

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-Sn-Nb COM Mg E SEU POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO NA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA**

MARIANA CORREA ROSSI

**Botucatu
Março de 2021**

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-Sn-Nb COM Mg E SEU POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO NA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA**

MARIANA CORREA ROSSI

Tese apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia Animal para obtenção do
Título de Doutor
Orientadora: Ana Liz Garcia Alves
Co-orientadora: Margarida Juri Saeki

**Botucatu
Março de 2021**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Rossi, Mariana Correa.

Caracterização da liga Ti-Sn-Nb com Mg e seu potencial biotecnológico na consolidação óssea / Mariana Correa Rossi. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Ana Liz Garcia Alves
Coorientador: Margarida Juri Saeki
Capes: 31302017

1. Biomateriais - Toxicidade. 2. Implantes ortopédicos. 3. Microestrutura. 4. Tecido ósseo. 5. Biotecnologia animal.

Palavras-chave: Arcabouço; Biomateriais; Liga de Ti-Sn-Nb; Metalurgia do pó; Microestrutura.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MARIANA CORREA ROSSI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL, DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 01 dias do mês de março do ano de 2021, às 09:00 horas, no(a) na forma de Parecer Circunstanciado, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de MARIANA CORREA ROSSI, intitulada **CARACTERIZAÇÃO DA LIGA Ti-Sn-Nb COM Mg E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO NA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. ANA LIZ GARCIA ALVES (Orientador(a) - Participação por Parecer Circunstanciado) do(a) Depto. de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal / FMVZ - UNESP, Profa. Dra. SHEILA CANEVESE RAHAL (Participação por Parecer Circunstanciado) do(a) Depto. de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal / FMVZ - UNESP, Prof^{fa}. Dr^a. CARLA DOS SANTOS RICCARDI (Participação por Parecer Circunstanciado) do(a) Depto. de Bioprocessos e Biotecnologia / FCA - UNESP, Prof. Dr. LUIS GALLEGU MARTINEZ (Participação por Parecer Circunstanciado) do(a) Centro de Ciencia e Tecnologia de Materiais / IPEN, Prof. Dr. HIDETOSHI TAKIISHI (Participação por Parecer Circunstanciado) do(a) Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais / IPEN. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: **APROVADA** . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Profa. Dra. ANA LIZ GARCIA ALVES

Aos meus pais por todo apoio e por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e minha irmã, por todo o apoio durante a minha caminhada no meio científico.

Aos meus colegas de graduação e pós-graduação pela contribuição científica e também pela amizade durante esta trajetória.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica de Botucatu e aos técnicos pelo auxílio durante as análises realizadas.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Liz Garcia Alves e co-orientadora Prof^a Dr^a Margarida Juri Saeki por toda a confiança, ensinamentos e oportunidade de trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT-SP), especialmente ao técnico Israel, pela atenção, paciência durante os dias de trabalho.

Ao pesquisador do IPT-SP Daniel Leal Bayerlein, pela parceria firmada durante o doutorado e pelos ensinamentos.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-SP) e especialmente ao Prof. Dr. Luis Gallego Martinez pela contribuição com os refinamentos estruturais apresentados neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Vicente Amigó Borrás pelos ensinamentos e toda contribuição na finalização deste trabalho durante o meu estágio na Universidade Politécnica de Valência.

Aos membros da banca pela contribuição neste trabalho.

À da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

À FAPESP pela concessão da bolsa (Processo 2017/13876-2), e pela BEPE concedida no final do curso do doutorado (Processo 2019/24237-6).

