



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
CURSO DE ODONTOLOGIA

LARA VALE FROTA

**EFEITO DA LACCASE ASSOCIADA A CATECÓIS NO MOLHAMENTO EM
POLI(-ÉTER-ÉTER-CETONA) (PEEK)**

FORTALEZA – CE

2020

LARA VALE FROTA

**EFEITO DA LACCASE ASSOCIADA A CATECÓIS NO MOLHAMENTO EM
POLI(-ÉTER-ÉTER-CETONA) (PEEK)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do curso de Odontologia da Faculdade
de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da
Universidade Federal do Ceará como requisito parcial
para obtenção do Título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Karina Matthes de
Freitas Pontes

FORTALEZA – CE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F961c Frota, Lara Vale.
EFEITO DA LACCASE ASSOCIADA A CATECÓIS NO MOLHAMENTO EM POLI(-ÉTER-ÉTER-
CETONA) (PEEK) / Lara Vale Frota. – 2020.
29 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,
Odontologia e Enfermagem, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes.

1. PEEK. 2. Laccase. 3. Osseointegração. 4. Implante dentário. I. Título.

CDD 617.6

LARA VALE FROTA

**EFEITO DA LACCASE ASSOCIADA A CATECÓIS NO MOLHAMENTO EM
POLI(-ÉTER-ÉTER-CETONA) (PEEK)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do curso de Odontologia da Faculdade
de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da
Universidade Federal do Ceará como requisito parcial
para obtenção do Título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Karina Matthes de
Freitas Pontes

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Karina Matthes de Freitas Pontes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Lívia Maria Sales Pinto Fiamengui
Universidade Federal do Ceará

Profa. Ms. Iana Sá de Oliveira
Universidade Federal do Ceará

A Deus.

À minha família, por tantas razões

e pela maior de todas: amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, que em seu infinito amor tem guiado meus passos durante toda essa jornada chamada vida, além de me dá forças para buscar realizar todos os planos e sonhos quem tens para mim. Sei que ainda há muito o que percorrer, mas certamente Sua bondade e misericórdia me seguirão todos os dias.

Aos meus pais Roberto e Inês, por todas as razões deste mundo, não tenho palavras para descrever a importância de vocês em minha vida. Obrigada pelo amor, pela amizade, pela educação de qualidade, pelo incentivo e por nunca me deixarem desistir de qualquer que fosse meu sonho. Vocês são meu alicerce!

Ao meu irmão Paulo Roberto e minha cunhada Angelina, que sempre me apoiaram e torceram por meu sucesso e felicidade, muito obrigada por todo o carinho e por presentear a família com nossa linda e doce princesinha Bianca, sem dúvidas me tornar tia desse anjinho iluminou minha vida.

À minha querida avó Teresa, um grande exemplo de mulher de fé, garra e sabedoria, jamais conheci alguém com tamanha idoneidade. Vozinha, por todo seu amor e orações, minha eterna gratidão.

À minha grande amiga/eterna dupla Karol, que percorreu essa árdua jornada de faculdade ao meu lado, não foi nada fácil, bem sabemos, mas conseguimos amiga, vencemos! Acredito que algumas pessoas conhecemos e outras é Deus quem nos apresenta, você é um exemplo disso! Você foi fundamental para a realização desse sonho, uma parceira e tanto, sempre me incentivando, me aconselhando (com alguns puxões de orelha kkk), mas, sem dúvidas, uma amizade rara e verdadeira que levarei sempre em meu coração.

A todos os amigos que fiz durante a graduação e que tornaram os dias mais leves e descontraídos, vocês foram essenciais: Raquel, Vivi, Iza, Morgana, Jéssica, Tati, Luana, Dani, Jamille, Pâmela, Candice, João Vitor e Eline. (As mesinhas vão deixar saudades haha)

À minha amiga/irmã Rayssa, que mesmo à distância sempre cultivou nossa amizade com tanto carinho, torcendo e me incentivando durante todo esse percurso, afinal iniciamos esse sonho de ingressar na Federal juntas. Obrigada por todo apoio e irmandade, conte sempre comigo e minha família!

Agradeço imensamente a todos os membros do projeto GEDO, em especial às profas. Lívia Fiamengui e Karina Matthes, que me acolheram de braços abertos e me

ensinaram a cuidar muito além da saúde bucal, sendo sempre solícitas, carinhosas, humanas e grandes exemplos de pessoas e profissionais, fico extremamente feliz e grata por ter tido mentoras como vocês. Sem dúvidas, ter feito parte da família desse projeto incrível me fez crescer não apenas como acadêmica e futura profissional, mas principalmente como ser humano. Uma experiência ímpar e inesquecível!

Gostaria de externar novamente minha gratidão à profa. Karina, que também foi minha orientadora de Pibic e TCC. Agradeço carinhosamente por passar seus ensinamentos com tanta calma, doçura e sabedoria, tornando tudo mais leve, a sra. é um ser humano admirável!

Agradecer ao Matheus, que também me ajudou demais nessa correria de TCC e que me ensinou muito durante as pesquisas de laboratório (já sinto falta das gotinhas haha), sempre tão solícito e prestativo. Você é dez!

Aos professores e funcionários da Odontologia UFC, que nesses 05 anos me formaram com conhecimentos teóricos, clínicos e, principalmente, com a vida de cada um.

Em especial, agradeço também a todos os pacientes que foram fundamentais nesse processo de aprendizagem durante às práticas clínicas da graduação, muito obrigada pela confiança e por se disporem a contribuir para nossos conhecimentos e aprimoramento clínico. Vocês foram essenciais para essa conquista!

Por fim, agradeço imensamente a todos que tornaram esse sonho possível.

Fortaleça o motivo, pois assim você suporta o processo e alcança o propósito!

(Augusto Cury)

*“O que ninguém nunca viu nem ouviu,
e o que jamais alguém pensou
que poderia acontecer,
foi isso o que Deus preparou
para aqueles que o amam.”*

(1 Coríntios 2:9)

RESUMO

Introdução: Materiais alternativos ao titânio tem sido estudados para fabricação de implantes dentários e o poli(-éter-éter-cetona) (PEEK) tem propriedades promissoras, com exceção de sua superfície de baixa hidrofília. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo avaliar se o tratamento de superfície com catecóis mediado por laccase seria capaz de alterar a capacidade de molhamento, ou seja, aumentar a hidrofília no PEEK.

Material e Métodos: Discos de PEEK de dimensões 20 x 1,5 mm foram esterilizados com plasma de peróxido de hidrogênio previamente aos experimentos. Os catecóis (dopa, dopamina e ácido cafeico) e a enzima laccase foram dissolvidos, separadamente, em solução de acetato pH 4,75 a uma concentração de 0,5 mg/mL. Os discos de PEEK foram distribuídos nos seguintes grupos (n=3): controle negativo acetato (2 mL), laccase (1 mL laccase 0,5 mg/mL + 1 mL acetato), dopa (1 mL dopa 0,5 mg/mL + 1 mL acetato), dopamina (1 mL dopamina 0,5 mg/mL + 1 mL acetato), ácido cafeico (1 mL ácido cafeico 0,5 mg/mL + 1 mL acetato); dopa+laccase (1 mL dopa 0,5 mg/mL + 1 mL laccase 0,5 mg/mL), dopamina+laccase (1 mL dopamina 0,5 mg/mL + 1 mL laccase 0,5 mg/mL), ácido cafeico+laccase (1 mL ácido cafeico 0,5 mg/mL + 1 mL laccase 0,5 mg/mL). As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 18 horas e foram lavadas com água destilada e secas. Foi medido o ângulo de contato de 4 µL de água destilada 0, 10, 30 minutos e 1, 2, 4 e 24 horas após os tratamentos. Novas medidas foram feitas após 1 e 2 semanas e 1 mês. Os valores obtidos foram expressos por meio de média e desvio padrão.

