

QUINTESSENZA INTERNAZIONALE

QUINTESSENZA EDIZIONI S.r.l. - Via Ciro Menotti 65 - 20017 Rho (Mi) - Sped. in abb. post. D.L. 353/2003 (conv. in L. 27/02/04 n. 46) art. 1 comma 1, DCB - Milano

LUGLIO-SETTEMBRE 2010

A N N O 2 6

**Estratto
Quintessenza
Internazionale
2010**



Clinically relevant, scientifically based

NUMERO 3



Quintessenza Edizioni S.r.l.
Via Ciro Menotti, 65
C.P.85 – I-20017 Rho (MI)
Tel.: +39.02.93.18.08.21
Fax: +39.02.93.18.61.59
info@quintessenzaedizioni.it
www.quintessenzaedizioni.it

Valutazione comparata della risposta cellulare a motivi micro- e nanotopografici su superfici implantari

La modulazione del comportamento cellulare mediante topografia superficiale è un aspetto fondamentale della progettazione delle moderne superfici implantari. Questo lavoro valuta l'effetto di superfici con topografia microrugosa e nanoporosa sull'espressione di alcuni geni preposti all'osteogenesi da parte di cellule osteoblastiche. I risultati indicano che entrambe le superfici influenzano la morfologia delle cellule rispetto alla convenzionale superficie macchinata, ma solo la superficie microrugosa produce un incremento significativo dell'espressione genica. È quindi possibile supportare la necessità di motivi microrugosi nelle superfici implantari e il documentato beneficio clinico di questa classe di superfici anche da riscontri di biologia molecolare.

Parole chiave: Superfici implantari, Adesione cellulare, Espressione genica, Topografia superficiale, Analisi superficiale.

INTRODUZIONE

Le superfici implantari moderne riflettono la profonda evoluzione avvenuta nel settore negli ultimi vent'anni. Partendo dalle superfici originali macchinate, passando per quelle macrorugose come le superfici sabbiate o sottoposte a plasma spraying, fino ad arrivare alle superfici micro- e nanorugose dell'ultima generazione, l'interfaccia tessuto/impianto ha percorso un lunghissimo cammino¹⁻³. Durante questo percorso, la superficie implantare è passata dall'aver una funzione meramente passiva, a un ruolo di ritenzione meccanica, a un vero e proprio ruolo attivo nel controllo del comportamento e differenziazione cellulare. Parallelamente a questo cammino, anche le indicazioni cliniche, l'affidabilità, la velocità di integrazione si sono ampliate e sono cresciute, determinando l'indubbio successo dell'implantologia orale.

Alla base delle superfici implantari attuali si trova l'idea che una corretta topografia superficiale possa stimolare l'attività di cellule

* Nobil Bio Ricerche srl.

Indirizzo per la corrispondenza:

Nobil Bio Ricerche srl
Via Valcastellana 26, 14037, Portacomaro (AT)

osteogeniche. Una nutrita Letteratura scientifica a riguardo ha dimostrato la fondatezza di questa asserzione, che è stata tradotta in pratica clinica a partire dalle capostipiti delle superfici implantari moderne, cioè SLA (Sandblasted Large grit Acid attacked, Straumann) e Osteotite (Implant Innovation Inc.)¹⁰. In entrambi questi casi, il processo finale di attacco con acidi porta alla formazione di picchi separati da distanze nettamente inferiori al corpo cellulare (dell'ordine dei pochi micrometri), impendendo il completo appiattimento delle cellule osteogeniche e mantenendo un metabolismo molto attivo⁸.

Il concetto di controllo del comportamento cellulare mediante topografia superficiale è oggi adottato dai sistemi implantari più avanzati, che si sono evoluti lungo le linee definite dai primi esempi sopracitati. Accanto alla microtopografia indotta da trattamento con acidi, sono stati messi a punto sistemi che consentono di ottenere strutture superficiali nanoporose, cioè con pori di dimensioni inferiori al micrometro, mediante trattamento elettrochimico¹¹⁻¹⁴. Anche in questo caso la lineaguida è la realizzazione di motivi topografici di dimensioni inferiori rispetto al corpo cellulare, per stimolarne l'attività.

In questo lavoro abbiamo voluto confrontare la risposta di cellule di tipo osteoblastico a due superfici rappresentative delle moderne concezioni di topografia implantare: una superficie microrugosa, ottenuta con doppio attacco acido di ultima generazione (Osteorapid, IDI Evolution srl, Concorezzo) e una superficie con struttura nanoporosa, ottenuta mediante trattamento elettrochimico. Lo scopo del lavoro è la valutazione di come le variazioni della topografia della superficie possano influenzare il comportamento di cellule di tipo osteoblastico: per questo motivo, lo studio è stato eseguito valutando mediante microscopia a fluorescenza l'adesione delle cellule alle superfici e verificando proliferazione delle cellule e comportamento con analisi di espressione genica via RT-PCR. Prima dell'a-

nalisi, la topografia delle superfici è stata caratterizzata mediante osservazione al microscopio elettronico a scansione (SEM), mentre la composizione chimica della superficie è stata analizzata mediante spettroscopia fotoelettronica a raggi X (XPS).

