [18]. En nuestro estudio, todos los accesorios del implante fueron fotofuncionalizados por UV-C y VUV (100-200 nm), y la eliminación radical del hidrocarburo de la capa de TiO₂ del titanio podría proporcionar más superhidrofilicidad [15,19]. El VUV es absorbido rápidamente por el agua en la atmósfera y, por lo tanto, es capaz de generar varias especies reactivas de oxígeno al romper los enlaces de hidrógeno en las moléculas de agua a través de la hidrólisis [19]. La hidrólisis iniciada por VUV es un método eficiente para obtener grupos hidróxido o hidroxilo en una capa de TiO₂ que proporciona una superhidrofilicidad persistente [20,21]. Dado que el tratamiento VUV tiende a generar más ozono en la atmósfera y radicales hidroxilo en el agua [19], debe limitarse estrictamente solo en entornos de laboratorio o fábrica, no clínicos.

Para acelerar la cicatrización ósea y mejorar el anclaje óseo a un implante, la interfaz hueso/implante puede mejorarse topográfica y bioquímicamente incorporando fases inorgánicas, como el fosfato de calcio, y moléculas orgánicas, como proteínas, enzimas o péptidos, en o dentro de una capa de TiO₂ [22-25]. Las superficies de implantes nanoestructuradas, que tienen una amplia superficie, alta energía superficial libre y humectabilidad, parecen capaces de modificar la respuesta del tejido huésped [9]. Las superficies de implante SA han demostrado resultados clínicos predecibles y se consideran como superficies de implante estándar [10,26-29]. La superhidrofilicidad de SA + VUV + BS, que se encontró previamente en la superficie plana de los discos [15], se confirmó en nuestra prueba de humectabilidad de la superficie estática. Dado que la capacidad de atraer sangre cerca de la parte superior del accesorio del implante (aproximadamente 4 mm por encima de la placa horizontal en nuestro estudio) es lo que la mayoría de los odontólogos prefieren verificar en un entorno clínico, agregamos una nueva prueba dinámica de humectabilidad de la superficie para comparar las velocidades de humectación de SA + VUV y SA + VUV + BS con más detalle. Dado que el SA es una superficie seca que no ha estado en contacto con ningún líquido, la humectabilidad de la superficie de SA + VUV + BS podría ser significativamente superior a la del SA únicamente por el efecto del agente amortiguador del pH de SA + VUV + BS en sí. Sin embargo, dado que los implantes se colocan con superficies secas o sin ninguna hidratación adicional en situaciones clínicas reales, elegimos un SA puro/seco, en lugar de un SA hidratado en solución, como control [30]. Previamente se encontró que una superficie más hidrófila estaba estrechamente relacionada con una osteointegración superior y más rápida [30,31].

Además, se sabe que la humectabilidad de la superficie altera las respuestas biológicas de las superficies de los implantes con respecto a la adhesión de proteínas y otras moléculas, así como las interacciones celulares [32].

Dado que la formación de coágulos sanguíneos señala el comienzo del proceso de curación, la interacción entre un implante y la sangre se considera importante para el éxito de la osteointegración de los implantes de titanio después de la implantación [33]. La formación de coágulos sanguíneos en superficies rugosas de titanio puede inducir el reclutamiento celular y estimular la cicatrización de heridas [34], y se ha revelado que tanto los preosteoblastos como los osteoblastos pueden adherirse a una superficie del implante cubierta por plaquetas y fibrina, donde se diferencian bajo la estimulación de factores osteogénicos y citocinas liberadas del coágulo sanguíneo periimplantario [35,36]. Se cree que la formación de coágulos de sangre en el implante con varias superficies de implante es un factor crucial en la retención efectiva de fibrina y puede afectar críticamente la cicatrización ósea y la osteointegración al influir en el transporte de macromoléculas, el comportamiento celular y la osteogénesis de contacto/distancia [34]. En una prueba de coagulación sanguínea estática, el SA + VUV + BS mostró una absorción de sangre superior alrededor de los accesorios del implante en comparación con SA + VUV, pero no en un grado estadísticamente significativo. Esto indica que una superficie SA fotofuncionalizada con VUV tiene al menos la misma capacidad en la coagulación de la sangre. Diseñamos nuevos experimentos para confirmar la coagulación sanguínea por hemostasia de hemorragias capilares continuas para simular situaciones clínicas reales con la mayor precisión posible. En una prueba de coagulación sanguínea dinámica in vitro, los coágulos se formaron significativamente más rápido, y el volumen total de sangre recolectada a través del espacio entre los orificios y el implante a la hemostasia fue significativamente menor en SA + VUV + BS que en SA + VUV. Una prueba in vivo también mostró una diferencia significativa en el peso total del sangrado entre el lecho sobrepregado y un implante entre SA, SA + VUV y SA + VUV + BS. Esto sugiere que SA + VUV + BS puede inducir una formación más rápida de coágulos sanguíneos alrededor de la superficie del implante, lo que conduce a una interacción más efectiva de la interfaz hueso-implante para la osteointegración. Desde el punto de vista clínico, estas características de SA + VUV + BS son importantes para visualizar el sitio quirúrgico y la regeneración ósea guiada simultánea, que con frecuencia está indicada por la cantidad y calidad adecuadas de tejidos periimplantarios para obtener resultados más estéticos y funcionales [37], ya que la coagulación rápida de la sangre está estrechamente asociada con la estabilización del material de injerto y la membrana de barrera. Por último, SA + VUV podría ser una alternativa a SA + VUV + BS a SA con respecto al potencial de formación de coágulos sanguíneos en las superficies de los implantes.