Resultados: Foram feitas comparações estatísticas na forma intragrupo e intergrupo. Os ângulos de contato dos grupos laccase ($41,1^\circ \pm 0,9$; $p < 0,0001$) e laccase associada a catecóis ($p < 0,0001$) permaneceram estatisticamente iguais ao imediato por 30 minutos, porém o grupo laccase + dopamina ($18,5^\circ \pm 2,3$; $p < 0,0001$) sustentou o valor inicial por 2 horas, além de ter apresentado o menor ângulo de contato entre todos quando comparado ao grupo controle acetato ($85,6^\circ \pm 0,6$; $p < 0,0001$). **Conclusão:** O tratamento enzimático em PEEK demonstrou-se promissor, ao diminuir substancialmente o ângulo de contato e promover, assim, aumento do molhamento de superfície e, conseqüentemente, da hidrofília.

Palavras-chave: Peek. Laccase. Osseointegração. Implante dentário.

ABSTRACT

Introduction: Alternative materials to titanium have been studied for dental implants and poly(-ether-ether-ketone) (PEEK) has promising properties, except for its low hydrophilic surface. **Objective:** This study aimed to evaluate whether surface treatment with laccase-mediated catechols would be able to alter wetting capacity, increasing hydrophilia in PEEK. **Material and Methods:** PEEK disks (20 x 1,5 mm) were previously sterilized with hydrogen peroxide plasma. The catechols (dopa, dopamine and caffeic acid) and the laccase enzyme were dissolved separately in acetate solution pH 4.75 at a concentration of 0.5 mg / ml. The PEEK disks were distributed in the following groups (n = 3): negative control acetate (2 mL), laccase (1 mL laccase 0.5 mg / mL + 1 mL acetate), dopa (1 mL dopa 0.5 mg / mL + 1 mL acetate), dopamine (1 mL dopamine 0.5 mg / mL + 1 mL acetate), caffeic acid (1 mL 0.5 mg / mL caffeic acid + 1 mL acetate); (1 mL dopa 0.5 mg / mL + 1 mL laccase 0.5 mg / mL), dopamine + laccase (1 mL dopamine 0.5 mg / mL + 1 mL laccase 0.5 mg / mL), caffeic acid + laccase (1 mL caffeic acid 0.5 mg / mL + 1 mL laccase 0.5 mg / mL). Samples were incubated at room temperature for 18 hours, washed with distilled water and air dried. The contact angle was measured of 4 μ L of distilled water, 0, 10, 30 minutes; 1, 2, 4 and 24 hours after the treatments. New measurements were made after 1 and 2 weeks and 1 month. The obtained values were expressed in mean \pm SD. **Results:** Statistical correlations were made in the intragroup and intergroup form. In the intragroup analysis, the contact angles of the laccase ($41,1^{\circ} \pm 0,9$; $p < 0,0001$) and laccase groups associated with catechols ($p < 0,0001$) remained statistically equal to the immediate one for 30 minutes, but the laccase + dopamine group ($18,5^{\circ} \pm 2,3$; $p < 0,0001$) sustained the initial value for 2 hours, besides having the lowest angle of contact of all when compared to the acetate control group ($85,6^{\circ} \pm 0,6$; $p < 0,0001$). **Conclusion:** The enzymatic treatment in PEEK has proved promising, by substantially reducing the contact angle and promoting an increase in surface wettability and hydrophilia.

Key-words: Peek. Laccase. Osseointegration. Dental implant.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	15
DESENHO EXPERIMENTAL	15
1. Preparação das amostras	15
2. Tratamento de superfície com laccase e catecóis	15
3. Medições do ângulo de contato	16
4. Análise de dados	17
RESULTADOS	18
DISCUSSÃO	19
CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	23

INTRODUÇÃO

Os implantes dentários proporcionam uma ancoragem estável para próteses dentárias fixas ou removíveis e, como tal, melhoram a qualidade de vida de pacientes parcial ou totalmente desdentados (Knaus, Schaffarczyk, Cölfen, 2019). Desde o início da Implantodontia, a tecnologia frequentemente tem buscado inovações com a produção de novos designs, materiais, formas e tratamentos de superfície (Elawadly et al., 2019). Atualmente, os implantes dentários fabricados em titânio e ligas de titânio são considerados o padrão ouro (Abraham, 2014; Elawadly et al., 2019), visto sua citocompatibilidade, alta resistência mecânica e excelente resistência à corrosão (Blatt et al., 2018; Fukuda et al., 2019).

Apesar de sua aplicação por várias décadas como principal material para implantes dentários, o titânio (Ti) e suas ligas ainda enfrentam algumas limitações (Özcan, Hämmerle, 2012), devido a complicações pós-operatórias decorrentes de suas desvantagens, como alto módulo de elasticidade, quando comparados ao tecido ósseo, casos de reações alérgicas a metais, osteólises e eventuais afrouxamentos dos implantes (Fukuda et al., 2019), demandando, portanto, alternativas para casos em que não pode ser considerado um material elegível. À vista disso, inúmeros materiais têm sido estudados como alternativa ao Ti na Implantodontia (Zimmerman et al., 2018).

Algumas das características mais estudadas são a composição química, rugosidade e ângulo de contato (molhamento). Esses parâmetros apresentam um papel fundamental na interação entre implante dental e tecidos periimplantares. A composição química, principalmente do revestimento do implante, tem impacto na adsorção proteica, uma vez que uma característica hidrofílica gerará interações celulares favoráveis, além de interação com os fluídos tissulares e os tecidos propriamente ditos. Além disso, o ângulo de contato também serve de medida para avaliação da hidrofília da superfície, que varia de 0° (hidrofílico) a 140° (hidrofóbico) para os implantes de titânio (Le Guéhenec et al., 2007).

Nas últimas décadas, alguns polímeros demonstraram corresponder mais favoravelmente às propriedades mecânicas do osso humano e tornaram-se alternativas preferíveis, em diversas aplicações, aos materiais de implantes metálicos tradicionais (Durham, Allen, Rabiei, 2015). Visto a necessidade de um biomaterial que não libere óxidos ao meio bucal e com características de cor semelhantes ao tecido dental que promova harmonia estética, materiais cerâmicos e polímeros sintéticos passaram a ser

introduzidos na Implantodontia. Recentemente, foi proposto como potencial substrato para fabricação de implantes dentários o poli(-éter-éter-cetona) (PEEK), um material termoplástico de alto desempenho, que já possui ampla aplicação na área biomédica (Kotsakis et al., 2017; Elawadly et al., 2019).

A aplicação do PEEK como material de implante e possível substituto para implantes de titânio tem sido sugerida devido à sua biocompatibilidade e propriedades mecânicas satisfatórias (Najeeb et al., 2016; Panayotov et al., 2016; Mishra, Chowdhary, 2019). O PEEK tem sido relatado como não citotóxico e, por conseguinte, tem sido considerado um material seguro para aplicações com células osteoblásticas e fibroblásticas (Katzner et al., 2002; Rivard, Rhalmi, Coillard, 2002). Além disso, o PEEK apresenta baixos módulos de Young, proporcionando proteção contra o estresse e reduzindo o risco de perda óssea marginal (Tomaszewski et al., 2012). O módulo de elasticidade do PEEK (3-4 GPa) é mais próximo ao do osso cortical (18 GPa) e osso trabecular (12–20 GPa) do que as ligas de Ti (110 GPa) (Fukuda et al., 2019), característica importante para distribuição das forças biomecânicas e o subsequente processo de remodelação. Ademais, outras propriedades, como baixa solubilidade, resistência à radiação, estética favorável quando comparada às variantes metálicas, e módulo de elasticidade próximo à dentina e esmalte (Najeeb et al., 2016; Skirbutis et al., 2017; Tekin et al., 2018) tornam o PEEK um material interessante também para outras aplicações na Odontologia, como em próteses dentárias, além da Implantodontia (Montero et al., 2016).