MATERIALI E METODI

I campioni erano costituiti da dischetti in titanio, trattati, confezionati e sterilizzati. La prima tipologia analizzata è Osteorapid (IDI Evolution srl, Concorezzo), la cui topografia superficiale viene ottenuta mediante doppio trattamento con acido (nel resto di questo lavoro, questi campioni verranno definiti dalla sigla Osteorapid). La seconda serie di campioni era costituita da una superficie nanoporosa, ottenuta per trattamento elettrochimico in bagno solfato-fosfato (definita Nano nel resto del lavoro). Maggiori informazioni su questa struttura superficiale sono riportati nella sezione dei risultati. Per riferimento, i test sono stati eseguiti anche su una superficie macchinata (codificata dalla sigla Mac).

La topografia superficiale dei campioni è stata valutata mediante osservazione al microscopio elettronico a scansione. L'analisi è stata eseguita con uno strumento EVO MA 10 (Zeiss). Il potenziale di accelerazione degli elettroni (= EHT) è stato mantenuto a 15 kV, la distanza focale (WD) tra 9 e 12 mm, a seconda delle esigenze e della natura dei campioni. Questi parametri sono riportati nelle fotografie, unitamente all'ingrandimento (MAG).

La valutazione quantitativa della rugosità è stata effettuata grazie a un software che consente di trasformare in dato tridimensionale l'immagine SEM convenzionale (Mex 4.2, Alicona Imaging). Maggiori dettagli sperimentali sono presentati nella sezione relativa ai risultati.

La composizione chimica della superficie è stata valutata mediante la tecnica

XPS. L'analisi XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) o ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis, entrambi i nomi, che indicano la stessa tecnica, sono usati nella Letteratura scientifica a riguardo), consente di ottenere la composizione qualitativa e quantitativa degli strati più esterni dei materiali. La profondità analizzata è di circa 5 nanometri (nm).

L'analisi XPS è stata eseguita con uno strumento Perkin Elmer PHI 5400 ESCA System. Esso è dotato di una sorgente di raggi X con anodo di Mg, mantenuto a 10 kV con potenza di 200 W.

Le cellule utilizzate per la prova di adesione sono cellule di tipo osteoblastico da sarcoma osteogenico umano; in particolare, si tratta delle cellule della linea SaOS-2 (BS-TCL-90), acquistata presso il Centro Substrati Cellulari dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna. Le prove di adesione cellulare sono state condotte secondo i protocolli contenuti nella bibliografia internazionale.

Una sospensione di $7,35 \pm 0,12 \times 10^4$ cellule SaOS-2 (ottenuta mediante aggiunta di 2 mL di soluzione tripsina/EDTA al monostrato contenuto in una fiasca T75 Falcon) in 2,5 mL di terreno McCoy's 5a, addizionato di 15% di siero di feto bovino, L-glutamina, penicillina, streptomina e anfotericina B (tutti acquistati presso Lonza Milano Srl) veniva introdotta in contenitori sterili in polistirene a 12 scomparti (12 multiwells plate, Falcon). Contemporaneamente, estratti dalle confezioni sterili sotto cappa a flusso laminare, venivano introdotti anche tutti i 9 dischi per ogni tipologia di superficie necessari per questa prova. I contenitori venivano successivamente posti in incubatore a 37 C, 5% di CO₂ e umidità relativa del 98%, con tre dischi per tipologia prelevati dopo 24 ore, altri tre dopo 72 ore, altri tre, infine, dopo 7 giorni.

Al termine di ciascun periodo di crescita, una parte dei dischi è stata sottoposta a fissazione con soluzione 4% di glutaraldeide (Aldrich, Sigma, Milano) in Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS, Lonza Mi-

lano), per preparare le cellule all'osservazione con microscopia a fluorescenza. Dopo fissazione, le cellule sono state trattate secondo il protocollo specifico i cui punti salienti sono i seguenti:

- permeabilizzazione della membrana cellulare mediante soluzione 1% Triton X-100 in PBS, seguito da lavaggi in DPBS;
- blocco dei siti aspecifici mediante immersione in soluzione all'1% di Bovine Serum Albumine (BSA) e successivi lavaggi in DPBS;
- colorazione del corpo cellulare con falloidina coniugata a fluoresceina (Alexa-fluor 488, Invitrogen, Milano);
- colorazione dei nuclei mediante colorante DAPI (DiAmidinoPhenylindole di-lactate) e lavaggi finali.

