

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/05/2026.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Luan Viana Faria

**Desenvolvimento e caracterização de novas superfícies de titânio modificadas
com estrôncio e cálcio**

Araraquara

2024



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Luan Viana Faria

**Desenvolvimento e caracterização de novas superfícies de titânio modificadas
com estrôncio e cálcio**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

Araraquara

2024

F224d Faria, Luan Viana
Desenvolvimento e caracterização de novas superfícies de
titânio modificadas com estrôncio e cálcio / Luan Viana Faria. --
Araraquara, 2024
61 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientador: Joni Augusto Cirelli

1. Implantes Dentários. 2. Estrôncio. 3. Cálcio. 4.
Osteogênese. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara.
Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Luan Viana Faria

**Desenvolvimento e caracterização de novas superfícies de titânio modificadas
com estrôncio e cálcio**

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli

2º Examinador: Prof. Dra. Daniela Leal Zandin-Barcelos

3º Examinador: Prof. Dr. Pedro Paulo Chaves de Souza

Araraquara, 27 de maio de 2024.

DADOS CURRICULARES

Luan Viana Faria

NASCIMENTO: 13 de maio de 1999. Alegre, Espírito Santo, Brasil.

FILIAÇÃO: Luciano Carvalho Faria e Silvania Tebas Viana Faria

2005-2012: Ensino Básico e Fundamental pela Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio “Oscar de Almeida Gama”, Alegre, Espírito Santo, Brasil.

2013-2015: Ensino Médio pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES) – Campus de Alegre, Alegre, Espírito Santo, Brasil.

2013-2015: Curso Técnico Profissionalizante em Agropecuária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo (IFES) – Campus de Alegre, Alegre, Espírito Santo, Brasil.

2016-2021: Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

2022-2024: Mestrado em Odontologia (Área de Periodontia) pela Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr-UNESP), Araraquara, São Paulo, Brasil.

2023: Mestrado sanduíche pela Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, Renânia-Palatinado, Alemanha.

2024-atual: MBA em Data Science e Analytics, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo – USP/Esalq, Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Com profunda gratidão e reconhecimento, dedico este trabalho aos meus amados pais, Luciano e Silvânia, cuja incansável dedicação como produtores rurais no interior do Espírito Santo, enfrentando os rigores do sol e da chuva todos os dias, nunca mediram esforços para eu alcançasse grande voos e atingisse este marco acadêmico. Também, desejo estender esta dedicação a todos os estudantes das áreas rurais, cuja perseverança diária na busca por uma educação de excelência reflete não apenas a esperança de um futuro promissor, mas também a concretização de sonhos que transcendem o tangível. Que este trabalho possa, de alguma forma, contribuir para o avanço desse nobre propósito comum e incentivar estes outros jovens que almejam um futuro melhor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, guiando meus passos e me permitido concretizar os mais intrínsecos sonhos. À Nossa Senhora de Fátima, minha padroeira, que está sempre intercedendo por mim.

A minha família, em especial meus pais Luciano e Silvânia, e minha irmã Luana, pelo apoio incondicional e esforços que permitiram chegar até aqui e estar cursando esta pós-graduação. Aos meus avós paternos e maternos, e demais familiares, obrigado pela torcida e apoio contínuo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, por toda bondade, paciência, presença, aconselhamento assertivos e pelo estímulo permanente, que muito contribuíram para aumentar o desafio e melhorar a profundidade e a clareza da investigação. Obrigado pelos ensinamentos e por todo zelo e carinho desde o meu primeiro contato. O senhor é minha inspiração profissional, a quem tenho profundo respeito e admiração.

À Extremus Smart Surface (São Carlos-SP, Brasil), na pessoa do Dr. Diego Pedreira de Oliveira, pesquisador e responsável técnico, por ter performado os tratamentos de superfícies e colaborado na realização deste trabalho.

À
FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2022/08006-7, Bolsa de Mestrado; Processo nº 2023/07424-2, Bolsa Estágio em Pesquisa no Exterior), pelo apoio e suporte financeiro para condução desta pesquisa.

Ao DAAD - Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico (ID 57391253) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo n. 431157/2018-9) pelos subsídios financeiros.

À CAPES:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À equipe de pesquisa vinculada a este projeto, em especial a Doutoranda Maria Eduarda Lopes, por todos ensinamentos e apoio na condução dos ensaios biológicos.

Ao Prof. Dr. James Deschner e a Dra. Andressa Vilas Boas Nogueira do Centro Médico Universitário da Universidade Johannes Gutenberg de Mainz - Universitätsmedizin Mainz, pela oportunidade ímpar de ter realizado o estágio no

exterior e ter aprendido com vocês. A querida Antonietta Valentino, sempre tão gentil e solícita, obrigado por toda a ajuda e convívio neste período de internacionalização.

Aos professores Dr. Fernando Santos da Silva e Dr. Cecílio Sadao Fugivara e pelo auxílio na condução dos ensaios de corrosão.