Apesar das muitas vantagens do PEEK para aplicação em implantes na Ortopedia e na Odontologia, o mesmo apresenta baixa energia superficial e é considerado bioinerte (Zhao et al., 2012), sendo desfavorável à adesão das células ósseas, podendo limitar a osseointegração e prejudicando a sua aplicabilidade clínica (Zheng et al., 2018; Fukuda et al., 2019).

Várias abordagens para melhorar as propriedades de superfície do PEEK têm sido buscadas, como a incorporação de partículas de hidroxiapatita (Durham, Allen, Rabiei, 2017; Ma et al., 2017; Mahjoubi et al., 2017), tratamentos de superfície plasmática (Wang et al., 2014; Waser-Althaus et al., 2014; Zhao et al., 2016), Ti, Si, AMPcoatings (Shimizu et al., 2016; Wen et al., 2016; Ren et al., 2018), sendo os tratamentos enzimáticos uma alternativa encontrada para uma modificação mais eficiente da superfície do PEEK (Kord Forooshani, Lee, 2017; Kim et al., 2018).

Laccase é uma enzima oxidorreductase obtida de fungos e plantas superiores e sua capacidade de oxidar compostos fenólicos e não-fenólicos, degradar polímeros e promover a ligação cruzada de monocamadas resulta em modificações de superfície significativas nesses materiais (Claus, 2004; Shraddha et al., 2011). Semelhante às hidrofosfinas, que são pequenas proteínas usadas para revestir superfícies hidrofóbicas e hidrofílicas, formando filmes anfifílicos (Wang et al., 2010), a enzima laccase também pode adsorver em superfícies hidrofóbicas inertes devido à sua natureza anfifílica. Este processo pode levar a um aumento do molhamento e da energia de superfície, o que poderia ajudar na fixação de outras camadas e compostos orgânicos, bem como facilitar a colonização por células osteogênicas (Scholtmeijer, Wessels, Wösten, 2001).

Laccase também pode ser usada em combinação com catecóis para melhorar a adesão de células hospedeiras e outras substâncias (Lynge et al., 2011; Jia et al., 2017). Catecóis, como L-DOPA, dopamina e ácido cafeico, são proteínas de ocorrência natural que se ligam a superfícies através da autopolimerização sob oxidação (Kord Forooshani, Lee, 2017). Como enzima oxidativa, a laccase poderia acelerar o processo de oxidação responsável pela reticulação dos catecóis, auxiliando na formação de uma camada orgânica com possível atividade antimicrobiana e antifúngica (Kocaçaliskan, Talan, Terzi, 2006; Lynge et al., 2011; Jia et al., 2017; Kord Forooshani, Lee, 2017; Kim et al., 2018). Além disso, essa camada formada poderia ser usada para imobilizar outras substâncias de interesse, tais como fatores de crescimento endotelial vascular (VEGFs) e proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), o que também poderia auxiliar no processo de osteointegração dos implantes PEEK (Han et al., 2011; Lynge et al., 2011).

Desse modo, frente à ausência de propriedades que assegurem o PEEK nu como material ideal para indicação a implantes dentários, estudos que busquem melhorar esta característica, tem suma importância para a orientação de novas pesquisas envolvendo esta temática, ainda necessárias, na busca por evidências científicas para embasar futuras decisões clínicas. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi investigar se o tratamento de superfície com diferentes catecóis (dopa, dopamina e ácido cafeico) mediado por laccase seria capaz de melhorar as características de superfície do PEEK, com foco na propriedade de molhamento (aumento da hidrofília), por meio de análise de ângulo de contato.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo experimental *in vitro* utilizou discos de PEEK, que receberam tratamentos de superfície combinando a enzima laccase com diferentes catecóis e seus respectivos controles. Foi verificada a propriedade de molhamento por meio da análise de ângulo de contato.

1. Preparação das amostras

A fabricação das amostras de discos PEEK (n = 3/grupo) com 20 mm de diâmetro x 1,5 mm de espessura foi obtida cortando uma haste PEEK (grau médico - PEEK MG, KTK) com um disco de diamante 102 mm x 0,3 mm x 127 mm (Dia Wafer Blade 4", Extec) acoplado a um cortador metalográfico (Isomet 1000, Buehler Ltda) fixado em 550 rpm.

As amostras receberam acabamento em politriz (Aropol 2V-PU, Arotec), com lixas de água (Norton Abrasives) de granulações 320, 800 1200 e 2400 sob refrigeração por 1 minuto para cada granulação, e depois as dimensões da amostra foram confirmadas por meio de um paquímetro digital (Model CD-6 " CSX-B, Mitutoyo Sul Americana LTDA). As amostras foram lavadas com água destilada e sonicadas em um limpador ultrassônico (CBU1003-LDG, Planatc) por 15 minutos, antes de serem lavadas com isopropanol a 70%.

2. Tratamento de superfície com laccase e catecóis

A enzima Laccase C (laccase) e os catecóis 3,4 di-hidroxi-L-fenilalanina (dopa), cloridrato de dopamina (dopamina) e ácido 3,4-di-hidroxiildrocinâmico (ácido cafeico) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Chemie GmbH. Steinheim, Alemanha). A enzima laccase e os catecóis foram dissolvidos, separadamente, em solução tampão de acetato (ácido acético 104 mM e acetato de sódio 200 mM em água desionizada, pH = 4,75) para uma concentração de 0,5 mg/mL.

Os discos PEEK foram colocados em placas de tecido de 12 poços (K12-012, Kasvi) e divididos do seguinte modo:

- Grupos de controle (n=3)
 - a. Tampão de acetato de 2 ml (controle negativo)
 - b. 1 ml de laccase 0,5 mg/ml + tampão de acetato de 1ml (controle de laccase)

- c. 1 ml de dopa 0,5 mg/ml + tampão de acetato de 1 ml (controle de dopa)
- d. 1 mL de dopamina 0,5 mg/mL + tampão de acetato de 1 mL (controle de dopamina)
- e. 1 ml de ácido cafeico 0,5 mg/ml + tampão de acetato de 1 ml (controle de ácido cafeico)
- Grupos de tratamento de superfície (n=3)
 - f. 1 mL de dopa 0,5 mg/mL + 1 mL laccase 0,5 mg/mL (dopa + laccase)
 - g. 1 mL dopamina 0,5 mg/mL + 1 mL laccase 0,5 mg/mL (dopamina + laccase)
 - h. 1 ml de ácido cafeico 0,5 mg/ml + 1 ml de laccase 0,5 mg/ml (ácido cafeico + laccase)

O volume final (2 mL) cobriu toda a superfície da amostra PEEK. As soluções foram deixadas por 18 horas em um agitador de plataforma orbital a 110 rpm (MA562/KVT, Marconi Ltda) à temperatura ambiente. Em seguida, as soluções foram retiradas dos poços e as amostras foram lavadas com água destilada e suavemente secas ao ar.