I campioni così preparati sono stati osservati mediante microscopio a fluorescenza Motic AE 31.

La rimanente parte dei dischi per ciascun tempo sperimentale è stata sottoposta ad analisi di espressione genica, effettuata attraverso la real time reverse transcription PCR (qRT-PCR). Le cellule Saos-2 sono state coltivate sui differenti materiali e l'RNA totale è stato estratto dopo 24h, 72h e 7 giorni utilizzando il MagMax Total RNA Isolation Kit (Applied Biosystems). La qualità dell'RNA è stata valutata controllando che il rapporto di assorbanza A260/A280 fosse compreso tra 1,6 e 2,0. L'RNA estratto è stato successivamente retrotrascritto a cDNA utilizzando il kit High Capacity cDNA RT da Applied Biosystems.

La quantificazione relativa dei geni è stata ottenuta attraverso l'utilizzo di sonde Taq Man specifiche per ogni gene preso in esame, comparando i livelli di espressione del gene housekeeping GAPDH. Le reazioni di amplificazione sono state condotte nel termociclatore Step-One (Applied Biosystems) in duplicato seguendo le istruzioni del produttore.

Per ottenere i grafici di espressione genica, i dati sono stati normalizzati utilizzando il software Step-One secondo il metodo standard del ΔCt .

RISULTATI

Composizione chimica superficiale

La composizione chimica della superficie dei campioni analizzati è riportata in tabella 1. Come riportato¹⁵⁻¹⁷, questo tipo di dato è estremamente importante e non sempre adeguatamente valorizzato nella Letteratura del settore. Molto spesso, il confronto tra superfici diverse si basa esclusivamente sull'aspetto topografico, dimenticando che la composizione chimica degli strati più esterna dei materiali non è mai scontata e può introdurre ulteriori variabili¹⁸. Per quanto riguarda i campioni in esame, i risultati ottenuti sono riportati in tabella 1. Tutti i campioni forniscono dati in linea con le attese ed evidenziano un buon grado di pulizia superficiale. La percentuale di carbonio, in accordo con i valori minimi possibili nella nostra atmosfera¹⁷ e l'assenza di contaminanti inattesi confermano che, in effetti, i risultati di interazione con le cellule non sono verosimilmente influenzati da differenze nella chimica superficiale, almeno per Mac e Osteorapid. Il campione Nano presenta un segnale di fosforo piuttosto elevato, dovuto al processo di produzione in soluzioni fosfatice. Anche questo dato è in accordo con la Letteratura e sostanzialmente indica l'inglobamento di specie contenenti fosforo nello strato di ossido superficiale generato nel processo elettrochimico¹¹⁻¹⁴.

Osservazione al microscopio elettronico a scansione

I risultati salienti dell'osservazione al SEM sono riportati nelle figure 1-3. In particolare, la figura 1 si riferisce alla superficie Mac: sono visibili i classici segni di lavora-

zione dell'utensile, caratteristici di questo tipo di struttura.

Nella figura 2 è visibile la tipica topografia della superficie Osteorapid: in ossequio ai dettami discussi nell'introduzione, la rugosità superficiale è caratterizzata da picchi separati da 1 micrometro o meno. Questa rugosità molto fitta, che conferisce quasi una caratteristica di "spugnosità" alla superficie, è stata un significativo passo avanti rispetto alle vecchie teorie che richiedevano rugosità dell'ordine delle dimensioni cellulari.

La figura 3 riporta una visione della superficie Nano: la caratteristica saliente in questo caso è la presenza di pori circolari, di diametro inferiore al micrometro. La forma circolare deriva dal fatto che questi pori si generano a seguito di emissione di gas dalla superficie nel corso del trattamento elettrochimico.

La figura 4 confronta i profili di rugosità delle tre superfici analizzate, ottenuti mediante analisi StereoSEM come descritto nella sezione sui materiali e metodi. La massima distanza picco-valle (Rz) è di circa 1 micron nel caso di Mac, di circa 3 per Osteorapid e superiore a 2 micron per Nano. L'osservazione dei profili di rugosità rivela chiaramente quanto prima accennato a proposito di Osteorapid, cioè la distanza molto breve tra picchi.

A conclusione di questa sezione, si può affermare che, in sostanza, Osteorapid e Nano sono due forme diverse di controllo della topografia superficiale a livelli sub-cellulari, essendo mediamente le dimensioni di una cellula dell'ordine di qualche decina di micrometri. Le sezioni seguenti tentano di capire come queste caratteristiche influenzino la risposta cellulare e il processo di osteogenesi.

Tabella 1. Composizione superficiale (% atomico) dei campioni analizzati.