À Central Multiusuário de Análises Ambientais da ESALQ/USP por terem realizado as leituras de ICP-OES.

Ao laboratório de Microscopia Eletrônica de Alta Resolução do Instituto de Química – Campus de Araraquara/UNESP, nas pessoas do gestor Prof. Dr. Marcelo O. Orlandi e do Pós-graduando Rafael A. da Silva pelo treinamento e acesso ao Microscópio Eletrônico de Alta Resolução (MEV-FEG).

Ao Laboratório de Materiais Magnéticos e Coloides do Instituto de Química - Campus de Araraquara/UNESP nas pessoas de seu coordenador Prof. Rodrigo Fernando Costa Marques e do Pós-graduando Rodolfo Piazza pelo auxílio na condução do ensaio de molhabilidade.

Ao Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) pela condução dos ensaios de Microscopia de Força Atômica.

Ao Prof. Dr. Luis Geraldo Vaz pelo acesso ao Laboratório de Ensaios Mecânicos da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

A Profa. Dra. Eliane Trovatti pelo auxílio e colaboração na elaboração dos revestimentos poliméricos.

Ao Prof. Dr. Eduardo Maffud Cilli pelo auxílio e parceria para realização dos ensaios de cromatografia.

À professora Dra. Raquel M. S. Caminaga por ter cedido acesso ao laboratório de Cultura Celular para realização de experimentos biológicos.

Às professoras Dra. Morgana Stabili e Dra. Lívia Dovigo por terem aceitado o convite de participar da minha banca de qualificação e pelas considerações oportunas dadas a este trabalho.

Aos meus colegas de pós-graduação pelo valioso convívio, amparo e constante motivação. Faço menção especial aos meus estimados amigos Catarina, François e Milena, cuja presença se tornou imprescindível, constituindo-se como minha segunda família e principal rede de apoio durante minha estada em Araraquara. Minha gratidão também aos amigos de Juiz de Fora, meus queridos “historiadores”, pela contínua

parceria e estímulo ao longo destes anos, mesmo diante da distância física que nos separa.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia na pessoa de seu coordenador Prof. Dr. Paulo S. Cerri e à Faculdade de Odontologia de Araraquara, professores, técnicos e demais funcionários pelo ambiente acolhedor e bom convívio. Aos professores do Programa de Pós-graduação, especialmente aos do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, pela excelente formação que me proporcionaram. À Profa. Dra. Livia Dovigo pela oportunidade de realização dos meus estágios de docência na área de estatística.

Aos membros da minha banca de defesa, Profa. Dra. Daniela Leal Zandim-Barcelos, Prof. Dr. Pedro Paulo Chaves de Souza, Profa. Dra. Érica Dorigatti de Avila e Prof. Dr. Rogério Margonar por terem aceitado o convite. Obrigado pela oportunidade de ler e contribuir com esse trabalho.

E a todos que direta e indiretamente tem colaborado para a realização desse trabalho e no meu caminho da pós-graduação.

"It does not do to dwell on dreams and forget to live."
Albus Dumbledore*

*ROWLING, J. K. Harry Potter and the Philosopher's Stone. Rio de Janeiro: Editora Rocco, 2000. 263p.

Faria LV. Desenvolvimento e caracterização de novas superfícies de titânio modificadas com estrôncio e cálcio [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

O desenvolvimento de superfícies de implantes com capacidade de modular o *turnover* ósseo em direção à osteogênese para alcançar rapidamente uma osseointegração rígida e duradoura é necessário para melhorar ainda mais a taxa de sucesso clínico das cirurgias de implantes, prolongar sua vida útil e estender sua aplicabilidade em situações clínicas desafiadoras. Neste contexto, implantes carregados com Cálcio (Ca) e Estrôncio (Sr) podem apresentar potencial osteogênico e trazer resultados promissores. Neste estudo, foram avaliados os efeitos da adição de Sr e a combinação de Sr e Ca em superfície micronanotopográfica de titânio comercialmente puro. Para incorporação destes elementos, os revestimentos foram aplicados em condições hidrotérmicas. Células pré-ostoblásticas da linhagem MC3T3-E1 foram utilizadas para avaliação da biocompatibilidade e do comportamento biológico das superfícies em um modelo *in vitro*. Foram avaliados adesão, espreadimento e morfologia celular por fluorescência direta e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); viabilidade celular por Alamar Blue®, atividade da enzima fosfatase alcalina, expressão gênica de marcadores osteogênicos por RT-qPCR e expressão proteica de marcadores osteogênicos por Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA). Ensaios de (MEV), Espectroscopia de raios X de energia dispersiva (EDS); microscopia de força atômica (MFA); molhabilidade; perfil de liberação de Sr e Ca, resistência à corrosão e estabilidade eletroquímica também foram realizados na caracterização das superfícies. O nível de significância adotado nas análises estatísticas foi de 5%. Os resultados demonstraram que o tratamento hidrotérmico é efetivo na incorporação dos elementos em uma superfície micronanotopográfica, mantendo uma liberação dos íons controlada por mais de 21 dias. Ensaios eletroquímicos evidenciaram benefício do tratamento hidrotermal com a dopagem dos elementos no aumento da resistência à corrosão. Os resultados biológicos indicaram que implantes com capacidade osteogênica carregados com Ca e Sr podem trazer resultados promissores, melhorando os marcadores ósseos de osteogênese e osseointegração. Os grupos tratados com Sr e Sr/Ca potencializaram os resultados da superfície comercial micronanotopográfica. Não foram observadas grandes diferenças entre os grupos dopados, sugerindo que a incorporação de Sr sozinha é suficiente para impulsionar eventos relacionados à osteogênese e à osseointegração em um modelo *in vitro*.