3. Medição do ângulo de contato

Uma quantidade de 4 µl de água destilada foi gotejada na superfície de cada amostra de cada grupo (Figura 01), e foram tiradas cinco fotografias para cada gota a intervalos de 0, 10, 30 minutos; 1, 2, 4, 24 horas; 1 e 2 semanas e 1 mês. Nas primeiras 24 horas, nos intervalos entre as fotografias, as amostras ficaram armazenadas em acetato, à temperatura ambiente. Durante os outros 29 dias, as amostras ficaram armazenadas em estufa à 40°C/75% de umidade relativa, simulando um período de aproximadamente 1 ano (ASTM F1980-16 *Standard Guide for Accelerated Aging of Sterile Barrier Systems for Medical Devices*).

Foram feitas fotografias padronizadas da gota sobre as amostras, a uma distância de 20 cm, utilizando-se uma câmera digital equipada com uma lente objetiva de 105 mm, em função de captura macro (Nikon D90, Nikon Inc.), abertura do diafragma em 5,6 mm com ISO 200 e velocidade 1/125 s, posicionada perpendicularmente ao plano correspondente à superfície tratada. As imagens foram analisadas com um software de processamento de imagem (*ImageJ1.46r, National Institutes of Health - USA*) para medir o ângulo de contato entre a gotícula de água e a superfície de PEEK (Figura 02). Os dados obtidos foram reportados em valores médios ± desvio padrão.

Figura 01 – Gota de água séssil sobre diferentes superfícies de PEEK

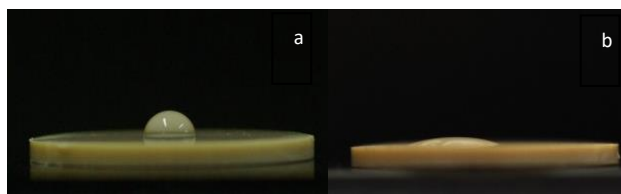
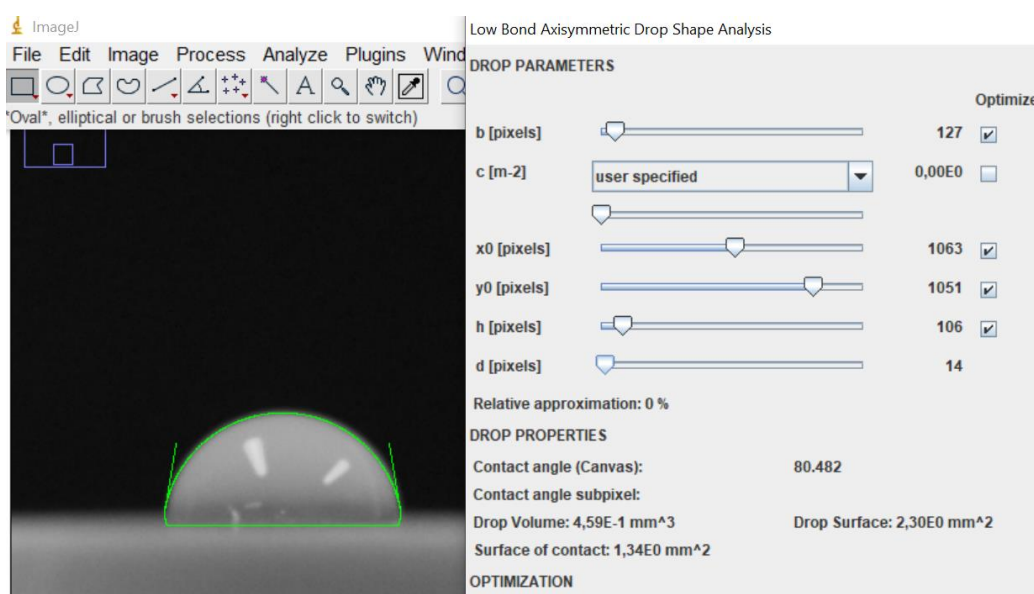


Ilustração do ângulo de contato de água em superfície de PEEK sem tratamento (a) e com tratamento (b) enzimático (laccase) + catecol (dopamina).

Figura 02 – Análise do ângulo de contato com o software ImageJ, utilizando o *plugin* “drop-analysis LB-ADSA”



ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.

4. Análise de dados

Para cada tratamento, foram testadas um total de três amostras ($n=3$), padronizadas e devidamente distribuídas aleatoriamente entre os grupos experimentais. Os resultados das medidas de ângulo de contato foram expressos em média e desvio padrão (DP) e as comparações dos valores do tempo inicial (T_0m) com os demais tempos em cada grupo (intragrupo), assim como as comparações entre os grupos no T_0m (intergrupos) foram analisadas considerando $\alpha=0,05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism7 (GraphPad Software) e o software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, Udemey, Inc.). As comparações foram analisadas pelos testes *one-way* ANOVA e pós-testes de Dunnett e Tukey.

RESULTADOS

Os resultados do trabalho estão apresentados nas tabelas 01 e 02. Foram feitas comparações estatísticas de duas formas: na tabela 01, intragrupo, em que foram comparadas as mudanças do ângulo de contato no decorrer do tempo, em cada grupo separadamente, comparando-se cada valor ao tempo inicial (T0m). Na tabela 02, foram feitas as análises intergrupo, comparando-se o tempo imediato do grupo controle acetato (controle negativo) aos ângulos de contato dos demais grupos, também imediatamente após os tratamentos.

Tabela 01 - Média e DP do ângulo de contato das amostras de PEEK ao longo de 30 dias.

Grupo / Tempo (T)	0 m	10m	30m	1 h	2 h	4 h	24 h	48 h	5 d	7 d	14 d	21 d	30 d
Acetato	85,6	85,9	85,6	86,0	87,0	86,5	87,2	87,1	87,2	87,4	87,4	87,4	87,2
	0,6	0,9	1,0	1,4	1,4	0,9	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,6
Laccase	41,1	42,8	47,8*	54 *	61,4 *	64,2 *	72,1 *	73,2 *	73,5 *	73,5 *	79 *	80,1 *	80,9 *
	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,1	0,9	0,8	0,5	1,5	1,0	0,3	0,1
Dopa	35,5	38,1*	42,7*	48,6*	52,5*	55,1*	66,5*	73,1*	74,9*	75,4*	77,4*	79,3*	79,3*
	3,3	1,6	0,3	0,3	0,6	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,6
Dopamina	50,1	51,6*	61,9*	63,5*	62,6*	64,3*	82,7*	81,6*	80,6*	81,1*	81,3*	81,3*	81,7*
	0,1	0,8	0,9	1,3	0,5	0,6	0,3	0,5	0,7	0,1	0,3	0,3	0,4
Ac. Cafeico	58,2	60,5*	62,7*	67,2*	67,8*	66,7*	79,2*	81 *	81,4*	81,8*	82,3*	82,1*	81,7*
	0,2	0,8	0,4	0,2	0,2	0,6	1,0	0,2	0,5	0,3	0,3	0,2	0,6
Lac + Dopa	34,8	34,1	34,5	34,9	38,2*	41,1*	46,2*	46,9*	53,1*	60,1*	61,9*	63,2*	63,4*
	0,2	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	0,3	0,4	0,1	0,1	0,4	0,9	0,4
Lac + Dopamina	18,5	20,6	25,1*	28,2*	33*	36*	42,2*	43,8*	50*	53,7*	62,6*	64,8*	66,5*
	2,3	1,6	0,9	1	1	1	0,2	1,2	0,2	0,3	1,6	0,8	0,3
Lac + Ac. Cafeico	36,9	37,7	40,6*	43*	48,2*	47,9*	49,8*	50,3*	51*	52,2*	61,1*	62,2*	62,7*
	0,1	0,3	0,3	1,0	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,8	0,1	0,3	0,3

*: $p < 0,0001$ em relação ao T0m na análise intragrupo (one-way ANOVA e Dunnett)

Ao analisarmos de forma intragrupo, verificamos que o grupo controle acetato manteve o ângulo de contato estável ao longo do tempo (do T0m até 30 dias), com $p=0,2419$. Nos grupos dopa, dopamina e ácido cafeico, ou seja, grupos controle tratados apenas com catecóis, houve aumento significativo do ângulo após 10 minutos, em relação ao T0m, enquanto os grupos laccase, laccase + dopamina e laccase + ácido cafeico modificaram os ângulos de contato após 30 minutos. Apenas o grupo laccase + dopa conseguiu sustentar o valor inicial do ângulo obtido inicialmente por até 2 horas. O grupo laccase + dopamina, embora tenha sustentado por apenas 30 minutos o valor inicial, seus valores até 4-5 dias ainda eram menores do que os demais grupos.