Composizione superficiale							
Campione	Ti	O	N	C	Si	P	Ca
Mac	17,6	43,8	0,4	36,9	0,9		0,4
Osteorapid	18,9	43,8	0,3	35,4	1,1	0,2	0,2
Nano	12,3	42,1	1,1	36,1	0,9	6,5	0,9

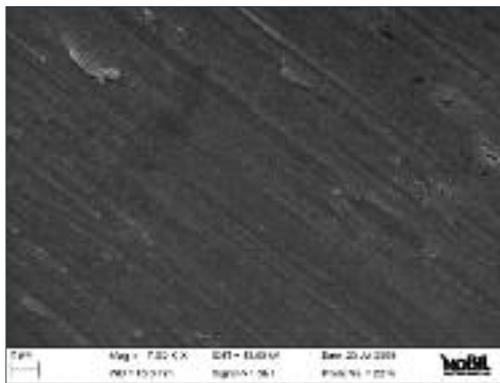


Fig. 1 Immagine al SEM (7500 x) della superficie Mac.

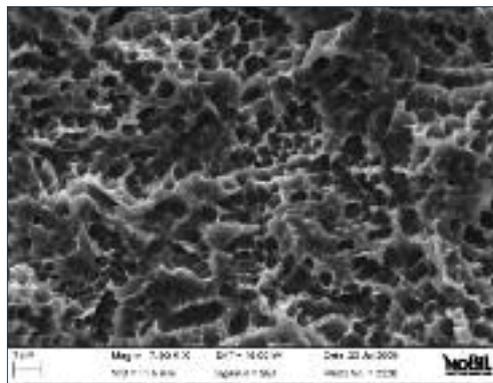


Fig. 2 Immagine al SEM (7500 x) della superficie Osteorapid.

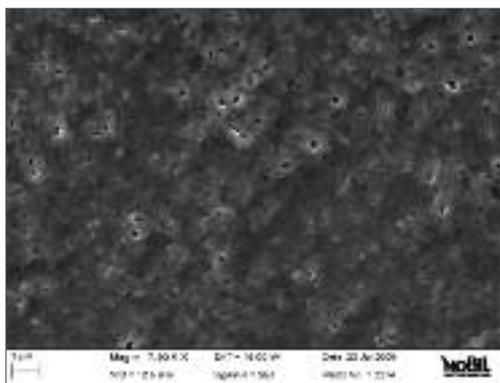


Fig. 3 Immagine al SEM (7500 x) della superficie Nano.

Fluorescenza

Passando ai dati di valutazione del comportamento cellulare, le figure 5 e 6 mostrano immagini al microscopio a fluorescenza delle cellule cresciute sulle tre superfici in esame, a 24 (Fig. 5) e 72 (Fig. 6) ore. Per entrambe le figure, l'immagine A si riferisce a Mac, la B a Osteorapid, la C a Nano. Su tutti i campioni è stata osservata una buona e rapida colonizzazione cellulare, come atteso. Per quanto riguarda l'aspetto morfologico, le osservazioni eseguite confermano i riscontri di Letteratura: le cellule su Mac tendono ad avere un aspetto più allungato e appiattito, particolarmente evidente in 6A. Le cellule su Osteorapid si mantengono in forma più globosa e l'area occupata dalla singola cellula è mediamente inferiore. Nano ha un comportamento più simile a Osteorapid, confermando che

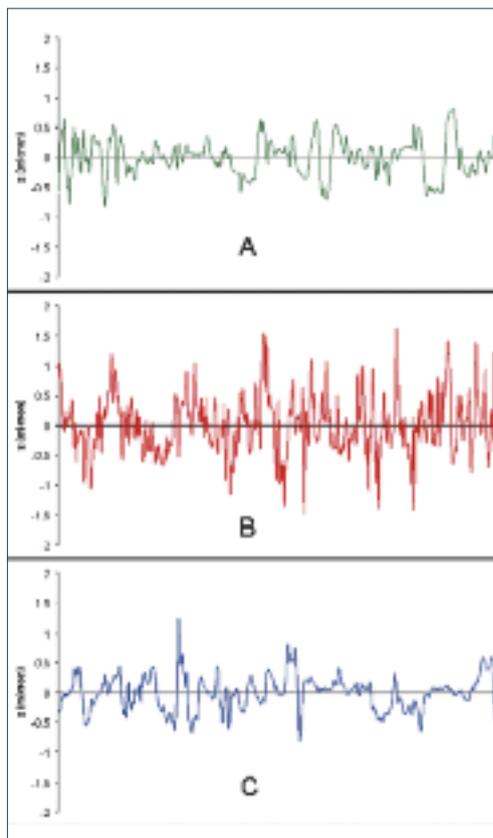


Fig. 4 Profili di rugosità ottenuti mediante indagine StereoSEM su A: Mac; B: Osteorapid; C: Nano.