Palavras chave: Implantes Dentários. Estrôncio. Cálcio. Osteogênese.

Faria LV. Development and characterization of new titanium surfaces modified with strontium and calcium [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

The development of implant surfaces with the ability to modulate bone turnover towards osteogenesis in order to rapidly achieve rigid and long-lasting osseointegration are needed further to improve the clinical success rate of implant surgeries, prolong implant life and, extend their applicability in challenging clinical situations. In this context, implants loaded with Calcium (Ca) and Strontium (Sr) may have osteogenic potential and bring promising results. This study aims to evaluate the effect of adding Sr and the combination of Sr and Ca to the micronanotopographic surface of commercially pure titanium. To incorporate these elements, the coatings were applied under hydrothermal conditions. Pre-osteoblastic cells of the MC3T3-E1 strain were used to evaluate the biocompatibility and biological behavior of the surfaces in an in vitro model. Cell adhesion, spreading, and morphology were evaluated by direct fluorescence and Scanning Electron Microscopy (SEM); cell viability with Alamar Blue®, alkaline phosphatase enzyme activity, gene expression of osteogenic markers by RT-qPCR and protein expression of osteogenic markers by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). SEM, energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS), atomic force microscopy (AFM), wettability, Sr and Ca release profile, corrosion resistance, and electrochemical stability tests were also carried out to characterize the surfaces. The level of significance adopted in the statistical analysis was 5%. The results show that hydrothermal treatment is effective in incorporating the elements into a micronanotopographic surface, maintaining a controlled release of ions for more than 21 days. Electrochemical tests show the benefit of hydrothermal treatment with element doping in increasing corrosion resistance. The biological results indicate that implants with osteogenic capacity loaded with Ca and Sr can bring promising results, improving bone markers of osteogenesis and osseointegration. The groups treated with Sr and Sr/Ca enhanced the results of the commercial micronanotopographic surface. No major differences were observed between the doped groups, suggesting that the incorporation of Sr alone is sufficient to boost events related to osteogenesis and osseointegration in an in vitro model.

Keywords: Dental implants. Strontium. Calcium. Osteogenesis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	18
2.1 Objetivos Específicos	18
3 PUBLICAÇÃO	20
3.1 Publicação 1	20
4 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE A	56

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os implantes dentários tornaram-se um método amplamente popular para substituir dentes perdidos em pacientes parcial e totalmente desdentados¹⁻². A osseointegração, que pode ser definida como o processo na qual ocorre a formação de uma interface direta entre um implante e o osso, sem interposição de tecidos moles ao nível da microscopia óptica é um dos pontos chave para o sucesso da reabilitação com implantes³.

Embora outros materiais sejam encontrados na fabricação de implantes dentários, como cerâmicas ou polímeros, o titânio (Ti) ainda é o material considerado padrão-ouro de escolha e o mais utilizado, uma vez que suas propriedades atendem aos requisitos mais importantes, como excelente biocompatibilidade, resistência à corrosão, boa conformabilidade, usinabilidade, alta resistência e módulo de elasticidade relativamente baixo⁴⁻⁶.

Apesar das altas taxas de sobrevivência e do sucesso geral dos implantes dentários, é conhecido que certas condições locais e sistêmicas podem levar à falha desses implantes. Situações clínicas desfavoráveis como como baixo torque de inserção (devido à má qualidade óssea, falta de habilidade cirúrgica ou perfuração imprecisa), doenças peri-implantares, tabagismo, diabetes e o uso de bifosfonatos são reportados como facilitadores de falha de implantes dentários. Deste modo, o desenvolvimento de superfícies com a capacidade de modular a osseointegração é uma alternativa para superar essa limitação⁷. Assim, essas superfícies visam acelerar o processo para alcançar rapidamente uma osseointegração rígida e duradoura a fim de melhorar ainda mais a taxa de sucesso clínico das cirurgias de implantes, prolongar a vida útil, e estender sua aplicabilidade especialmente em pacientes com comprometimentos sistêmicos que resultam em osso de má qualidade⁸⁻¹⁰. Por exemplo, aqueles com diabetes mellitus e osteoporose, comprovadamente propensos a apresentarem dificuldades e falhas no processo de osseointegração, além de maior risco de infecção^{11,12}.