SUMÁRIO

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Lista de figuras.....	v
Lista de tabelas.....	vi
Resumo.....	vii
Abstract.....	viii
CAPÍTULO 1.....	1
ESTRUTURA DA TESE.....	1
CAPÍTULO 2.....	3
1 INTRODUÇÃO.....	3
REVISÃO DE LITERATURA.....	6
CAPÍTULO 3.....	40
1. Introdução.....	41
2. Procedimento Experimental.....	42
3. Resultados e Discussão.....	45
4. Conclusão.....	59
Agradecimentos.....	60
Referências.....	60
CAPÍTULO 4.....	66
1. Introdução.....	67
2. Materiais e Métodos.....	69
3. Resultados e Discussão.....	73
4. Conclusão.....	87
Agradecimentos.....	88
Referências.....	88
CAPÍTULO 5.....	96
1. Introdução.....	97
2. Materiais e Métodos.....	99
3. Resultados e Discussão.....	101
4. Conclusão.....	115
Agradecimentos.....	115
Referências.....	115
CAPÍTULO 6.....	121
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	121
CAPÍTULO 7.....	123
SUGESTÕES PARA POSSÍVEIS TRABALHOS FUTUROS.....	123

REFERÊNCIAS.....	124
Anexo 1.....	136
Anexo 2.....	136
Anexo 3.....	138

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1– Esquema do diagrama da curva tensão x deformação.....	15
Figura 2– Diagrama de fase do sistema Ti-Nb	34
Figura 3– Efeito dos elementos estabilizadores de fase em Ti e ligas de Ti	37
Figura 4– Diagrama de fase do sistema Sn-Ti.....	38

CAPÍTULO 3

Figura 1– Processo de sinterização de Ti-34Nb-6Sn	42
Figura 2–Morfologia do tamanho de partícula dos pós Ti-H, NbH, Sn e Mg por MEV.....	46
Figura 3 – Análise por EDX da distribuição dos elementos após moagem.....	48
Figura 4 – Padrão de DRX dos pós.....	49
Figura 5 – Padrão de DRX após sinterização.....	50
Figura 6 – Composição de fases por DRX e refinamento estrutural.....	51
Figura 7 – MEV dos materiais sinterizados.....	52
Figura 8 – Mapeamento dos elementos por EDX após sinterização.....	54
Figura 9 – Avaliação da porosidade por MEV.....	56
Figura 10 – Viabilidade celular das BMMSCs.....	58
Figura 11– MEV das BMMSCs aderidas às amostras após 72h.....	59

CAPÍTULO 4

Figura 1 – Homogeneização do tamanho das partículas pós moagem.....	70
Figura 2 – Padrão de DRX de TNS e TNS/M.....	74
Figura 3 – Distribuição dos poros formados avaliados por MO após sinterização.....	77
Figura 4 – Avaliação por MEV e EDX dos poros formados.....	77
Figura 5 – Rugosidade por MC da superfície dos poros.....	78
Figura 6 –Comportamento de corrosão em solução Hanks.....	83
Figura 7 – MEV das BMMSCs após 72 horas.....	85
Figura 8 –Ensaio de “ <i>Wound healing</i> ” das BMMSCs com meio condicionado.....	86
Figura 9 – Diferenciação osteogênica por contato indireto com TNS e TNS/M.....	87

CAPÍTULO 5

Figura 1 – Padrão de DRX dos materiais nas diferentes condições.....	102
Figura 2 – Distribuição dos poros MO.....	105
Figura 3 – MEV-EC dos materiais sinterizados.....	106

Figura 4 – Distribuição das fases por MO por diferença de contraste	106
Figura 5 – Tensão compressiva versus deformação da liga.....	108
Figura 6 – MEV-EC da fratura típica do sinterizado após ensaio de compressão.....	109
Figura 7 – Comportamento da liberação dos íons Ti, Nb e Sn em solução de Fusayama.....	111
Figura 8 –Comportamento da corrosão eletroquímica na solução de Fusayama.....	114

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 –Características químicas e físicas dos elementos Nb e Sn.....	5
---	---

CAPÍTULO 3

Tabela 1 – Análise composicional por EDX dos pós após moagem.....	48
Tabela 2 – Análise composicional por EDX dos materiais sinterizados.....	52
Tabela 3 – Análise composicional por EDX, das regiões de diferentes contrastes	53
Tabela 4 – Porosidade dos materiais sinterizados por Arquimedes.....	56
Tabela 5 – Análise de dureza Vickers.....	57