la topografia superficiale, anche a livello di nano-dimensioni, influenza in modo diretto la morfologia cellulare, indirizzando la forma cellulare in modo diverso rispetto a quanto accade su una superficie macchinata. Per comprendere se questi effetti hanno conseguenze significative sul compor-

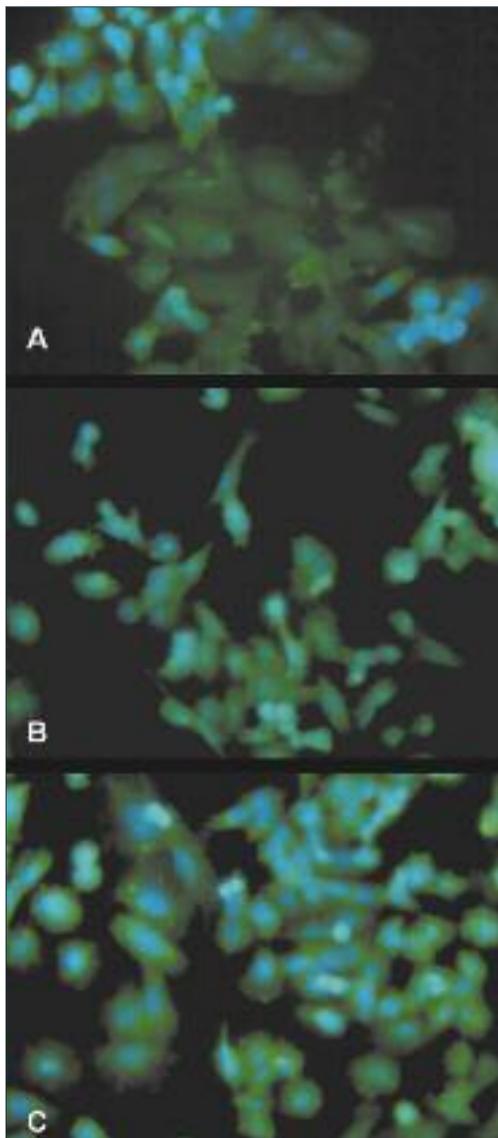


Fig. 5 Immagini in microscopia a fluorescenza (200 X) di cellule SaOS2 dopo 24 ore di coltura su: A: Mac; B: Osteorapid; C: Nano.

tamento cellulare, in particolare per quanto riguarda il processo di osteogenesi, sono state eseguite le valutazioni di espressione genica riportate nella sezione seguente.

RT-PCR

Nell'analisi di espressione genica sono stati misurati a 24, 48 e 72 h alcuni indicatori specifici del comportamento cellulare: in particolare, i geni che codificano per tre importanti attori del processo di osteogenesi: Collagene I (Coll I), Fosfatasi Alcalina (ALP)

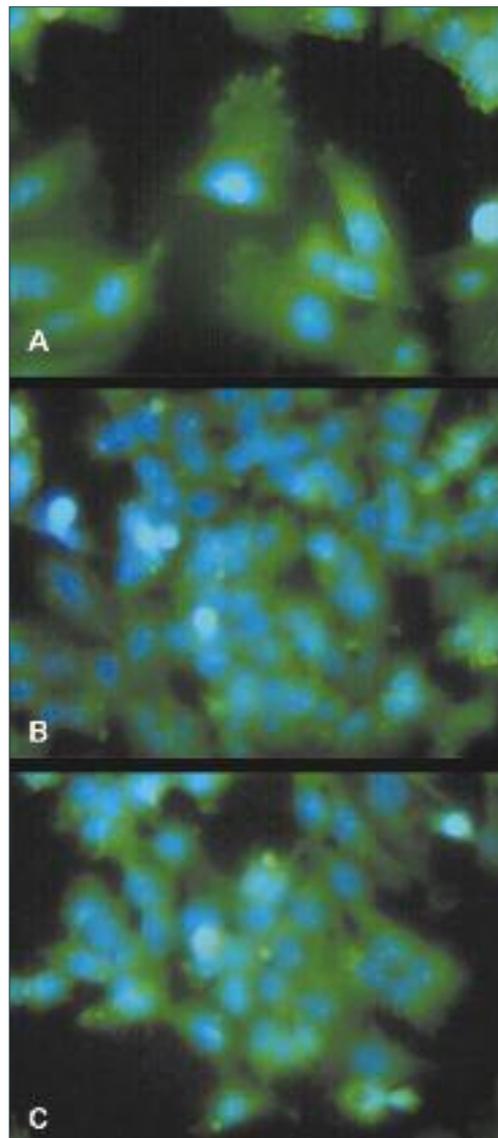


Fig. 6 Immagini in microscopia a fluorescenza (600 X) di cellule SaOS2 dopo 72 ore di coltura su: A: Mac; B: Osteorapid; C: Nano.