O tratamento suplementar com medicamentos também pode ajudar a melhorar a capacidade de ligação óssea dos implantes nestas condições. Embora a administração sistêmica de medicamentos juntamente com a colocação de implantes seja uma abordagem convencional, os efeitos colaterais, como toxicidade sistêmica,

benefícios a curto prazo e inconveniência ao paciente, limitam seu uso. Em contraste com estes, a terapia localizada é geralmente desprovida dessas limitações¹³⁻¹⁵. Por este motivo, nas últimas décadas, o foco tem sido colocado na entrega específica ao osso de agentes farmacêuticos e biológicos ativos, através de tratamentos de superfície^{4,9,13}.

Estas modificações superficiais podem ser feitas através de diversas técnicas, nas quais se destacam os métodos mecânicos, químicos, eletroquímicos e de adição de camadas^{13,16}. Estes tratamentos podem melhorar a osseointegração e prevenir a formação de uma cápsula de tecido fibroso ao redor do implante que impede a fixação biomecânica adequada, levando ao insucesso clínico^{5,6,13}. Diferentes modificações de superfície e concepção de diferentes revestimentos físico-químicos e bioativos foram propostas, visando melhorar a taxa de sucesso de implantação e atender às necessidades de aplicações clínicas^{6,9,13,15,16}. Está bem consolidado que as modificações da superfície alteram as propriedades físico-químicas, desde a morfologia, molhabilidade e rugosidade, bem como podem conferir novas propriedades, como ação antibacteriana e interação com o ambiente celular^{9,15,16}. O ataque químico em soluções ácidas e alcalinas é uma das estratégias contemporâneas de modificação de superfície, e constitui-se como um método simples, eficiente e de baixo custo que permite a formação de nanoestruturas nas superfícies do titânio e suas ligas, a depender dos parâmetros utilizados, tais como concentração dos reagentes, tempo de imersão e temperatura. Em condições hidrotérmicas (de altas temperaturas e pressão), esses ataques provaram-se como uma alternativa simples, de baixo custo e viável na incorporação de elementos bioativos, tais como estrôncio e cálcio, em superfícies de titânio¹⁸⁻²⁰.

A cascata de eventos biológicos na interface osso/implante é intrinsecamente condicionada por diversas destas características superficiais, tais como topografia, molhabilidade, carga e composição química. Esses atributos exercem uma influência considerável nas interações osteogênicas dos implantes de titânio^{21,22}. No âmbito das características superficiais, destaca-se a topografia em escala micrométrica, que mimetiza os tecidos ósseos e demonstra a capacidade de potencializar a mineralização óssea nas superfícies implantáveis²³. Nos últimos anos, contudo, observa-se um crescente interesse nas características superficiais em escala nanométrica, visando aprimorar a bioatividade dos implantes. Essa interação específica pode ser atribuída às dimensões em nanoescala dos constituintes ósseos,

tais como fibrilas de colágeno, receptores celulares, filopódios e DNA²⁴. Nesse contexto, as características superficiais em nanoescala devem ser cuidadosamente projetadas para otimizar as interações celulares osteogênicas. No contexto específico de implantes de titânio, evidências indicam que as nano características exercem uma influência substancial na adesão celular, disseminação, diferenciação e mineralização óssea^{25,26}.

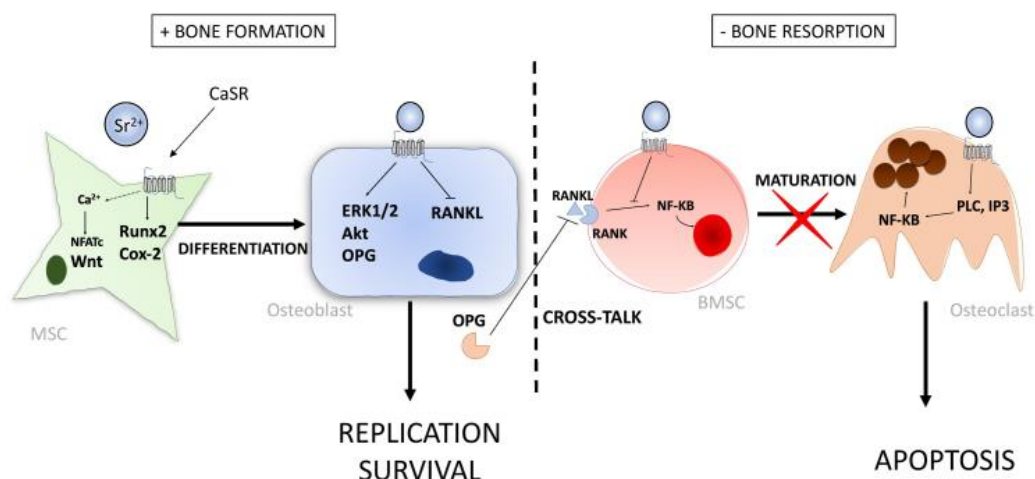
A interação entre a superfície do implante e o osso é influenciada por diversos fatores, tais como a proporção da área de contato direto, a taxa de crescimento do osso adjacente e a qualidade da ligação mecânica entre o implante e o osso. Uma estrutura de micro superfície desempenha um papel significativo no aumento da síntese da matriz extracelular por células aderentes, resultando em uma integração mais responsiva e confiável com o osso em comparação com as superfícies usinadas convencionais^{6,9}. Deste modo, a alteração da superfície de implantes endósseos de titânio em uma escala micro-nano topográfica pode ser sinergicamente combinada com a modificação química da superfície, com o objetivo de aprimorar o processo inicial de osseointegração⁶. Nesta tentativa, beneficiando-se da função osteogênica, elementos como o Cálcio (Ca) e Estrôncio (Sr) já foram incorporados às superfícies de implantes através de diferentes técnicas, incluindo o método hidrotermal^{19,20,27,28} buscando superar os desafios da osseointegração precoce.