Logo após os tratamentos de superfície, na análise intergrupo, foi observado que todos os tratamentos diminuiriam significativamente os ângulos de contato, entretanto

houve um destaque do grupo laccase + dopamina, que reduziu 75% o valor do ângulo de contato quando comparado ao grupo controle acetato, tendo sido o menor de todos. Conforme apresentado na tabela 02, foi verificado que, no tempo imediato, o grupo controle acetato juntamente com os grupos laccase, dopamina, ácido cafeico e laccase + dopamina foram considerados estatisticamente diferentes. Já os grupos dopa, laccase + dopa e laccase + ácido cafeico se apresentaram estatisticamente iguais. Após o grupo controle acetato, o grupo ácido cafeico foi o que apresentou maior valor do ângulo de contato no tempo de 0 min.

Tabela 02 - Média e DP do ângulo de contato das amostras de PEEK na primeira aferição (T=0).

Grupo	Acetato	Laccase	Dopa	Dopamina	Ac. Cafeico	Lac + Dopa	Lac+ Dopamina	Lac + Ac. Cafeico	p inter
T0m	85,6 ^a	41,1 ^b	35,5 ^c	50,1 ^d	58,2 ^e	34,8 ^c	18,5 ^f	36,9 ^c	<0,0001
	0,6	0,9	3,3	0,1	0,2	0,2	2,3	0,1	

Letras diferentes expressam diferença estatística $p < 0,0001$ (one-way ANOVA e Tukey)

DISCUSSÃO

Diversas modificações de superfícies de implantes dentários têm resultado em um aumento da hidrofília e molhamento para o sucesso clínico do processo de osseointegração. A hidrofília apresenta vantagens durante os primeiros estágios da cicatrização, bem como durante a cascata de eventos que ocorrem no decorrer da osseointegração (Schwarz et al., 2009; Sartoretto et al., 2015). A superfície hidrofílica estimula a ativação de plaquetas (Ferraris, et al., 2016; Saghiri et al., 2016; Murphy et al., 2017), além da adsorção da matriz de proteínas como a fibronectina e células osteogênicas, iniciando assim, o processo osseointegrativo (Saghiri et al., 2016).

O molhamento é medido pelo ângulo de contato, geralmente de água, quando depositada sobre uma superfície sólida. Ângulos de contato menores que 90° indicam superfície hidrofílica, enquanto um ângulo de contato maior que 90° significa uma superfície hidrofóbica (Yuan; Lee, 2013). O molhamento da superfície pode afetar quatro aspectos principais do sistema biológico: (1) adesão de proteínas e outras macromoléculas à superfície (condicionamento), (2) interações de células de tecidos duros e moles com as superfícies pré-condicionadas, (3) adesão bacteriana e formação subsequente de biofilme e (4) taxa de osseointegração na clínica (*in vivo*) (Gittens et al., 2014). Outros fatores como tensão superficial e energia livre de superfície (ELS) também são determinados pelo molhamento (Yuan; Lee, 2013).

Portanto, constata-se que o aumento do molhamento de uma superfície pode aumentar a adesão de fibrina, bem como fornecer orientação para a migração de osteoblastos. Logo, qualquer alteração no molhamento afetará o processo de osseointegração tanto positiva quanto negativamente (Le Guéhennec et al., 2007).

Nos estudos analisados, diversos tratamentos químicos e físicos foram realizados na superfície do PEEK a fim de torná-lo mais bioativo para a sua utilização na Implantodontia, ou seja, com maiores propriedades osseointegradoras, dentre elas o aumento do molhamento de superfície. No entanto, estas técnicas geralmente utilizam solventes tóxicos e difíceis condições de reação (Ma et al., 2014), que além de apresentarem um custo mais elevado são onerosas ao meio ambiente. Em vista disso, o presente estudo visou comprovar que tratamentos de superfície de caráter enzimático mediado por catecóis podem contribuir de maneira eficiente para o aumento do molhamento e, conseqüentemente, para a redução do ângulo de contato, contribuindo, assim, para uma melhor performance do processo osseointegrativo, além de apresentar menor custo e serem ambientalmente favoráveis.

Um dos tratamentos propostos na literatura é a fosfonação, que consiste em empregar jato de areia associado a diazônio, formando uma camada de fosfonato na superfície implantar. O objetivo desta técnica é fazer com que os grupos de fosfonatos originados atraiam os íons de cálcio, proporcionando a deposição e aumento da adesão do revestimento de hidroxiapatita (HA) na superfície, além de promover mineralização e proliferação de osteoblastos (Kim et al., 2006; Mahjoubi et al., 2014; Jiang et al., 2015).

Em 2017, o estudo de Mahjoubi et al. analisou amostras de PEEK em 4 condições de superfície diferentes: (1) polido (PEEK-P), (2) polido e fosfonado (PEEK-PP), (3) jateado (PEEK-S) e (4) jateado e fosfonado (PEEK-SP). O ângulo de contato do PEEK-P diminuiu de $76^{\circ} \pm 1$ para $67^{\circ} \pm 1$ após a fosfonação (PEEK-PP), já o PEEK-S diminuiu de $94,4^{\circ} \pm 0,8$ para $82^{\circ} \pm 1$ após a fosfonação (PEEK-SP). PEEK-S era mais hidrofóbico do que PEEK-P devido à sua superfície rugosa, mas ambas as amostras de PEEK-P e PEEK-S se apresentaram menos hidrofóbicas após a fosfonação. Contudo, as amostras de nosso estudo que passaram pelo tratamento enzimático associado a catecóis se apresentaram mais hidrofílicas (menor ângulo de contato), mesmo após os 30 dias de experimento, além de terem obtido valores significativamente mais baixos no tempo imediato. Ademais, até mesmo a amostra que recebeu apenas o tratamento com a enzima laccase obteve um ângulo menor no T0m.

Em 2018, o estudo de Brum et al. analisou amostras de PEEK em 3 diferentes condições de superfícies: (1) puro (PEEK), (2) sulfonado (ácido sulfúrico 98%) e dissolvido em dimetilformamida (SPEEK/DMF) e (3) sulfonado (ácido sulfúrico 98%) e dissolvido em dimetilsulfóxido (SPEEK/DMSO). O ângulo de contato do PEEK puro aumentou de $41,60^\circ \pm 7,74$ para $56,96^\circ \pm 6,27$ após sulfonação e dissolução em DMF (SPEEK/DMF) e para $92,46^\circ \pm 7,63$ após sulfonação e dissolução em DMSO (SPEEK/DMSO). Ambos os grupos sulfonados apresentaram aumento do ângulo de contato (mais hidrofóbicos) quando comparados ao PEEK sem tratamento (puro), sendo SPEEK/DMSO o mais hidrofóbico dos grupos avaliados, com o maior valor de ângulo de contato médio.