e osteocalcina (OCN). Inoltre, come indicatore di differenziazione, è stato valutato RUNX2^{19,20}, un gene che codifica per un fattore di trascrizione che promuove la maturazione e il differenziamento cellulare. I risultati ottenuti sono riportati in figura 7: a 24 h, stadio a cui si riferiscono le immagini in figura 7, non si osservano differenze significative tra le tre superfici. A partire da 48 h (Fig. 7b), però, le cellule coltivate su Osteorapid cominciano a esprimere in modo significativamente più elevato RUNX2 rispet-

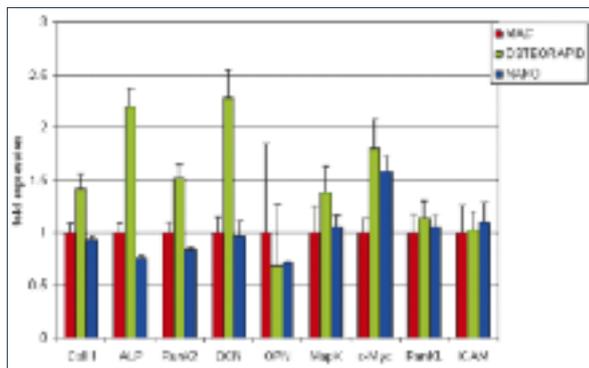
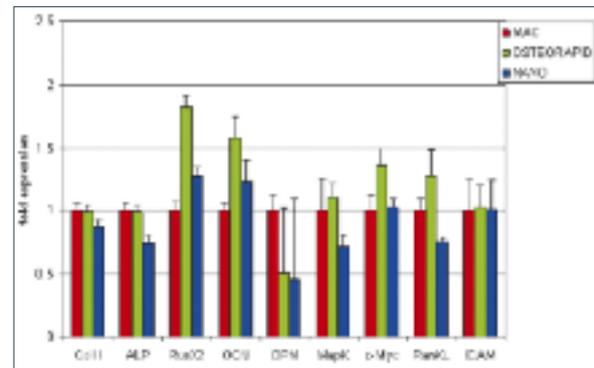
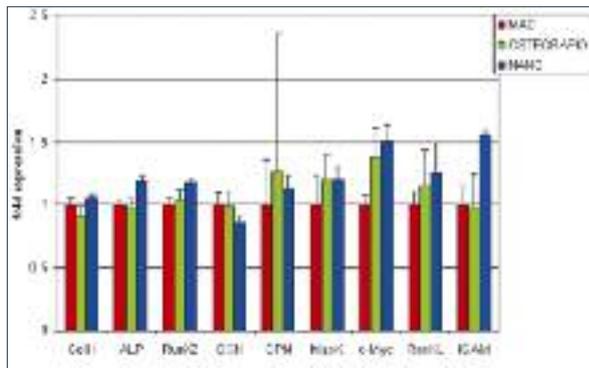


Fig. 7a-c Grafici di espressione genica di cellule SaOS2 ottenuti a 24 h (a), 48 h (b) e 72 h (c) di coltura sulle superfici analizzate.

to a quelle coltivate sulle altre due superfici e OCN in modo significativamente più elevato rispetto a quelle coltivate sulla superficie macchinata. Questo dato indica che, almeno su Osteorapid, si sono messi in moto a livello genico i meccanismi che presiedono all'osteogenesi. A 72 h (Fig. 7c), tutti i markers osteogenici sono significativamente più espressi sulla superficie Osteorapid: in particolare si può osservare come, su tale superficie, sia il gene che codifica per l'enzima fosfatasi alcalina (ALP), responsabile della mineralizzazione e della neoformazione ossea, sia il gene codificante per la proteina osteocalcina (OCN), il principale costituente proteico della matrice ossea, siano "up-regolati" fino a un valore di circa il doppio rispetto alle altre due superfici analizzate.

DISCUSSIONE

Le immagini delle figure 5,6, combinati con i dati di figura 7 indicano chiaramente il ruolo attivo giocato dalla topografia delle

superfici implantari avanzate sul comportamento cellulare: le cellule di tipo osteoblastico sono forzate dalla topografia di Osteorapid illustrata in figura 2 ad assumere una morfologia meno appiattita e più globosa rispetto a una superficie macchinata. Il significato di questa osservazione di biologia descrittiva viene spiegato dai dati di biologia molecolare ottenuti con RT-PCR: la diversa morfologia cellulare è associata a un'espressione di markers di differenziazione (RUNX2) e osteogenici molto maggiore su Osteorapid. I risultati ottenuti indicano che tale superficie è in grado di stimolare le cellule di tipo osteoblastico a esprimere una maggior quantità di tre geni importanti nella differenziazione, neoformazione e maturazione ossea, come RUNX2, ALP e OCN. In altre parole, la topografia di Osteorapid indirizza le cellule di tipo osteoblastico analizzate verso un cammino intensamente osteogenico, esemplificando il concetto di superficie attiva e di modulazione dell'osteogenesi mediante topografia superficiale. Il confronto con la superficie nanoporosa indica in modo chiaro

