

Desenvolvimento de nova abordagem multifuncional com microesferas fotorresponsivas para o controle de doenças peri-implantares

Palavras-Chave: fototerapia, peri-implantite, hidrogéis

Autores/as:

Heloisa Martins Malta de Oliveira¹, Samuel Santana Malheiros¹, Maria Helena Rossy Borges¹, Mirtes Maria Ferreira Corrêa¹, Diana Gabriela Soares dos Passos², Bruna Egumi Nagay¹ (co-orientadora) e Valentim Adelino Ricardo Barão¹ (orientador)

¹Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas (FOP-UNICAMP)

²Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo (FOB-USP)

INTRODUÇÃO:

Embora os implantes dentários tenham revolucionado a reabilitação oral, sua taxa de sucesso pode diminuir significativamente ao longo do tempo, principalmente devido às doenças peri-implantares. Essas condições inflamatórias, induzidas pelo acúmulo de biofilme ao redor dos implantes, afetam até 10% dos casos em dez anos e podem comprometer a longevidade do tratamento (Mombelli et al., 2012). Ainda, as terapias convencionais, como antimicrobianos e cirurgias, muitas vezes apresentam resultados limitados na regeneração óssea e no controle eficaz das infecções.

Materiais fotocatalíticos, como o oxiodeto de bismuto (BiOI), têm se destacado por sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) sob luz visível, promovendo a eliminação de bactérias com baixo risco de resistência (Arumugam e Choi, 2020; Nagay et al., 2025). Apesar de seu alto potencial

antimicrobiano, o BiOI ainda não foi investigado na literatura científica com aplicações voltadas à Odontologia, o que evidencia o caráter inovador de sua proposta no tratamento de infecções peri-implantares. Para viabilizar seu uso, a conversão do BiOI em microesferas é essencial, pois aumenta sua estabilidade e desempenho fotocatalítico (Liu et al., 2014). No entanto, sua aplicação direta em tecidos é limitada pela dispersão do material, o que reforça o uso de hidrogéis injetáveis, como o metacrilato de gelatina (GelMA, do inglês *gelatin methacryloyl*), como plataforma ideal para promover uma liberação localizada, controlada e eficaz das microesferas no sítio de interesse (Zhou et al., 2023).

A combinação de GelMA com microesferas de BiOI propõe uma abordagem terapêutica multifuncional e inédita para o tratamento de infecções peri-implantares, pois poderia permitir a liberação localizada de EROs com efeito antimicrobiano, aliada ao potencial regenerativo do hidrogel. No entanto, a

concentração ideal de microesferas no hidrogel é um fator crítico, já que as interações entre o polímero e as nanopartículas podem alterar propriedades estruturais e reológicas do sistema, impactando diretamente seu desempenho biológico e microbiológico.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver microesferas fotocatalíticas de BiOI e incorporá-las a um hidrogel injetável fotorresponsivo à base de metacrilato de gelatina (GelMA), propondo uma estratégia terapêutica inovadora para o tratamento de infecções peri-implantares. Os objetivos específicos incluíram a síntese e caracterização das microesferas de BiOI, a incorporação dessas partículas ao GelMA, e a investigação do efeito dessa combinação nas propriedades físico-químicas, estruturais, biológicas e microbiológicas do material resultante.

METODOLOGIA:

Trata-se de um estudo experimental in vitro realizado em ambiente laboratorial. A Figura 1 apresenta o delineamento experimental do estudo, que envolve o desenvolvimento e caracterização de microesferas fotocatalíticas de BiOI, seguidos pela incorporação em hidrogéis de GelMA injetáveis e posterior avaliação físico-química, estrutural, biológica e microbiológica do material.

Inicialmente, foram desenvolvidas microesferas fotocatalíticas de BiOI por meio de um processo hidrotérmico (Figura 1A). A síntese foi realizada em um mini reator de aço inoxidável revestido internamente com Teflon, contendo uma solução precursora formada por nitrato de bismuto ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), glicerol e iodeto de

sódio (NaI), dissolvidos em água deionizada. A mistura foi submetida a aquecimento a 130 °C por 18 horas. Após o resfriamento, os produtos sólidos foram coletados por centrifugação, lavados com água deionizada e etanol, e secos em estufa a 60 °C. As microesferas obtidas foram armazenadas em frascos âmbar, em ambiente seco e protegido da luz.