Durante la perforación del hueso, que produce una condición débilmente ácida, un tampón de pH puede ayudar a mantener el pH constante [38]. Como material de recubrimiento, el agente amortiguador del pH parece controlar la liberación de los mediadores inflamatorios [9] y mejorar las condiciones para la actividad de los osteoblastos [15] al mantener el pH constante o al menos prevenir cambios significativos. La actividad de las plaquetas en la coagulación de la sangre y tanto la actividad de los osteoblastos como el nivel de ALP para la formación de hueso también se ven inhibidos por la acidosis extracelular [11]. SA + VUV + BS podría maximizar la actividad de las plaquetas, la trombogénesis, la actividad de los osteoblastos y el nivel de ALP en una interfaz hueso-implante a través de un efecto amortiguador del pH. Serán necesarios más estudios para investigar SA + VUV + BS con respecto a su seguridad y eficacia en entornos clínicos. También se debe realizar un seguimiento de ensayos controlados aleatorios para confirmar su viabilidad en diversas condiciones clínicas, como la colocación de implantes inmediatamente después de la extracción dental o con aumento óseo simultáneo.

Contribuciones del autor: conceptualización, C.-J.P. and H.-K.P.; metodología I.-S.J. and J.-D.S.; software, A.M.K. and H.-K.P.; validación, C.-J.P., K.-G.H., and H.-K.P.; Análisis formal, J.H.L., M.T., K.-G.H., and A.M.K.; investigación, I.-S.J. and J.-D.S.; Recursos M.T., K.-G.H., and J.H.L.; Procesado de datos, H.C., G.-J.C., and C.K.; Escritura: preparación del borrador original, C.-J.P. and J.H.L.; Redacción: revisión y edición, M.T., H.C., and S.H.J.; visualización G.-J.C., C.K., and S.H.J.; supervisión H.-K.P. Todos los autores han leído y están de acuerdo con la versión publicada del manuscrito.

Financiación: Esta investigación fue apoyada por el fondo de investigación del Centro Global de Trastornos del Desarrollo de Medicine-Engineering-Bio (MEB) de la Universidad de Hanyang (HY-2020-000-0000-2809).

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Özcan, M.; Hämmerle, C. Titanium as a reconstruction and implant material in dentistry: Advantages and pitfalls. *Materials* 2012, 5, 1528–1545. [CrossRef]
2. Ehrenfest, D.M.D.; Coelho, P.G.; Kang, B.S.; Sul, Y.T.; Albrektsson, T. Classification of osseointegrated implant surfaces: Materials, chemistry and topography. *Trends Biotechnol.* 2010, 28, 198–206. [CrossRef]
3. Milošev, I.; Metikoš-Huković, M.; Strehblow, H.H. Passive film on orthopedic TiAlV alloy formed in physiological solution investigated by X-ray photoelectron spectroscopy. *Biomaterials* 2000, 21, 2103–2113. [CrossRef]
4. Lee, J.H.; Ogawa, T. The biological aging of titanium implants. *Implant Dent.* 2012, 21, 415–421. [CrossRef]
5. Hori, N.; Att, W.; Ueno, T.; Sato, N.; Yamada, M.; Saruwatari, L.; Suzuki, T.; Ogawa, T. Age-dependent degradation of the protein adsorption capacity of titanium. *J. Dent. Res.* 2009, 88, 663–667. [CrossRef]
6. Hori, N.; Ueno, T.; Suzuki, T.; Iwasa, F.; Yamada, M.; Att, W.; Okada, S.; Ohno, A.; Aita, H.; Kimoto, K. Ultraviolet light treatment for the restoration of age-related degradation of titanium bioactivity. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* 2010, 25, 49–62.
7. Ogawa, T. Ultraviolet photofunctionalization of titanium implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* 2014, 29, e95–e102. [CrossRef] [PubMed]
8. Rosales-Leal, J.; Rodríguez-Valverde, M.; Mazzaglia, G.; Ramón-Torregrosa, P.; Díaz-Rodríguez, L.; García-Martínez, O.; Vallecillo-Capilla, M.; Ruiz, C.; Cabrerizo-Vílchez, M. Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects* 2010, 365, 222–229. [CrossRef]