Atualmente, o Ca é utilizado na síntese e aplicação de diversos biomateriais²⁹⁻³¹. Ao revestir superfícies de titânio com uma camada de fosfato de cálcio, grandes melhorias foram alcançadas na osteocondutividade dos implantes^{32,33}. Porém, embora os revestimentos de fosfato de cálcio melhorem a osteocondutividade dos implantes, eles não os tornam osseointegrativos. Por outro lado, propriedades osteoindutoras podem ser conferidas a eles pela introdução de um fator de crescimento osteogênico no sistema³².

Do mesmo modo, efeitos benéficos na osseointegração já foram observados com uso do estrôncio³⁴. O estrôncio é um metal alcalino terroso incorporado na fase mineral do osso, dado sua semelhança com o cálcio³⁵. É justamente essa semelhança que explica os principais mecanismos celulares e físico-químicos relacionados ao seu efeito, conforme ilustrado na figura 1. A ativação do receptor sensor do cálcio (CaSR) é um dos pontos-chaves deste processo. Marx et al. (2020) discutem as múltiplas vias intracelulares osteogênicas a qual o estrôncio pode atuar, que incluem ativação e fosforilação de Runx2, ativação da via da ciclooxygenase-2 (COX-2), da via Akt (que

promove a sobrevivência ao inibir a apoptose em osteoblastos), além de atuar na sinalização Cn-NFATc, que por sua vez também promove a expressão dos genes da via Wnt³⁴.

Figura 1 – Efeitos do Sr no metabolismo ósseo



Principais mecanismos celulares do Sr relacionados ao aumento da função dos osteoblastos e inibição da função dos osteoclastos ligados ao *Ca-sensing receptor* (CaSR) a partir de achados *in vitro*.

Fonte: Marx et al.³, p. 3.

No passado, o estrôncio já foi utilizado no tratamento da osteoporose, na forma de ranelato de estrôncio (RanSr)^{36,37}. Entretanto, o tratamento sistêmico com estrôncio está associado à ocorrência de alguns efeitos adversos, tais como diarreia, cefaleia, náusea e hipersensibilidade cutânea³⁸, tendo o RanSr sido descontinuado como medicamento anti-osteoporótico desde 2017³⁴. Frente às tentativas de entrega locais de Sr, a aplicação direta do estrôncio em superfícies do titânio, gerou bons resultados no aumento da formação óssea, osseointegração e cicatrização óssea na interface osso-implante, em maior grau do que superfícies de titânio livres de Sr^{14,18,27}.

Devido aos impactos positivos do Sr no metabolismo ósseo^{35,36}, muitos métodos têm sido aplicados para incorporar íons de Sr em superfícies de titânio visando melhorar a capacidade de osteogênese, como deposição eletroquímica³⁹, oxidação de microarco⁴⁰, processo sol-gel⁴¹ e magnétron sputtering^{42,43}. Apesar dessa variedade de metodologias, algumas desvantagens e deficiências nas modificações acima mencionadas podem ser elencadas, tais como tecnologia complicada, alto custo, baixa eficiência e baixa resistência de ligação entre o revestimento e o substrato de titânio⁴⁴. De face a essas limitações, o tratamento hidrotérmico é um método

conveniente e barato que pode preparar estruturas em nanoescala em superfícies de titânio^{16,18,27,28}. Nosso grupo relatou uma superfície de titânio-15-molibdênio e de Ticp incorporadas com estrôncio por tratamento hidrotérmico em estudos anteriores^{45,46} e confirmou seu grande potencial osteogênico através de estudos *in vitro* e *in vivo*.