As microesferas foram caracterizadas quanto à morfologia, composição elementar, estrutura cristalina e responsividade à luz visível. Também foram realizados testes para avaliação de sua atividade fotocatalítica, com foco na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como ensaios de citotoxicidade, adsorção de proteínas do plasma sanguíneo humano e microbiológicas com bactérias gram-positiva (*S. aureus*), gram-negativa (*E. coli*), fungo (*C. albicans*) e biofilme polimicrobiano utilizando saliva como inóculo (CAAE: 45119321.0.0000.5418).

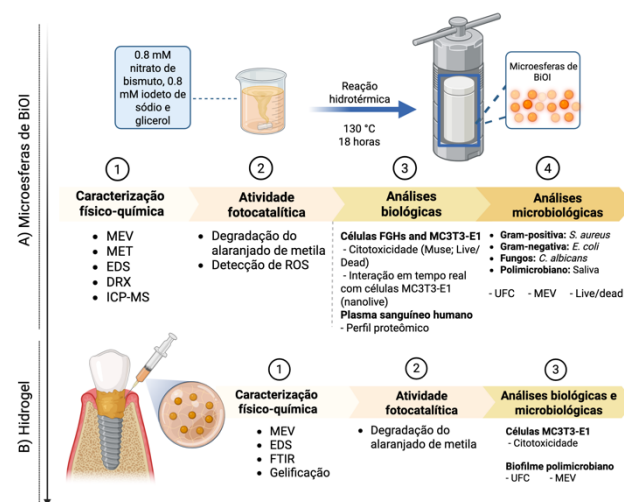


Figura 1 – Delineamento experimental. A) Desenvolvimento e caracterização de microesferas fotocatalíticas de BiOI. B) Incorporação em hidrogéis de GelMA injetáveis e posterior avaliação físico-química, estrutural, biológica e microbiológica do material. Abreviações: MEV = microscopia eletrônica de varredura, MET = microscopia eletrônica de transmissão, EDS = espectroscopia de energia dispersiva, DRX = difração de raios-x, ICP-MS = espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*, *E. coli* =

Em seguida, foram desenvolvidos hidrogéis injetáveis à base de GelMA contendo microesferas de BiOI (Figura 1B), sendo o grupo controle composto por GelMA sem BiOI. As amostras foram preparadas por meio da adição do fotoiniciador *Lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphine* (LAP) à solução de GelMA a 15%, seguida da incorporação das microesferas e posterior fotoreticulação com luz azul ($\lambda = 395\text{-}480\text{nm}$; VALO™ Grand, Ultradent) por 30 segundos. Os hidrogéis foram caracterizados quanto à morfologia (MEV), ligações químicas (FTIR), tempo de gelificação e atividade fotocatalítica, avaliada pela degradação do corante alaranjado de metila sob irradiação. Em seguida, foram realizadas análises biológicas, incluindo citocompatibilidade com células pré-osteoblásticas MC3T3-E1 por ensaio de AlamarBlue, e avaliação da atividade antimicrobiana frente a um modelo polimicrobiano derivado de saliva humana (CAAE: 88751825.0.0000.5418), com ou sem exposição à luz visível.

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software GraphPad Prism (versão 10.4.2, GraphPad Software, EUA). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre múltiplos grupos, foi aplicado o teste ANOVA de uma via ou duas vias (atividade fotocatalítica; fator 1: grupos, fator 2: tempos), seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Todos os

experimentos foram realizados em triplicata, com repetição independente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A síntese hidrotérmica das microesferas de BiOI foi otimizada para 18 horas, tempo no qual se obteve microesferas com uma estrutura hierárquica semelhante a um buquê de flores, composta por microplacas de bismuto (Figura 2A,B). A composição química foi confirmada por EDS, revelando a presença de bismuto, oxigênio e iodo em proporções 1:1:1 (Figura 2C). O DRX confirmou a estrutura monocristalina do material, enquanto o potencial zeta de $-4,5\text{ mV}$ e o tamanho médio de $1,6\text{ }\mu\text{m}$ indicaram a formação de microesferas estáveis. As partículas também demonstraram boa estabilidade iônica em pH neutro e ácido nas primeiras 24 horas, sugerindo adequação para o ambiente oral.