9. Cicciù, M.; Fiorillo, L.; Herford, A.S.; Crimi, S.; Bianchi, A.; D'Amico, C.; Laino, L.; Cervino, G. Bioactive titanium surfaces: Interactions of eukaryotic and prokaryotic cells of nano devices applied to dental practice. *Biomedicines* 2019, 7, 12. [CrossRef]
10. Li, D.; Ferguson, S.J.; Beutler, T.; Cochran, D.L.; Sittig, C.; Hirt, H.P.; Buser, D. Biomechanical comparison of the sandblasted and acid-etched and the machined and acid-etched titanium surface for dental implants. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 60, 325–332. [CrossRef]
11. Kaysinger, K.K.; Ramp, W.K. Extracellular pH modulates the activity of cultured human osteoblasts. *J. Cell. Biochem.* 1998, 68, 83–89. [CrossRef]
12. Marumo, M.; Suehiro, A.; Kakishita, E.; Groschner, K.; Wakabayashi, I. Extracellular pH affects platelet aggregation associated with modulation of store-operated Ca²⁺ entry. *Thromb. Res.* 2001, 104, 353–360. [CrossRef]
13. Hong, J.; Kurt, S.; Thor, A. A hydrophilic dental implant surface exhibit thrombogenic properties in vitro. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* 2013, 15, 105–112. [CrossRef]
14. Di Iorio, D.; Traini, T.; Degidi, M.; Caputi, S.; Neugebauer, J.; Piattelli, A. Quantitative evaluation of the fibrin clot extension on different implant surfaces: An in vitro study. *J. Biomed. Mater. Res.* 2005, 74, 636–642. [CrossRef]
15. Pae, H.C.; Kim, S.K.; Park, J.Y.; Song, Y.W.; Cha, J.K.; Paik, J.W.; Choi, S.H. Bioactive characteristics of an implant surface coated with a pH buffering agent: An in vitro study. *J. Periodontal Implant. Sci.* 2019, 49, 366–381. [CrossRef]
16. Cho, Y.S.; Hwang, K.G.; Jun, S.H.; Tallarico, M.; Kwon, A.M.; Park, C.J. Radiologic comparative analysis between saline and platelet-rich fibrin filling after hydraulic transcrestal sinus lifting without adjunctive bone graft: A randomized controlled trial. *Clin. Oral Implant. Res.* 2020. [CrossRef] [PubMed]
17. Att, W.; Hori, N.; Iwasa, F.; Yamada, M.; Ueno, T.; Ogawa, T. The effect of UV-photofunctionalization on the time-related bioactivity of titanium and chromium–cobalt alloys. *Biomaterials* 2009, 30, 4268–4276. [CrossRef]
18. Shie, J.L.; Lee, C.H.; Chiou, C.S.; Chang, C.T.; Chang, C.C.; Chang, C.Y. Photodegradation kinetics of formaldehyde using light sources of UVA, UVC and UVLED in the presence of composed silver titanium oxide photocatalyst. *J. Hazard. Mater.* 2008, 155, 164–172. [CrossRef]
19. McGivney, E.; Carlsson, M.; Gustafsson, J.P.; Gorokhova, E. Effects of UV-C and Vacuum-UV TiO₂ advanced oxidation processes on the acute mortality of microalgae. *Photochem. Photobiol.* 2015, 91, 1142–1149. [CrossRef]
20. Westall, J.; Hohl, H. A comparison of electrostatic models for the oxide solution interface. *Adv. Colloid Interface Sci.* 1980, 12, 265–294. [CrossRef]
21. Tang, L.; Thevenot, P.; Hu, W. Surface chemistry influences implant biocompatibility. *Curr. Top. Med. Chem.* 2008, 8, 270–280. [CrossRef]