CAPÍTULO 4

Tabela 1 –Tamanho de partícula e circularidade antes e após moagem.....	70
Tabela 2 – Fatores de qualidade para refinamento Rietveld, % das fases e parâmetros de rede.....	75
Tabela 3 – Porosidade e densidade total por Arquimedes.....	77
Tabela 4 – Rugosidade das amostras pelo parâmetro rms.....	78
Tabela 5 – Dureza Vickers.....	80
Tabela 6 – Parâmetros cinéticos obtidos a partir da curva potenciodinâmica em solução Hanks.....	83

CAPÍTULO 5

Tabela 1 – Porcentagem de fases e fator de qualidade do refinamento estrutural de Rietveld.....	102
Tabela 2 – Parâmetros geométricos por Arquimedes em diferentes condições.....	104
Tabela 3 – Parâmetros mecânicos obtidos das curvas compressivas.....	109
Tabela 4 – Íons Ti, Nb e Sn liberados, contrastados com a composição nominal da liga.....	111
Tabela 5 – Parâmetros cinéticos obtidos da curva potenciodinâmica.....	113

ROSSI, M. C. Caracterização da liga Ti-Sn-Nb com Mg e seu potencial biotecnológico na consolidação óssea. Botucatu, 2021, 151p. Defesa de Doutorado, UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, SP.

RESUMO

A maioria dos materiais metálicos comercializados apresentam determinadas inconveniências, como toxicidade e módulo elástico distante com a do tecido ósseo. Estas características promovem diminuição da longevidade destes dispositivos quando implantados e podem levar a distúrbios respiratórios e neurológicos dependendo dos componentes presentes. Dessa maneira, materiais que utilizem elementos como Nb (estabilizador β) e Sn (elemento neutro), em ligas de titânio são estudados a fim de se conseguir características mais adequadas, pelo aumento da fase β e diminuição do módulo elástico. O objetivo foi a obtenção da liga de Ti-34Nb-6Sn, pela metalurgia do pó, e suas caracterizações físicas, químicas, mecânicas e biológicas. No processo foi adicionado um espaçador, Mg, a fim de conferir porosidade à liga. Foram realizadas sinterizações a 700°C, 800°C e 900°C. A caracterização física foi feita por difratometria de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise composicional semi-quantitativa por energia dispersiva de raios X (EDX) e análise da molhabilidade por medidas dinâmicas de ângulo de contato. As características mecânicas como o módulo elástico, resistência a compressão e dureza de Vickers foram estudadas. A susceptibilidade à corrosão foi estudada pelo método eletroquímico em solução HANK e Fusayama que simula o fluido corpóreo e saliva. Nos ensaios biológicos, foram utilizadas as células tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (MOCTMs) de eqüinos. Foram realizadas análises de citotoxicidade com os corpos de prova, bem como as análises do potencial de migração e diferenciação celular. Na presença de Nb e Sn, o material se torna mais rico em fase β à medida que se aumenta a temperatura de sinterização. Com o Mg, observou-se maior resistência a transformação alotrópica $\alpha \rightarrow \beta$, obtendo-se materiais com menor teor em fase β que aquele sem Mg. A porosidade foi maior para os materiais com Mg, assim como a molhabilidade superficial. O módulo elástico e a dureza foram menores para os materiais com Mg e quanto menor a temperatura de sinterização, mais próximos são do tecido ósseo. Já a resistência mecânica foi maior para a liga sem Mg. A liga sinterizada com Mg à 800°C se mostrou mais resistente a corrosão comparada com a liga sem Mg. Ambos os materiais apresentaram boa biocompatibilidade, quando em contato com as MOCTMs, com capacidade de adesão na superfície e no interior dos poros. Além disso, as MOCTMs apresentaram processo de diferenciação osteogênica acentuada quando alimentada com o meio condicionado com a liga, possivelmente pela liberação de Mg no meio de cultivo. Após 24 horas, pelo ensaio de migração celular, as células que tiveram contato com a liga com Mg apresentaram um processo direcional significativo de migração comparado com o grupo controle.

Palavras-chave: Arcabouço; Biomateriais; Liga de Ti-Nb-Sn; Metalurgia do pó; Microestrutura.

ROSSI, M. C. Characterization of the Ti-Sn-Nb alloy with Mg and its biotechnological potential in bone healing. Botucatu, 2021, 151p. Defesa de Doutorado, UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, SP.