As análises de fotocatalise revelaram geração de EROs sob luz visível, demonstrada por ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e pela degradação do corante alaranjado de metila. As amostras irradiadas apresentaram desempenho significativamente superior em comparação aos controles sem luz ($p < 0,05$) (Figura 2D), indicando o potencial do BiOI em gerar EROs para uso em terapias fotoativáveis (Figura 2E). Além disso, o perfil proteômico do plasma adsorvido às microesferas manteve funções biológicas similares ao plasma sanguíneo nativo, sugerindo biocompatibilidade. Ensaio com células MC3T3-E1 demonstraram citocompatibilidade e aumento da viabilidade celular ($p < 0,05$) (Figura 2F), o que poderia favorecer a regeneração óssea. Testes com

fibroblastos gengivais humanos confirmaram a segurança do material mesmo quando associado à luz visível ($p>0,05$).

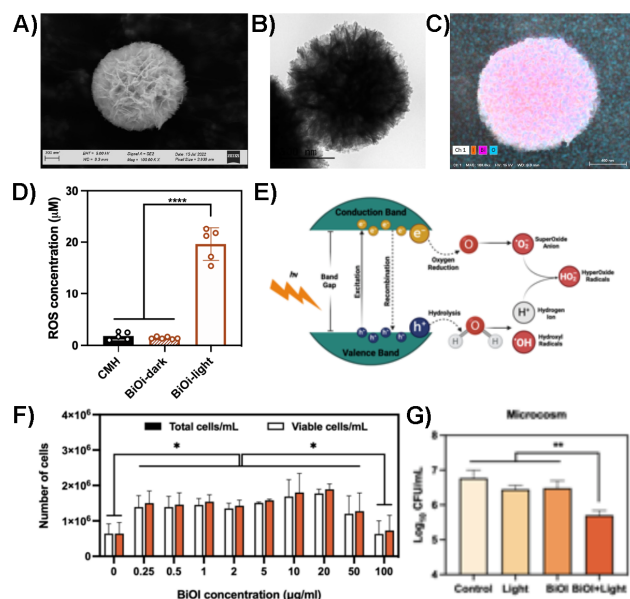


Figura 2 – Morfologia das microesferas de oxiiodeto de bismuto por A) microscopia eletrônica de varredura e B) microscopia eletrônica de transmissão. C) Composição química por espectroscopia de energia dispersiva. D) Concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs) liberada após irradiação. E) Desenho esquemático do mecanismo de fotocatalise para geração de EROs. F) Citotoxicidade das microesferas em células MC3T3-E1 avaliada por citometria de fluxo. G) Unidades formadoras de colônia ($\text{Log}_{10}\text{UFC/mL}$) das microesferas após formação de biofilme polimicrobiano.

A terapia fotodinâmica com BiOI mostrou eficácia contra diferentes tipos de biofilme, incluindo bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos e biofilmes polimicrobianos, demonstrando seu amplo espectro de ação. A irradiação induziu a liberação de EROs, promovendo a destruição da parede celular e de estruturas internas dos micro-organismos, como evidenciado por microscopia. A ação antimicrobiana foi corroborada pela redução significativa das unidades formadoras de colônia ($p<0,05$) (Figura 2G), demonstrando o potencial do sistema como alternativa terapêutica

localizada para o controle de infecções peri-implantares.

A partir dos resultados promissores obtidos com as microesferas de BiOI, estas foram incorporadas ao hidrogel de GelMA, escolhido por sua alta biocompatibilidade, capacidade de fotoreticulação e estrutura porosa tridimensional, que favorece a adesão celular e pode auxiliar na regeneração óssea em defeitos peri-implantares (Chalard et al., 2022).

A incorporação das microesferas ao GelMA foi realizada com sucesso, resultando em uma formulação homogênea, sem interferência nas propriedades de injetabilidade ou na capacidade de reticulação sob luz azul. A fotoreticulação ocorreu de forma eficiente após 30 segundos de exposição à luz (420–480 nm; 1600 mW/cm^2), consolidando o gel de maneira uniforme e estável (Figura 3).