che i dettagli della topografia giocano un ruolo importante: infatti il campione Nano non riesce a indurre nelle cellule il medesimo effetto stimolante esercitato da Osteorapid, pur influenzandone decisamente la morfologia, come evidente dalla figura 6. Questo comportamento può essere dovuto alla rugosità globalmente inferiore, alla ridotta altezza delle asperità rispetto a Osteorapid (Fig. 4), o anche alla diversa composizione chimica superficiale (Tab. 1). Indipendentemente dalla motivazione, il risultato netto è che le cellule, pur risentendo chiaramente della topografia nanoporosa, non ricevono gli stimoli sufficienti per mettere in moto i meccanismi che a livello di acidi nucleici determinano il comportamento della cellula. La notevole sovraespressione di RUNX2 mostrata dalle cellule su Osteorapid a 48 h, propedeutica alla sovraespressione di geni osteopromotori osservata a 72 h, non trova riscontro in Nano, suggerendo che non è sufficiente introdurre stimoli topografici di dimensione subcellulare per promuovere un effetto attivo della superficie: evidentemente, i dettagli degli stimoli topografici, in qualità e quantità, giocano un ruolo fondamentale. È inoltre importante ricordare che questi risultati sono comunque sempre anche frutto del buon grado di pulizia superficiale e dell'assenza di contaminanti (Tab. 1), che non introducono eventuali fattori di disturbo nell'interazione cellule-superficie: l'effetto della chimica superficiale, per esempio in presenza di elevati gradi di contaminazione, può sovrapporsi a quello della topografia, alterandone gli eventuali benefici¹⁸.

Il comportamento osservato può essere correlato ai documentati benefici clinici che questa tipologia di superficie comporta: è noto che strutture di questo tipo consentono una migliore adesione del reticolo di fibrina nelle fasi immediatamente successive all'impianto, evento che consente una più efficace migrazione delle cellule osteogeniche alla superficie implantare^{21,22}. I dati qui riportati indicano, nei limiti della sperimentazione *in vitro*, che una volta giunte alla

superficie le cellule vengono guidate e stimolate dalla topografia superficiale nel cammino osteogenico, contribuendo quindi a una più rapida e intensa integrazione.

CONCLUSIONI

In conclusione, la sperimentazione effettuata consente di confermare l'importanza dell'introduzione di motivi topografici di dimensioni sub-cellulari sulle superfici implantari.

La superficie Osteorapid, rappresentativa delle superfici microrugose di recente generazione ottenute con attacco acido, esprime un comportamento attivo nei confronti delle cellule di tipo osteoblastico oggetto dello studio. Il comportamento attivo si manifesta con un'azione diretta sulla morfologia cellulare, che riflette un incremento significativo dell'espressione di geni che controllano la differenziazione cellulare e l'osteogenesi. Lo stimolo di questi meccanismi cellulari è l'evidenza, *in vitro*, delle riconosciute prestazioni cliniche superiori generalmente riconosciute a questa tipologia di superfici.

BIBLIOGRAFIA

1. Davies JE, Ed The bone-biomaterial interface, Toronto, University of Toronto Press, 1991.
2. Davies JE, Ed Bone Engineering, Toronto, Em squared, 2000.
3. Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P, Eds Titanium in Medicine, Springer, Berlin, 2001.
4. Cooper LF, A role for surface topography in creating and maintaining bone at titanium endosseous implants, *J Prosthet Dent* 2000;84: 522-534.
5. Martin JY, Schwartz Z, Hummert TW, Schraub DM, Simpson J, Lankford J Jr., Dean DD, Cochran DL, Boyan BD, Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63), *J Biomed Mater Res*, 1995; 29:389-401.
6. Boyan BD, Batzer R, Kieswetter K, Liu Y, Cochran DL, Szmuckler-Moncler S, Dean DD, Schwartz Z, Titanium surface roughness alters responsiveness of MG-63 osteoblast-like cells to 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$, *J Biomed Mater Res*, 1998;39:77-85.