ABSTRACT

Most of the commercialized metallic materials have certain inconveniences, such as toxicity and discrepant elastic modulus compared to bone tissue. These characteristics promote a decrease in the longevity of them when implanted and can lead to respiratory and neurological disorders depending on the components present. In this way, materials that use elements such as Nb (stabilizer β) and Sn (neutral element), in titanium alloys are studied in order to achieve more appropriate characteristics, by increasing the β phase and decreasing the elastic modulus. The objective was to obtain the Ti-34Nb-6Sn alloy, by powder metallurgy, and its physical, chemical, mechanical and biological characterizations. In the process, a spacer, Mg, was added in order to impart porosity to the alloy. Sintering was carried out at 700°C, 800°C and 900°C. The physical characterization was made by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), semi-quantitative compositional analysis by X-ray dispersive energy (EDS) and analysis of wettability by dynamic contact angle measurements. The mechanical characteristics such as the elastic modulus, compressive strength and Vickers hardness were studied. The corrosion susceptibility was studied by the electrochemical method in HANK and Fusayama solution that simulates the body fluid and saliva. In biological assays, bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMMSCs) from horses were used. Cytotoxicity analyzes were performed with the specimens, as well as analyzes of the potential for cell migration and differentiation. In the presence of Nb and Sn, the material becomes richer in the β phase as the sintering temperature increases. With Mg, greater resistance to $\alpha \rightarrow \beta$ allotropic transformation was observed, obtaining materials with lower β phase content than that without Mg. The porosity was higher for the materials with Mg, as well as the surface wettability. The elastic modulus and hardness were lower for the materials with Mg and the lower the sintering temperature and closer to bone tissue. The mechanical strength was higher for the alloy without Mg. The alloy sintered with Mg at 800°C was more resistant to corrosion compared to the alloy without Mg. Both materials showed good biocompatibility when in contact with BMMSCs, with the ability to adhere to the surface and inside the pores. In addition, BMMSCs showed a marked osteogenic differentiation process when fed with the conditioned medium with the alloy, possibly due to the release of Mg in the culture medium. After 24 hours, through the cell migration test, cells that had contact with the alloy with Mg showed a significant directional migration process compared to the control group.

Keywords: Scaffold; Biomaterials; Ti-Nb-Sn alloy; Powder metallurgy; Microstructure

Estrutura da Tese

Esta tese será apresentada em formato de artigos científicos que foram desenvolvidos durante os anos de doutorado já publicado e/ou submetidos para publicação. Cada artigo está seguindo as normas da revista que foi enviado. Para clarificar a leitura deste trabalho, foi realizado um esboço neste capítulo explicando o objetivo principal de cada seção. Sendo assim:

O **capítulo 2** apresenta a importância do desenvolvimento de novas ligas de titânio para aplicação biomédica, bem como a melhoria de materiais já existentes. Foi discutido com base nas referências bibliográficas, os principais problemas que existem na atualidade para a busca e pesquisas de materiais metálicos aplicados a área médica que não possuem elementos tóxicos em sua constituição, a fim de se obter materiais com propriedades mecânicas mais próximas do tecido ósseo e a importância da presença de uma superfície rugosa e porosa a fim de melhorar o processo de osteointegração e consequente fixação mecânica.

O **capítulo 3** apresenta a preparação da liga Ti-34Nb-6Sn com e sem magnésio pela metalurgia do pó e avaliou a influência de duas temperaturas de sinterização (700 e 800°C) na obtenção dos corpos de prova porosos. Foi utilizado DRX, análise semi-composicional e avaliação da dureza a fim de avaliar a qualidade das amostras produzidas. Neste trabalho também foi avaliado a biocompatibilidade destes materiais quando em contato direto e indireto com a superfície dos corpos de provas.

O **capítulo 4** apresenta a caracterização mais detalhada dos corpos de prova obtidos a 800°C. Foi investigado a influência da porosidade e do magnésio na resistência ao processo de difusão dos elementos Nb e Sn, bem como a influência no módulo de elasticidade, resistência a corrosão e no processo de diferenciação osteogênica quando o meio de cultivo celular foi condicionado com estes corpos de prova e foi usado para tratar as MOCTMs.