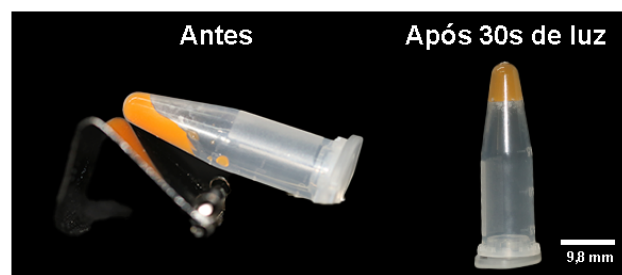


Figura 3 – Aspecto visual do hidrogel de GelMA contendo microesferas de BiOI antes (solução líquida) e após fotoreticulação com luz azul por 30 segundos, evidenciando a transição de estado fluido para gel sólido.

As amostras de hidrogel contendo BiOI demonstraram atividade fotocatalítica significativa ($p<0,05$), observada pela degradação do corante alaranjado de metila sob luz visível. A redução da concentração do corante foi atribuída à geração de EROs durante a irradiação, confirmando que as propriedades fotocatalíticas das microesferas foram preservadas mesmo após sua incorporação ao

hidrogel ($p < 0,05$). Esses achados reforçam o potencial do sistema GelMA-BiOI como uma plataforma funcional para aplicação em terapias fotoativadas no contexto das doenças periimplantares.

Além da atividade fotocatalítica, as formulações de GelMA-BiOI também apresentaram ação antimicrobiana, com redução na viabilidade microbiana em biofilme polimicrobiano, especialmente quando associadas à irradiação com luz visível ($p < 0,05$). Paralelamente, os ensaios de citocompatibilidade demonstraram que as amostras não induziram efeitos tóxicos em células MC3T3-E1, mantendo a viabilidade celular ($p > 0,05$).

CONCLUSÕES:

As microesferas de BiOI foram sintetizadas com sucesso e incorporadas a um hidrogel de GelMA, resultando em um sistema injetável, fotoreticulável e biocompatível. As formulações GelMA-BiOI apresentaram atividade fotocatalítica, ação antibacteriana e citocompatibilidade. Além disso, trata-se de um sistema inteligente, cuja ativação antimicrobiana pode ser controlada sob demanda por meio da aplicação de luz, permitindo o uso localizado apenas quando necessário e reduzindo o risco de desenvolvimento de resistência microbiana. Dessa forma, o sistema desenvolvido representa uma estratégia terapêutica multifuncional promissora para o tratamento localizado de doenças peri-implantares, com potencial adicional para favorecer a regeneração de tecidos comprometidos.

BIBLIOGRAFIA

ARUMUGAM M. & CHOI M.Y. Recent progress on bismuth oxyiodide (BiOI) photocatalyst for environmental remediation. **J Indust Eng Chem**, v. 81, p. 237–268, 2020.

CHALARD A.E., DIXON A.W., TABERNER A.J., et al. Visible-Light Stiffness Patterning of GelMA Hydrogels Towards In Vitro Scar Tissue Models. **Front Cell Dev Biol**, v. 10, 946754, 2022.

LIU J., LI H., DU N., et al. Synthesis, characterization, and visible-light photocatalytic activity of BiOI hierarchical flower-like microspheres. **RSC Adv**, v. 4, p. 31393–31399, 2014.

MOMBELLI A., MULLER N. & CIONCA N. The epidemiology of peri-implantitis. **Clin Oral Implants Res**, v. 23, p. 67–76, 2012.

NAGAY B.E., MALHEIROS S.S., BORGES M.H.R., et al. Progress in visible-light-activated photocatalytic coatings to combat implant-related infections: From mechanistic to translational roadmap. **Bioact Mater**, v. 51, p. 83–137, 2025.

ZHOU B., JIANG X., ZHOU X., et al. GelMA-based bioactive hydrogel scaffolds with multiple bone defect repair functions: therapeutic strategies and recent advances. **Biomater Res**, v. 27, p. 86, 2023.