22. Coelho, P.G.; Granjeiro, J.M.; Romanos, G.E.; Suzuki, M.; Silva, N.R.; Cardaropoli, G.; Thompson, V.P.; Lemons, J.E. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* 2009, 88, 579–596. [CrossRef]
23. Puleo, D.; Nanci, A. Understanding and controlling the bone–implant interface. *Biomaterials* 1999, 20, 2311–2321. [CrossRef]
24. Morra, M.; Cassinelli, C.; Cascardo, G.; Mazzucco, L.; Borzini, P.; Fini, M.; Giavaresi, G.; Giardino, R. Collagen I-coated titanium surfaces: Mesenchymal cell adhesion and in vivo evaluation in trabecular bone implants. *J. Biomed. Mater. Res.* 2006, 78, 449–458. [CrossRef] [PubMed]
25. Morra, M. Biochemical modification of titanium surfaces: Peptides and ECM proteins. *Eur. Cell. Mater.* 2006, 12, 15. [CrossRef]
26. Makowiecki, A.; Hadzik, J.; Błaszczyszyn, A.; Gedrange, T.; Dominiak, M. An evaluation of superhydrophilic surfaces of dental implants—a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health* 2019, 19, 79. [CrossRef]
27. Khandelwal, N.; Oates, T.W.; Vargas, A.; Alexander, P.P.; Schoolfield, J.D.; Alex McMahan, C. Conventional SLA and chemically modified SLA implants in patients with poorly controlled type 2 diabetes mellitus—A randomized controlled trial. *Clin. Oral Implant. Res.* 2013, 24, 13–19. [CrossRef]
28. Kokovic, V.; Jung, R.; Feloutzis, A.; Todorovic, V.S.; Jurisic, M.; Hämmerle, C.H. Immediate vs. early loading of SLA implants in the posterior mandible: 5-year results of randomized controlled clinical trial. *Clin. Oral Implant. Res.* 2014, 25, e114–e119. [CrossRef]
29. Cesaretti, G.; Botticelli, D.; Renzi, A.; Rossi, M.; Rossi, R.; Lang, N.P. Radiographic evaluation of immediately loaded implants supporting 2–3 units fixed bridges in the posterior maxilla: A 3-year follow-up prospective randomized controlled multicenter clinical study. *Clin. Oral Implant. Res.* 2016, 27, 399–405. [CrossRef]
30. Buser, D.; Broggin, N.; Wieland, M.; Schenk, R.; Denzer, A.; Cochran, D.; Hoffmann, B.; Lussi, A.; Steinemann, S. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J. Dent. Res.* 2004, 83, 529–533. [CrossRef]
31. Lang, N.P.; Salvi, G.E.; Huynh-Ba, G.; Ivanovski, S.; Donos, N.; Bosshardt, D.D. Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. *Clin. Oral Implant. Res.* 2011, 22, 349–356. [CrossRef] [PubMed]
32. Gittens, R.A.; Scheideler, L.; Rupp, F.; Hyzy, S.L.; Geis-Gerstorfer, J.; Schwartz, Z.; Boyan, B.D. A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects. *Acta Biomater.* 2014, 10, 2907–2918. [CrossRef]
33. Shiu, H.T.; Goss, B.; Lutton, C.; Crawford, R.; Xiao, Y. Formation of blood clot on biomaterial implants influences bone healing. *Tissue Eng. Part B Rev.* 2014, 20, 697–712. [CrossRef]

34. Yang, J.; Zhou, Y.; Wei, F.; Xiao, Y. Blood clot formed on rough titanium surface induces early cell recruitment. *Clin. Oral Implant. Res.* 2016, 27, 1031–1038. [CrossRef]
35. Gassling, V.; Hedderich, J.; Açil, Y.; Purcz, N.; Wiltfang, J.; Douglas, T. Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications. *Clin. Oral Implant. Res.* 2013, 24, 320–328. [CrossRef]
36. Naik, B.; Karunakar, P.; Jayadev, M.; Marshal, V.R. Role of platelet rich fibrin in wound healing: A critical review. *J. Conserv. Dent.* 2013, 16, 284. [CrossRef]
37. Beretta, M.; Poli, P.P.; Pieriboni, S.; Tansella, S.; Manfredini, M.; Cicciù, M.; Maiorana, C. Peri-implant soft tissue conditioning by means of customized healing abutment: A randomized controlled clinical trial. *Materials* 2019, 12, 3041. [CrossRef]
38. Kohn, D.H.; Sarmadi, M.; Helman, J.I.; Krebsbach, P.H. Effects of pH on human bone marrow stromal cells in vitro: Implications for tissue engineering of bone. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 60, 292–299. [CrossRef]

Nota del editor: MDPI se mantiene neutral con respecto a las reclamaciones jurisdiccionales en los mapas publicados y las afiliaciones institucionales.



OSSTEM[®]
IMPLANT

 Avda. Manoteras, 32B. 28050 Madrid.

 91 013 69 49

 marketing.osstem.es