Em 2019, Zhu et al. avaliaram espécimes de PEEK que passaram por diferentes tratamentos de superfície: (1) sem tratamento/puro (PEEK), (2) sulfonação (SPEEK), (3) sulfonação + tratamento hidrotérmico em água ultrapurificada a 60°C por 6 horas (SPEEK-H), (4) sulfonação + ativação por plasma de oxigênio (pSPEEK), (5) sulfonação + imersão em polidopamina (PDA) (DpSPEEK). O ângulo de contato do PEEK puro aumentou após o tratamento de sulfonação, passando de $73,3^\circ \pm 0,1$ para $108,8^\circ \pm 3,9$ (SPEEK), alterando, assim, seu molhamento superficial, ao deixar de ser uma superfície hidrofílica e tornar-se hidrofóbica. Já o tratamento hidrotérmico (SPEEK-H) não alterou os ângulos de contato de forma significativa, enquanto o tratamento com plasma de oxigênio (pSPEEK) melhorou consideravelmente a hidrofilicidade de SPEEK, variando de $111,7^\circ \pm 1,8$ a $16,8^\circ \pm 0,7$. Após a deposição do PDA na superfície de pSPEEK, o ângulo de contato de DpSPEEK diminuiu ainda mais, passando para $12,5^\circ \pm 1,7$.

Observou-se, desta forma, que as amostras que receberam tratamento com catecol (PDA) obtiveram o menor valor de ângulo de contato dentre todos os grupos avaliados nos estudos citados, corroborando com a ideia de que o uso de catecóis é de extrema valia para o aumento do molhamento de superfície e, conseqüentemente, para uma maior hidrofília.

No intuito de reiterar o potencial promissor que os catecóis têm de causar mudanças na energia de superfície de materiais no geral, analisamos um estudo realizado em 2011 por Kim et al., que avaliou ângulos de contato em superfícies de discos de titânio, utilizando um catecol precursor da dopamina, o L-dopa (L-3,4-dihidroxifenilalanina). Foram avaliadas amostras de titânio em três condições de superfície: (1) não tratado (controle negativo), (2) tratado com ácido fluorídrico a 4,0% (controle positivo) e (3) tratado com L-dopa (grupo experimental). O ângulo de contato do controle positivo ($67,1^\circ$

$\pm 0,56$) foi menor (mais hidrofílico) comparado ao do controle negativo ($82,4^\circ \pm 5,7$), enquanto o valor do ângulo do grupo experimental ($44,1^\circ \pm 0,91$) foi considerado significativamente menor do que os outros dois grupos avaliados, sendo o mais hidrofílico de todos. Desse modo, constata-se que uma superfície de titânio também pode ser modificada por um catecol, a fim de promover melhora na hidrofília em implantes dentários.

É válido destacar que todas as amostras de PEEK de nosso estudo, que foram tratadas com laccase associada a catecóis, tiveram o ângulo de contato menor do que as amostras de titânio tratadas com o catecol L-dopa, com destaque para o grupo laccase + dopamina, que apresentou um valor substancialmente menor ($18,5^\circ \pm 2,3$), apresentando uma alta hidrofília e uma melhor performance do molhamento de superfície.

Um estudo realizado em 2019 por Corrales-Ureña et al. também apresenta resultados satisfatórios ao utilizar a enzima laccase na funcionalização de superfícies hidrofóbicas de polímeros. Neste experimento, tratou-se a superfície do polímero poliestireno (PS) com uma mistura de laccase-maltodextrina (ASA Spezialenzyme GmbH, Wolfenbüttel, Alemanha) em tampão de acetato de sódio e, posteriormente, imerso em uma solução de peptídeos. A enzima laccase é adsorvida rapidamente em superfícies hidrofóbicas como as de polímeros, logo, observou-se uma mudança na hidrofobicidade da superfície ($98^\circ \pm 3$) para domínios mais hidrofílicos ($62^\circ \pm 5$), corroborando com a ideia de nosso estudo acerca das vantagens do tratamento enzimático em superfície de polímeros com relação a diminuição do ângulo de contato.

Ao todo foram avaliados 15 tratamentos dentre os estudos mencionados, e quase todos obtiveram um valor maior do ângulo de contato quando comparados aos grupos tratados com catecóis mediados pela enzima laccase, com exceção de 2 grupos no estudo de Zhu et al. (PEEK sulfonado e tratado com plasma de oxigênio e PEEK sulfonado e tratado com polidopamina). À vista disso, as amostras de nosso estudo que passaram pelo tratamento enzimático apresentaram um maior molhamento de superfície em aproximadamente 87% das comparações feitas com as amostras dos estudos mencionados, demonstrando o quão promissor é este processo. Ademais, este tratamento apresenta vantagens significativas, como: baixo custo (em relação aos demais processos), facilidade de execução (apenas misturar os pós das substâncias), além de ser ambientalmente sustentável (reação ocorre apenas na superfície do polímero), sem gerar resíduos tóxicos e nem consumir muitos recursos para execução do tratamento, ao

contrário dos processos que utilizam agentes químicos, necessitando de tratamento especial (Zhao et al., 2004; Fischer-Colbrie, Heumann, Guebitzi, 2006).

No que concerne às limitações, é pertinente salientar que não foram feitas, em nosso experimento, as medições de ângulo de contato por mais tempo, embora já tenha sido possível ver que de 14 dias a 30 dias sob envelhecimento simulando 1 ano, foi possível verificar uma estabilização do ângulo aumentado, maior que 60 graus nos grupos experimentais.

Desse modo, frente à escassez de estudos que avaliem mais detalhadamente a associação da enzima laccase com catecóis em polímeros como o PEEK e em outros materiais, faz-se necessária a realização de mais experimentos que também elucidem os efeitos dessa interação em outras propriedades do material, assim como sua influência no crescimento de células osteoblásticas e fibroblásticas, a fim de assegurar sua futura implementação na Implantodontia.

CONCLUSÃO

O tratamento enzimático em PEEK demonstrou-se promissor no tocante ao aumento do molhamento de superfície, diminuindo substancialmente o ângulo de contato e promovendo, assim, uma maior hidrofília. A associação de laccase com dopamina foi a mais efetiva, já que obteve uma redução considerável do ângulo de contato e, dentre todos os grupos tratados, foi o que teve a melhor manutenção desse baixo ângulo no decorrer do tempo.

REFERÊNCIAS

1. ABRAHAM, C. (2014). A brief historical perspective on dental implants, their surface coatings and treatments. **The Open Dentistry Journal**, 8(1), 50–55.
2. ASTM F1980-16, Standard Guide for Accelerated Aging of Sterile Barrier Systems for Medical Devices, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2016.
3. BLATT, S., PABST, A. M., SCHIEGNITZ, E., HOSANG, M., ZIEBART, T., WALTER, C., AL-NAWAS, B., KLEIN, M. O. (2018). Early cell response of osteogenic cells on differently modified implant surfaces: Sequences of cell proliferation, adherence and differentiation. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, 46(3), 453–460.