O **capítulo 5** apresenta a influência da baixa pressão de compactação nas propriedades mecânicas, microestruturais e corrosivas da liga Ti-34Nb-6Sn. Para este trabalho, foi obtido corpos de prova sinterizados à 900°C por metalurgia do pó. A susceptibilidade a corrosão, bem como a liberação de íons foram estudadas em solução Fusayama, a qual apresenta a mesma composição iônica e pH que o fluido bucal.

No **capítulo 6** estão apresentados os principais resultados obtidos em cada artigo apresentado e também as principais conclusões e contribuições do desenvolvimento deste trabalho para a área acadêmica.

No **capítulo 7** está apresentado algumas perspectivas futuras para possíveis trabalhos dando seguimento deste trabalho.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a área da biotecnologia voltada para regeneração tecidual foi contemplada com novos conhecimentos, ao mesmo tempo em que a tecnologia permitiu o desenvolvimento de novos materiais a serem aplicados na área da saúde. A expectativa de vida da população, principalmente das populações urbanas, aumentou, porém, ao viver em locais de alta densidade demográfica, estão mais expostos a sofrerem lesões traumáticas (BERTHIAUME et al., 1996). Sabe-se que as principais causas que levam um órgão ou tecido a perder sua funcionalidade resumem-se no desgaste com o avançar da idade e às doenças ou lesões ocasionadas por acidentes (LAURENCIN et al., 1999). Assim, as principais opções de tratamentos disponíveis são: transplante de órgãos, uso de próteses, implantes, reparação cirúrgica e terapia com fármacos (VERMA e SINGH, 2014).

É de conhecimento que alguns tecidos, como o epitélio intestinal ou cutâneo, bem como tecidos caracterizados por alta taxa de renovação, como as células sanguíneas, apesar de serem freqüentemente expostos a tensão se regeneram rapidamente. No caso do tecido ósseo por exemplo, o processo de regeneração de uma fratura é um processo sequencial, em que células progenitoras, juntamente com células inflamatórias, endoteliais e hematopoiéticas atuam, promovendo o reparo deste tecido, através das fases de inflamação, produção óssea e remodelação óssea (SCHINDELER et al. 2008). Por isso, tecidos lesados por trauma, doença ou senescência podem ser eventualmente regenerados (LIEBSCHNER et al., 2005) se contarem com os conhecimentos de bioengenharia, aliada a outras áreas como a Física e a Química, que podem atuar de maneira a estimular tal característica. Por meio da fabricação de materiais biointeligentes (como implantes otimizados, promovendo a osteointegração ou a indução da diferenciação de células tronco para produção de células e tecido específicos) é possível restaurar órgãos lesados (ELISSEEFF et al., 2006).

As células tronco são um tipo especial de células que podem se diferenciar em células de vários tecidos e regenerá-los (ELISSEEFF et al., 2001; SANTOS, 2004; CARVALHO, 2009) e, ao se multiplicarem, mantêm a quantidade de células

indiferenciadas (LACERDA e MARTINS, 2007). Assim, a junção de terapia gênica e engenharia tecidual aplicada aos biomateriais apresentam excelente potencial para criar ambientes sintéticos para fornecer os sinais necessários na regeneração do tecido lesado (JANG et al., 2006). A biocompatibilidade dos materiais está diretamente associada ao comportamento das células em contato com um material e particularmente pela adesão em sua superfície (ANSELME, 2000). Sabe-se que, antes da década de 50, materiais metálicos, como tântalo, cromo, cobalto e aço inoxidável eram utilizados para serem implantados *in vivo* (VENABLE e STUCK 1943). Já na década de 60, ligas de titânio foram consideradas ideais para a reparação do tecido ósseo devido a sua combinação de propriedades como, resistência-peso, biocompatibilidade, boa resistência à corrosão, resistência à fadiga e baixo módulo de elasticidade (BOWERMAN e CONROY 1969; OKAZAKI et al., 1998). No entanto, é complexo fabricar um arcabouço de titânio individualizado, devido a sua estrutura complexa. Tem-se ainda que o módulo de elasticidade do titânio (ou suas ligas) é maior do que o do osso, embora seja menor do que de muitos outros metais. Com isso, o material acarreta a absorção óssea e, eventualmente, afrouxamento após a implantação *in vivo* (LEWIS et al., 1984).