Da mesma forma, a implantação de íons Ca em superfícies de titânio já foi amplamente estudada, e muitas técnicas de produção de revestimentos, filmes e camadas de ortofosfatos de cálcio já foram inventadas e continuamente investigadas para melhorar as propriedades superficiais de vários tipos de implantes artificiais^{33,47}. Dentro dessa variedade de abordagens, o tratamento hidrotérmico também foi previamente documentado como um meio para dopar as superfícies com cálcio^{19,48}. Diante desse contexto, é plausível considerar que, ao aproveitar os benefícios associados aos dois elementos no contexto do metabolismo ósseo, a presença e liberação simultânea desses dois elementos durante as fases iniciais do processo de osseointegração possam resultar em vantagens aprimoradas.

Um estudo anterior investigou superfícies de Ti nanoestruturado com Ca incorporado e Ti nanoestruturado com Sr incorporado, obtidas a partir de um tratamento hidrotérmico, e observou que ambas as superfícies exercem um efeito benéfico definitivo na indução de polarização regenerativa de macrófagos M2. Como resultados, os autores observaram que a química de íons bioativos regula a forma celular de macrófagos aderentes e muda drasticamente o fenótipo de macrófagos do M1 inflamatório para o M2 de cicatrização tecidual²⁵.

Apesar de numerosos relatos na literatura já terem demonstrado os efeitos positivos da incorporação de Ca e Sr em superfícies de titânio, poucos estudos se dedicaram a avaliar o efeito da combinação destes dois elementos combinados. Um recente estudo relatou aumento da biocompatibilidade e da diferenciação osteogênica de scaffolds de Ti6Al4V revestidos com Estrôncio e Fosfato de Cálcio (Sr-CaP)⁴⁹, e outro descreveu melhora da biocompatibilidade e osteogênese de revestimento de fosfato dopado com estrôncio produzido pela tecnologia de fusão seletiva a laser (SLM), bem como oxidação por microarco (MAO) e tratamento com ar-plasma⁵⁰. Até onde sabemos, é inédito a combinação de Ca e Sr através do método hidrotermal em superfícies de Ti visando implantes odontológicos. Ademais, ainda é necessário avaliar e aprofundar o entendimento da influência dessas diferentes superfícies no comportamento celular, por meio da análise da expressão e produção de marcadores osteogênicos, respectivamente a nível transcricional e proteico.

Para a concepção de um novo material de implantes dentais, uma série de requisitos precisam ser cumpridos, incluindo biofuncionalidade, biocompatibilidade, relevância e eficácia clínica^{4,15,51}. Assim, uma das primeiras etapas de pesquisa para a avaliação de um novo material são os ensaios *in vitro*.

4 CONCLUSÃO

Considerando o potencial da atividade biológica de íons Sr e Ca no tecido ósseo peri-implantar, o presente estudo investigou as características físicas, químicas, eletroquímicas e biológicas de superfícies micro-nanoestruturadas de titânio incorporadas com Sr ou Sr e Ca por tratamento hidrotérmico. Os resultados das caracterizações da superfície indicaram que o tratamento hidrotérmico incorporou de maneira conveniente e eficaz o Sr e Ca na superfície micro-nanotopográfica de titânio puro, sem alterar as características originais da superfície, bem como melhorar a resistência à corrosão dos substratos. As análises biológicas sugerem que as superfícies carregadas com Sr e Sr/Ca podem trazer resultados promissores, melhorando os marcadores ósseos de osteogênese e osseointegração em níveis transcricional e traducional, bem como a formação de nódulos de mineralização. Os grupos tratados com Sr e Sr/Ca potencializaram a superfície comercial nanotopográfica. Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos Sr e Sr/Ca, sugerindo que a incorporação de Sr sozinho é suficiente para impulsionar eventos relacionados à osteogênese e à osseointegração.

REFERÊNCIAS*

1. Elani HW, Starr JR, Da Silva JD, Gallucci GO. Trends in Dental Implant Use in the U.S., 1999-2016, and Projections to 2026. *J Dent Res*. 2018; 97(13): 1424-1430.
2. Buser D, Sennerby L, De Bruyn H. Modern implant dentistry based on osseointegration: 50 years of progress, current trends and open questions. *Periodontol 2000*. 2017; 73(1): 7-21.
3. Albrektsson T, Brånemark PI, Hansson HA, Lindström J. Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand*. 1981; 52(2): 155-70.
4. Sidambe AT. Biocompatibility of advanced manufactured titanium implants - a review. *Materials (Basel)*. 2014; 7(12): 8168-88.
5. Saini M, Singh Y, Arora P, Arora V, Jain K. Implant biomaterials: a comprehensive review. *World J Clin Cases*. 2015; 3(1): 52-7
6. Silva RCS, Agrelli A, Andrade AN, Mendes-Marques CL, Arruda IRS, Santos LRL et al. Titanium dental implants: an overview of applied nanobiotechnology to improve biocompatibility and prevent infections. *Materials (Basel)*. 2022; 15(9): 3150.
7. Xu Z, Lu H, Lu J, Lv C, Zhao X, Wang G. Enhanced osteogenic activity of Ti alloy implants by modulating strontium configuration in their surface oxide layers. *RSC Adv*. 2018; 8(6): 3051-60.
8. Yang BC, Zhou XD, Yu HY, Wu Y, Bao CY, Man Y et al. [Advances in titanium dental implant surface modification]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2019; 37(2): 124-9. Chinese.
9. Chrcanovic BR, Albrektsson T, Wennerberg A. Reasons for failures of oral implants. *J Oral Rehabil*. 2014; 41(6): 443-76.
10. Dang Y, Zhang L, Song W, Chang B, Han T, Zhang Y et al. In vivo osseointegration of Ti implants with a strontium-containing nanotubular coating. *Int J Nanomedicine*. 2016; 11: 1003-11.
11. Coelho PG, Pippenger B, Tovar N, Koopmans SJ, Plana NM, Graves DT et al. Effect of obesity or metabolic syndrome and diabetes on osseointegration of dental implants in a miniature swine model: a pilot study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2018; 76(8): 1677-87.
12. Chandran S, John A. Osseointegration of osteoporotic bone implants: role of stem cells, silica and strontium - a concise review. *J Clin Orthop Trauma*. 2019; 10(Suppl 1): S32-S6.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

13. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater.* 2007; 23(7): 844-54.
14. Offermanns V, Andersen OZ, Riede G, Sillassen M, Jeppesen CS, Almtoft KP et al. Effect of strontium surface-functionalized implants on early and late osseointegration: a histological, spectrometric and tomographic evaluation. *Acta Biomater.* 2018; 69: 385-94.
15. Barik A, Chakravorty N. Targeted drug delivery from titanium implants: a review of challenges and approaches. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1251: 1-17.
16. Kurup A, Dhattrak P, Khasnis N. Surface modification techniques of titanium and titanium alloys for biomedical dental applications: a review. *Mater. Today Proc.* 2021; 39: 84–90.
17. Lin G, Zhou C, Lin M, Xu A, He F. Strontium-incorporated titanium implant surface treated by hydrothermal reactions promotes early bone osseointegration in osteoporotic rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2019; 30(8): 777-90.
18. Nakagawa M, Zhang L, Udoh K, Matsuya S, Ishikawa K. Effects of hydrothermal treatment with CaCl₂ solution on surface property and cell response of titanium implants. *J Mater Sci Mater Med* 2005; 16: 985–991.
19. Zhang L, Ayukawa Y, Legeros RZ, Matsuya S, Koyano K, Ishikawa K. Tissue-response to calcium-bonded titanium surface. *J Biomed Mater Res A.* 2010; 95(1): 33-9.
20. Hadady H, Alam A, Khurana I, Mutreja I, Kumar D, Shankar MR, et al. Optimizing alkaline hydrothermal treatment for biomimetic smart metallic orthopedic and dental implants. *J Mater Sci Mater Med.* 2024; 35(1): 31.
21. Tanaka M, Izumiya M, Haniu H, Ueda K, Ma C, Ueshiba K et al. Current methods in the study of nanomaterials for bone regeneration. *Nanomaterials (Basel).* 2022; 12(7): 1195.
22. Mendonça G, Mendonça DB, Aragão FJ, Cooper LF. Advancing dental implant surface technology--from micron- to nanotopography. *Biomaterials.* 2008 Oct;29(28):3822-35.
23. Davies JE. Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials.* 2007; 28(34): 5058-67.
24. Gittens RA, McLachlan T, Olivares-Navarrete R, Cai Y, Berner S, Tannenbaum R et al. The effects of combined micron-/submicron-scale surface roughness and nanoscale features on cell proliferation and differentiation. *Biomaterials.* 2011; 32(13): 3395-403.
25. Lee CH, Kim YJ, Jang JH, Park JW. Modulating macrophage polarization with divalent cations in nanostructured titanium implant surfaces. *Nanotechnology.* 2016; 27(8): 085101.