4. BRUM, R. S., MONICH, P. R., FREDEL, M. C., CONTRI, G., RAMOA, S. D. A. S., MAGINI, R. S., BENFATTI, C. A. M. (2018). Polymer coatings based on sulfonated-poly-ether-ether-ketone films for implant dentistry applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 29(8).
5. CLAUS, H. (2004). Laccases: structure, reactions, distribution. **Micron (Oxford, England : 1993)**, 35(1-2), 93–96.
6. CORRALES-UREÑA, Y. R., SOUZA-SCHIABER, Z., LISBOA-FILHO, P. N., MARQUENET, F., MICHAEL NOESKE, P.-L., GÄTJEN, L., RISCHKA, K. (2020). Functionalization of hydrophobic surfaces with antimicrobial peptides immobilized on a biointerfacial layer. **RSC Advances**, 10(1), 376–386.
7. DURHAM, J. W., ALLEN, M. J., RABIEI, A. (2015). Preparation, characterization and *in vitro* response of bioactive coatings on polyether ether ketone. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 105(3), 560–567.
8. ELAWADLY, T., RADI, I. A. W., EL KHADEM, A., OSMAN, R. B. (2017). Can PEEK be an implant material? Evaluation of surface topography and wettability of filled versus unfilled PEEK with different surface roughness. **Journal of Oral Implantology**, 43(6), 456–461.
9. FERRARIS, S., VITALE, A., BERTONE, E., GUASTELLA, S., CASSINELLI, C., PAN, J., SPRIANO, S. (2016). Multifunctional commercially pure titanium for the improvement of bone integration: Multiscale topography, wettability, corrosion resistance and biological functionalization. **Materials Science and Engineering: C**, 60, 384–393.
10. FISCHER-COLBRIE, G.; HEUMANN, S.; GUEBITZ1, G. (2006). Enzymes for Polymer Surface Modification. **Modified fibers with medical and specialty applications**, 181–189.
11. FUKUDA, N., KANAZAWA, M., TSURU, K., TSUCHIYA, A., SUNARSO, TOITA, R., ISHIKAWA, K. (2018). Synergistic effect of surface phosphorylation and micro-roughness on enhanced osseointegration ability of poly(ether ether ketone) in the rabbit tibia. **Scientific Reports**, 8(1).
12. GITTENS, R. A., OLIVARES-NAVARRETE, R., CHENG, A., ANDERSON, D. M., MCLACHLAN, T., STEPHAN, I., GEIS-GERSTORFER, J., SANDHAGE, K. H., FEDOROV, A. G., RUPP, F., BOYAN, B. D., TANNENBAUM, R., SCHWARTZ, Z. (2013). The roles of titanium surface micro/nanotopography and

- wettability on the differential response of human osteoblast lineage cells. **Acta Biomaterialia**, 9(4), 6268–6277.
13. HAN, H., WU, J., AVERY, C. W., MIZUTANI, M., JIANG, X., KAMIGAITO, M., CHEN, Z., XI, C., KURODA, K. (2011). Immobilization of amphiphilic polycations by catechol functionality for antimicrobial coatings. **Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids**, 27(7), 4010–4019. doi:10.1021/la1046904
 14. JIA, W., WANG, Q., FAN, X., DONG, A., YU, Y., WANG, P. (2017). Laccase-mediated in situ oxidation of dopa for bio-inspired coloration of silk fabric. **RSC Advances**, 7(21), 12977–12983.
 15. JIANG, S.-D., YAO, Q.-Z., MA, Y.-F., ZHOU, G.-T., FU, S.-Q. (2015). Phosphate-dependent morphological evolution of hydroxyapatite and implication for biomineralisation. **Gondwana Research**, 28(2), 858-868.
 16. KATZER, A.; MARQUARDT, H.; WESTENDORF, J.; WENING, J.V; VON FOERSTER, G. (2002). Polyetheretherketone - cytotoxicity and mutagenicity in vitro. **Biomaterials**, 23(8), 1749–1759.
 17. KIM, S., LEE, H., KIM, J., OLIVEIRA, F., SOUTO, P., KIM, H., NAKAMATSU, J. (2018). Laccase-mediated grafting of polyphenols onto cationized cotton fibers to impart UV protection and antioxidant activities. **Journal of Applied Polymer Science**, 135(6), 45801.
 18. KIM, E.-H., YIM, S.-B., JUNG, H.-C., LEE, E.-J. (2006). Hydroxyapatite crystallization from a highly concentrated phosphate solution using powdered converter slag as a seed material. **Journal of Hazardous Materials**, 136(3), 690-697.
 19. KIM, S.-H., PARK, J.-K., HONG, J.-H., JUNG, H.-S., HONG, K.-S., LEE, J.-H., PARK, K.-B., CHOI, S.-K., SEO, Y. K. (2011). Increase of BM-MSC proliferation using L-DOPA on titanium surface in vitro. **Journal of Biomaterials Applications**, 27(2), 143–152.
 20. KNAUS, J., SCHAFFARCZYK, D., CÖLFEN, H. (2019). On the future design of bio-inspired polyetheretherketone dental implants. **Macromolecular Bioscience**, 20(1), 190023.
 21. KOCAÇALISKAN, I., TALAN, I., TERZI, I. (2006). Antimicrobial activity of catechol and pyrogallol as allelochemicals. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 61(9-10), 639–642.

22. KORD FOROOSHANI, P., LEE, B. P. (2017). Recent approaches in designing bioadhesive materials inspired by mussel adhesive protein. **Journal of polymer science. Part A, Polymer chemistry**, 55(1), 9–33.
23. LE GUÉHENNEC, L., SOUEIDAN, A., LAYROLLE, P., AMOURIQ, Y. (2007). Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**, 23(7), 844–854.
24. LYNNGE, M. E., VAN DER WESTEN, R., POSTMA, A., STÄDLER, B. (2011). Polydopamine - a nature-inspired polymer coating for biomedical science. **Nanoscale**, 3(12), 4916–4928.
25. MA, R., LI, Q., WANG, L., ZHANG, X., FANG, L., LUO, Z., XUE, B., MA, L. (2017). Mechanical properties and in vivo study of modified hydroxyapatite/polyetheretherketone biocomposites. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, 73, 429–439.
26. MA, R., TANG, T. (2014). Current strategies to improve the bioactivity of PEEK. **International journal of molecular sciences**, 15(4), 5426-5445.
27. MAHJOUBI, H., BUCK, E., MANIMUNDA, P., FARIVAR, R., CHROMIK, R., MURSHED, M., CERRUTI, M. (2017). Surface phosphonation enhances hydroxyapatite coating adhesion on polyetheretherketone and its osseointegration potential. **Acta biomaterialia**, 47, 149–158.
28. MAHJOUBI, H., KINSELLA, J. M., MURSHED, M., CERRUTI, M. (2014). Surface modification of poly(d,l lactic acid) scaffolds for orthopedic applications: A biocompatible, nondestructive route via diazonium chemistry. **ACS Applied Materials & Interfaces**, 6(13), 9975-9987.
29. MISHRA, S., CHOWDHARY, R. (2018). PEEK materials as an alternative to titanium in dental implants: A systematic review. **Clinical implant dentistry and related research**, 21(1), 208–222.
30. MONTERO, J. F. D., BARBOSA, L. C. A., PEREIRA, U. A., BARRA, G. M., FREDEL, M. C., BENFATTI, C. A. M., MAGINI R. S., PIMENTA A. L., SOUZA, J. C. M. (2016). Chemical, microscopic, and microbiological analysis of a functionalized poly-ether-ether-ketone embedding antibiofilm compounds. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, 104(12), 3015–3020.
31. MURPHY, M., WALCZAK, M. S., THOMAS, A. G., SILIKAS, N., BERNER, S., LINDSAY, R. (2017). Toward optimizing dental implant performance: Surface