Alterações da macroestrutura do titânio (uma estrutura porosa) tornam-se uma prática viável para diminuir seu módulo de elasticidade, sem alterar demasiadamente a sua composição, podendo assim preservar as propriedades de interesse (LIU et al., 2014; ABDEL et al., 2017).

Atualmente, os materiais para implantes ortopédicos mais utilizados, são Ti-6Al-4V e Co-Cr, os quais apresentam módulo de Young maior que 100 GPa (LONG e RACK, 1998), enquanto que o módulo do osso está entre 4 e 30 GPa, o que depende do tipo de osso e da direção da mensuração (CULLINANE, et al., 2002; GEETHA et al., 2009). Esta diferença entre o dos dispositivos de implante e dos tecidos ósseos provoca a reabsorção óssea, uma resposta para proteger-se da tensão (KROGER et al., 1998), o que leva ao afrouxamento dos dispositivos, tornando necessária a artroplastia total do quadril, fêmur e joelho, por exemplo, dependendo da região da implantação.

Para superar essa questão crítica, as ligas à base de Titânio e Nióbio (Ti-Nb) tem atraído atenção para aplicações biomédicas como por exemplo, Ti-13Nb-13Zr

(MISHRA, et al.,1993), Ti-35Nb-5Ta-7Zr (AHMED et al., 1995), Ti-29Nb-13Ta-4,6Zr (LI et al., 1998) e Ti-33,6Nb-4Sn (OZAKI et al., 2004). Estas ligas possuem baixos módulos de Young, entre 40 e 80 GPa. Entre eles, as ligas de Ti-Nb-Sn a qual apresenta baixa temperatura de fusão devido à presença de Sn, também tem propriedades atrativas, devido ao seu baixo módulo Young (MATSUMOTO et al., 2005; MATSUMOTO et al., 2007), alta resistência mecânica (MIURA et al., 2011) e boa biocompatibilidade. Estas características são atribuídas à microestrutura formada, devido ao uso dos elementos de liga juntamente com o processo de síntese, promovendo o aumento da fração da estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (ccc), sob fase β , sendo Nb e Sn elementos de liga qualificados como β -estabilizadores e elemento neutro. As características físicas e químicas destes dois elementos encontram-se detalhadas na Tabela 1 de acordo com LIDE, (2007). Exibe ainda, excelente forjabilidade (capacidade de um metal de experimentar deformação sem falha ou fissuras) sob uma elevada gama de temperaturas e oferecem a possibilidade de associar com elevada resistência à corrosão (SOUZA, 2008; (MATSUMOTO et al., 2006). Todas estas propriedades são alcançadas pela otimização das composições químicas e aos tratamentos termomecânicos (JUNG et al., 2013; NOURI,et al., 2016).

Tabela 1. Características químicas e físicas dos elementos Nb e Sn.

Elemento Químico	Nióbio (Nb)	Estanho (Sn)
Número atômico	41	50
Massa atômica	92,91 g.mol ⁻¹	118,69 g.mol ⁻¹
Densidade	8,4 g.cm ⁻³ a 20°C	5,77g.cm ⁻³ (α) e 7,3 g.cm ⁻³ a 20°C (β)
Ponto de fusão	2410 °C	232 °C
Estrutura cristalina	CCC	tetragonal
Parâmetro de rede	330,04 pm	a: 583,18 pm b: 583,18 pm c: 318,19 pm

Outra característica essencial para o sucesso a longo prazo destas ligas é a presença de poros, a fim que haja espaço para o crescimento do novo tecido ósseo. NAKAS e colaboradores (2011) sugerem uma porosidade entre 49-64% em volume

como adequada para o crescimento ósseo. Apesar de um número significativo de metais e ligas terem sido desenvolvidos com propriedades adequadas para aplicações biomédicas, o desenvolvimento de uma metodologia para a fabricação de arcações porosos que mimetizam a arquitetura e as propriedades mecânicas do osso natural é igualmente de grande importância (OKULOV et al., 2017; SEYED et al., 2015). A estrutura porosa constitui arcação necessário para que as células ósseas cresçam nos poros e se integrem com o tecido hospedeiro (GEETHA et al., 2009). A porosidade também auxilia na diminuição do módulo de elasticidade, e assim pode-se minimizar ou eliminar o problema de proteção contra estresse (VAMSI et al., 2007).