7. Kieswetter K, Schwartz Z, Hummert TW, Cochran DL, Simpson J, Dean DD, and Boyan BD, Surface roughness modulate the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells, *J Biomed Mater Res*, 1996;32:55-63.
8. Boyan BD, Schwartz Z, Modulation of osteogenesis via implant surface design, in: Davies JE editor. *Bone Engineering*, em squared, Toronto, 2000;232-239.
9. Lazzara RJ, Bone response to dual acid etched and machined titanium implant surfaces, in: Davies JE editor. *Bone Engineering*, em squared, Toronto, 2000;381-390.
10. Boyan, B.D., Lössdörfer, S., Wang, L., Zhao, G., Lohmann, C.H., Osteoblasts generate an osteogenic microenvironment when grown on surfaces with rough microtopographies. *European Cell and Materials* 2003;24:22-27.
11. Sul YT, Johansson CB, Jeong Y, Roser K, Wennerberg A, Albrektsson T, Oxidized implants and their influence on the bone response, *J Mater Sci Mater Med*, 2001;12:1025-31.
12. Sul YT, Johansson CB, Petronis S, Krozer A, Jeong Y, Wennerberg A, Albrektsson T, Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. *Biomaterials*, 2002;23:491-501.
13. Sul YT, The significance of the surface properties of oxidized titanium to the bone response: special emphasis on potential biochemical bonding of oxidized titanium implant, *Biomaterials*. 2003;24:3893-907.
14. Sul YT, Johansson C, Byon E, Albrektsson T, The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants, *Biomaterials*, 2005;26:6720-30.
15. Wieland M, Sittig C, Brunette DM., Textor M, Spencer ND, Measurement and evaluation of the chemical composition and topography of titanium implant surfaces, in: Davies J. E. editor. *Bone Engineering*, Toronto, em squared, 2000;163-181.
16. Morra M, Cassinelli C, Di Carlo F. Le superfici implantari, in *Chirurgia Implantare*, a cura di L Malchiodi, Edizioni Martina, 2003.
17. Morra M, Cassinelli C, Bruzzone G, Carpi A, Di Santi G, Giardino R, Fini M, Surface chemistry effects of topography modification of titanium dental implants surfaces: 1. Surface analysis, *Int J Oral Maxillofacial Implants*, 2003;18:40-45.
18. Cassinelli C, Morra M., Bruzzone G, Carpi A, Di Santi G, Giardino R, Fini M, Surface chemistry effects of topography modification of titanium dental implants surfaces: 2. In vitro studies, *Int J Oral Maxillofacial Implants*, 2003;18:46-52.
19. Komori, T, Regulation of Osteoblast Differentiation by Transcription Factors, *Journal of Cellular Biochemistry* 2006;99:1233-1239.
20. P.J. Marie, Transcription factors controlling osteoblastogenesis, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2008;473:98-105.
21. Davies JE, Housseini MM, Histodynamics of endosseous wound healing, in: Davies JE editor. *Bone Engineering*, Toronto, em squared, 2000;1-14.
22. Davies JE, Understanding peri-implant endosseous healing *J Dent Ed*. 2003;67:932-949.

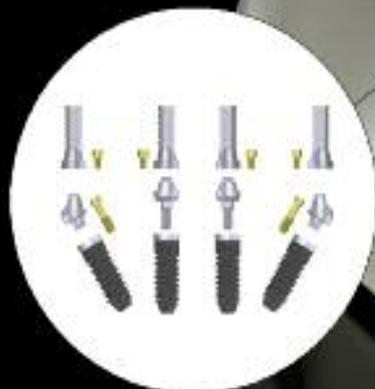
Modulation of cell behavior by surface topography is a fundamental result of present-day implant surfaces design. In this work, expression of osteogenetic genes by osteoblast cultured on microrough and nanoporous surfaces was evaluated. Results show that both surfaces affect cell morphology with respect to the conventional machined surface, but only the microrough surface promotes upregulation of gene expression. It is then possible to support the need for microrough motifs on implant surfaces, and the documented clinical benefits of this class of surfaces, also from the point of view of molecular biology.

Parole chiave: Implant surfaces, Cell adhesion, Gene expression, Surface topography, Surface analysis.

Nuovo TMM2

LASCIATI GUIDARE NEL MONDO DELL'IMPLANTOLOGIA EVOLUTA

Grazie agli elevatissimi standard ottenuti dall'unità produttiva I.D.I. Evolution, è oggi possibile realizzare i protocolli di riabilitazione implanto-protesica a carico immediato con inserti endossei dedicati e componenti protesiche di alta precisione



IDI EVOLUTION PRESENTA
IL 1° SISTEMA DI IMPLANTOLOGIA GUIDATA IN GRADO DI:

- > accedere a protocolli guidati per carico differito e immediato mediante **Idt Intelligence**,
 - > identificare resistenza e qualità ossea,
 - > visualizzare la stabilità primaria dell'impianto,
- > gestire tutte le funzioni attraverso il monitor touch screen estraibile,
- > vocalizzare i dati intraoperatori e memorizzarli tramite porta usb.

Engineerized by

IdiEvolution