- characterization of Ti and TiZr implant materials. **Dental Materials**, 33(1), 43–53.
32. NAJEEB, S., ZAFAR, M. S., KHURSHID, Z., SIDDIQUI, F. (2016). Applications of polyetheretherketone (PEEK) in oral implantology and prosthodontics. **Journal of prosthodontic research**, 60(1), 12–19.
33. ÖZCAN, M., HÄMMERLE, C. (2012). Titanium as a Reconstruction and Implant Material in Dentistry: Advantages and Pitfalls. **Materials**, 5(9), 1528–1545.
34. PANAYOTOV, I. V., ORTI, V., CUISINIER, F., YACHOUH, J. (2016). Polyetheretherketone (PEEK) for medical applications. **Journal of materials science. Materials in medicine**, 27(7).
35. REN, Y., SIKDER, P., LIN, B., BHADURI, S. B. (2018). Microwave assisted coating of bioactive amorphous magnesium phosphate (AMP) on polyetheretherketone (PEEK). **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, 85, 107–113.
36. RIVARD, C.-H., RHALMI, S., COILLARD, C. (2002). In vivo biocompatibility testing of peek polymer for a spinal implant system: a study in rabbits. **Journal of biomedical materials research**, 62(4), 488–498.
37. SAGHIRI, M. A., ASATOURIAN, A., GARCIA-GODOY, F., SHEIBANI, N. (2016). The role of angiogenesis in implant dentistry part I: Review of titanium alloys, surface characteristics and treatments. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, 21(4), e514-525.
38. SAFIOTI, L. M., KOTSAKIS, G. A., POZHITKOV, A. E., CHUNG, W. O., DAUBERT, D. M. (2017). Increased levels of dissolved titanium are associated with peri-implantitis - a cross-sectional study. **Journal of Periodontology**, 88(5), 436–442.
39. SARTORETTO, S. C., ALVES, A. T. N. N., RESENDE, R. F. B., CALASANS-MAIA, J., GRANJEIRO, J. M., CALASANS-MAIA, M. D. (2015). Early osseointegration driven by the surface chemistry and wettability of dental implants. **Journal of Applied Oral Science**, 23(3), 279–287.
40. SCHWARZ, F., WIELAND, M., SCHWARTZ, Z., ZHAO, G., RUPP, F., GEISGERSTORFER, J., SCHEDLE, A., BROGGINI, N., BORNSTEIN, M. M., BUSER, D., FERGUSON, S. J., BECKER, J., BOYAN, B. D., COCHRAN, D. L. (2009). Potential of chemically modified hydrophilic surface characteristics to

- support tissue integration of titanium dental implants. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 88B(2), 544–557.
41. SCHOLTMEIJER, K.; WESSELS, J. G.; WÖSTEN, H. A. (2001). Fungal hydrophobins in medical and technical applications. **Applied microbiology and biotechnology**, 56(1-2), 1–8.
 42. SHRADDHA; SHEKHER, R., SEHGAL, S., KAMTHANIA, M., KUMAR, A. (2011). Laccase: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Enzyme research**, 2011, 1-11.
 43. SHIMIZU, T., FUJIBAYASHI, S., YAMAGUCHI, S., YAMAMOTO, K., OTSUKI, B., TAKEMOTO, M., TSUKANAKA, M., KIZUKI, T., MATSUSHITA, T., KOKUBO, T., MATSUDA, S. (2016). Bioactivity of solgel-derived TiO₂ coating on polyetheretherketone: In vitro and in vivo studies. **Acta biomaterialia**, 35, 305–317.
 44. SKIRBUTIS, G., DZINGUTĖ, A., MASILIŪNAITĖ, V., ŠULCAITĖ, G., ŽILINSKAS, J. (2017). A review of PEEK polymer's properties and its use in prosthodontics. **Stomatologija**, 19(1), 19–23.
 45. TEKIN, S., CANGÜL, S., ADIGÜZEL, Ö., DEĞER, Y. (2018). Areas for use of PEEK material in dentistry. **International Dental Research**, 8(2), 84–92.
 46. TOMASZEWSKI, P. K., VAN DIEST, M., BULSTRA, S. K., VERDONSCHOT, N., VERKERKE, G. J. (2012). Numerical analysis of an osseointegrated prosthesis fixation with reduced bone failure risk and periprosthetic bone loss. **Journal of biomechanics**, 45(11), 1875–1880.
 47. WANG, Z., LIENEMANN, M., QIAU, M., LINDER, M. B. (2010). Mechanisms of protein adhesion on surface films of hydrophobin. **Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids**, 26(11), 8491–8496.
 48. WANG, H., LU, T., MENG, F., ZHU, H., LIU, X. (2014). Enhanced osteoblast responses to poly ether ketone surface modified by water plasma immersion ion implantation. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, 117, 89–97.
 49. WASER-ALTHAUS, J., SALAMON, A., WASER, M., PADESTE, C., KREUTZER, M., PIELES, U., MÜLLER, B., PETERS, K. (2014). Differentiation of human mesenchymal stem cells on plasma-treated polyetheretherketone. **Journal of materials science. Materials in medicine**, 25(2), 515–525.
 50. WEN, J., LU, T., WANG, X., XU, L., WU, Q., PAN, H., WANG, D., LIU, X., JIANG, X. (2016). In Vitro and in vivo evaluation of silicate coated

- polyetheretherketone fabricated by electron beam evaporation. **ACS applied materials & interfaces**, 8(21), 13197–13206. doi:10.1021/acsami.5b10229
51. YUAN, Y., LEE, T. R. (2013). Contact Angle and Wetting Properties. **Springer Series in Surface Sciences**, 51, 3–34.
52. ZHAO, J., GUO, Z., MA, X., LIANG, G., WANG, J. (2004). Novel surface modification of high-density polyethylene films by using enzymatic catalysis. **Journal of Applied Polymer Science**, 91(6), 3673–3678. doi:10.1002/app.13619
53. ZHAO, M., AN, M., WANG, Q., LIU, X., LAI, W., ZHAO, X., WEI, S., JI, J. (2012). Quantitative proteomic analysis of human osteoblast-like MG-63 cells in response to bioinert implant material titanium and polyetheretherketone. **Journal of proteomics**, 75(12), 3560–3573.
54. ZHAO, Y., WONG, H. M., LUI, S. C., CHONG, E. Y. W., WU, G., ZHAO, X., WANG, C., PAN, H., CHEUNG, K. M. C., WU, S., CHU, P. K., YEUNG, K. W. K. (2016). Plasma surface functionalized polyetheretherketone for enhanced osseointegration at bone-implant interface. **ACS applied materials & interfaces**, 8(6), 3901–3911.
55. ZHENG, Y., LIU, L., XIONG, C., ZHANG, L. (2018). Enhancement of bioactivity on modified polyetheretherketone surfaces with $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ and $-\text{PO}_4\text{H}_2$ functional groups. **Materials Letters**, 213, 84–87.
56. ZHU, Y., CAO, Z., PENG, Y., HU, L., GUNNEY, T., TANG, B. (2019). A facile surface modification method for synergistically enhancing biocompatibility and bioactivity of polyetheretherketone with inducing osteo-differentiation. **ACS Applied Materials & Interfaces**, 11, 27503–27511.
57. ZIMMERMANN, T., FERRANDEZ-MONTERO, A., LIEBLICH, M., FERRARI, B., GONZÁLEZ-CARRASCO, J. L., MÜLLER, W. D., SCHWITALLA, A. D. (2018). In vitro degradation of a biodegradable polylactic acid/magnesium composite as potential bone augmentation material in the presence of titanium and PEEK dental implants. **Dental Materials**, 34(10), 1492–1500.