26. Das S, Gurav S, Soni V, Ingle A, Mohanty BS, Chaudhari P et al. Osteogenic nanofibrous coated titanium implant results in enhanced osseointegration: in vivo preliminary study in a rabbit model. *Tissue Eng Regen Med*. 2018; 15(2): 231-47.
27. Xu Y, Zhang L, Xu J, Li J, Wang H, He F. Strontium-incorporated titanium implant surfaces treated by hydrothermal treatment enhance rapid osseointegration in diabetes: a preclinical vivo experimental study. *Clin Oral Implants Res*. 2021; 32(11): 1366-83.
28. Moloodi A, Toraby H, Kahrobaee S, Razavi MK, Salehi A. Evaluation of fluorohydroxyapatite/strontium coating on titanium implants fabricated by hydrothermal treatment. *Prog Biomater*. 2021; 10(3): 185-194.
29. Alhamdi JR, Peng T, Al-Naggar IM, Hawley KL, Spiller KL, Kuhn LT. Controlled M1-to-M2 transition of aged macrophages by calcium phosphate coatings. *Biomaterials*. 2019; 196: 90-9.
30. Mokabber T, Cao HT, Norouzi N, van Rijn P, Pei YT. Antimicrobial electrodeposited silver-containing calcium phosphate coatings. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2020; 12(5): 5531-5541.
31. Zhao DW, Zuo KQ, Wang K, Sun ZY, Lu YP, Cheng L et al. Interleukin-4 assisted calcium-strontium-zinc-phosphate coating induces controllable macrophage polarization and promotes osseointegration on titanium implant. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021; 118: 111512.
32. Sunarso, Toita R, Tsuru K, Ishikawa K. Immobilization of calcium and phosphate ions improves the osteoconductivity of titanium implants. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016; 68: 291-98.
33. Su Y, Cockerill I, Zheng Y, Tang L, Qin YX, Zhu D. Biofunctionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings. *Bioact Mater*. 2019; 4: 196-206.
34. Marx D, Rahimnejad Yazdi A, Papini M, Towler M. A review of the latest insights into the mechanism of action of strontium in bone. *Bone Rep*. 2020; 12: 100273.
35. Dahl SG, Allain P, Marie PJ, Mauras Y, Boivin G, Ammann P et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone*. 2001; 28(4): 446-53.
36. Vestermark MT. Strontium in the bone-implant interface. *Dan Med Bull*. 2011; 58(5): B4286.
37. Scardueli CR, Bizelli-Silveira C, Marcantonio RAC, Marcantonio E Jr, Stavropoulos A, Spin-Neto R. Systemic administration of strontium ranelate to enhance the osseointegration of implants: systematic review of animal studies. *Int J Implant Dent*. 2018; 4(1): 21.

38. Rizzoli R, Reginster JY, Boonen S, Breart G, Diez-Perez A, Felsenberg D et al. Adverse reactions and drug-drug interactions in the management of women with postmenopausal osteoporosis. *Calcified tissue international*. 2011; 89(2): 91-104.
39. Liang Y, Li H, Xu J, Li X, Qi M, Hu M. Morphology, composition, and bioactivity of strontium-doped brushite coatings deposited on titanium implants via electrochemical deposition. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(6): 9952-62.
40. Liu W, Cheng M, Wahafu T, Zhao Y, Qin H, Wang J et al. The in vitro and in vivo performance of a strontium-containing coating on the low-modulus Ti35Nb2Ta3Zr alloy formed by micro-arc oxidation. *J Mater Sci Mater Med*. 2015; 26(7): 203.
41. Romero-Gavilán F, Araújo-Gomes N, García-Arnáez I, Martínez-Ramos C, Elortza F, Azkargorta M et al. The effect of strontium incorporation into sol-gel biomaterials on their protein adsorption and cell interactions. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019; 174: 9-16.
42. Liu F, Li Y, Liang J, Sui W, Bellare A, Kong L. Effects of micro/nano strontium-loaded surface implants on osseointegration in ovariectomized sheep. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019; 21(2): 377-385.
43. Jiang H, Zhou W, Wang B, Tang L. The effect of strontium modified rough titanium surface on biologic response of MC3T3-E1 cells. *Dent Mater J*. 2020; 39(5): 808-14.
44. Jemat A, Ghazali MJ, Razali M, Otsuka Y. Surface modifications and their effects on titanium dental implants. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 791725
45. Matos FG, Santana LCL, Cominotte MA, da Silva FS, Vaz LG, de Oliveira DP et al. Strontium-loaded titanium-15molybdenum surface improves physicochemical and biological properties *in vitro*. *Biomed Phys Eng Express*. 2022; 8(4): 045007.
46. Costa Filho PM, Marcantonio CC, Oliveira DP, Scordamaia MEL, Puetate JCS, Faria LV et al. Titanium micro-nano texturized surface with strontium incorporation improves osseointegration: an in vivo and in vitro study. [Preprint]. 2024 [acesso em 2024 Mar 15]. Disponível em: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3725951/v1>
47. Dorozhkin SV. Calcium orthophosphate coatings, films and layers. *Prog Biomater*. 2012; 1(1): 1.
48. Hamad K, Kon M, Hanawa T, Yokoyama K, Miyamoto Y, Asaoka K. Hydrothermal modification of titanium surface in calcium solutions. *Biomaterials*. 2002; 23(10): 2265-72.
49. Su S, Chen W, Zheng M, Lu G, Tang W, Huang H et al. Facile fabrication of 3D-printed porous Ti6Al4V scaffolds with a Sr-CaP coating for bone regeneration. *ACS Omega*. 2022; 7(10): 8391-8402.
50. Xing H, Li R, Wei Y, Ying B, Li D, Qin Y. Improved osteogenesis of selective-laser-melted titanium alloy by coating strontium-doped phosphate with high-efficiency air-plasma treatment. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020; 8: 367.

51. Tobin EJ. Recent coating developments for combination devices in orthopedic and dental applications: A literature review. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017; 112: 88-100.