Uma das técnicas de fabricação mais simples de liga porosa é a metalurgia do pó (MP). Esta técnica apresenta baixo custo de produção, permite melhor controle do tamanho dos pó durante o processo de moagem e também é possível introduzir porosidade. Em se tratando de tamanho de poros bem como sua morfologia, estes estão relacionados com o tamanho do pó de partida, sua forma e também com o tamanho e a configuração do espaçador caso seja utilizado para promover porosidade. Os espaçadores mais convencionais são a carbamida, cloreto de sódio, bicarbonato de amônio e magnésio (ARIFVIANTO e ZHOU, 2014; MANSOURIGHASRI et al., 2012; JHA et al., 2013). Dentre todos, o magnésio é um bom candidato na fabricação de arcações de Ti, pois a sua solubilidade em Ti é baixa. Além disso, o magnésio aumenta a osteocondutividade (STAIGER et al., 2006; YOSHIZAWA et al., 2015) e não apresenta nenhum tipo de inconveniências biomédicas, como toxicidade. No entanto, a produção de ligas metálicas de Ti, com poros utilizando o magnésio ainda é pouco explorada. Os principais trabalhos realizados utilizando magnésio são para ligas de Ti-Al-V (KALANTARI et al., 2015).

Para que haja uma excelente osteointegração entre o biomaterial e o tecido hospedeiro, deve-se respeitar todas as características já mencionadas de compatibilidade mecânica e biológica. Além disso, o dispositivo deve-se encontrar em perfeita harmonia com o seu ambiente. Para isso, podem ser utilizadas biomoléculas que melhoram essa harmonia. Entende-se por harmonia a integração do dispositivo com o tecido, sendo que um biomaterial poroso possibilita o carreamento de biomoléculas e células de interesse para sua superfície.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Um biomaterial é definido como uma substância ou mistura de substâncias que é produzida para substituir todo ou parte de um sistema complexo, assumindo função e/ou forma de um tecido ou de uma estrutura biológica, e permite o controle de interações com componentes de sistemas vivos, pós procedimentos cirúrgicos (PARK e LAKES, 2001).

Biomateriais voltados às aplicações ortopédicas são utilizados para restabelecer funcionalidade, incluindo mobilidade. Dentre os dispositivos ortopédicos estão os implantes reconstrutivos, produtos artroscópicos e produtos de reabilitação e estímulos elétricos. Estes biomateriais devem apresentar sólida fixação mecânica, por meio de estímulo da regeneração óssea, bem como estabilidade e resistência ao desgaste, principalmente para substituição de articulações. O mercado ortopédico norte americano movimentou 15,8 bilhões de dólares em 2016. No mesmo ano, 5,1 bilhões de dólares foram movimentados na Ásia (Global Market Reports, (2017)). No ano seguinte as vendas mundiais foram superiores a 24 bilhões de dólares, com uma expectativa de aumento de 7-9% ao ano. A venda global de dispositivos para fratura foi de 3,7 bilhões em 2007, porém para substituição de joelho e quadril foram cerca de 10 bilhões (NADIM e JOSHUA, 2012), sendo que deste montante, 5,8 bilhões se referem apenas aos implantes de joelho (NADIM e JOSHUA, 2012).

No Brasil, os dispositivos médicos são regularizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Em 2015, as cirurgias ortopédicas, tiveram um acréscimo de 72% (HUMMEL, 2016).

O valor global do mercado de dispositivos ortopédicos no mundo foi de 45,0 bilhões de dólares em 2020 (GLOBAL ORTHOPEDIC, 2020), que corresponde majoritariamente ao custo com dispositivos como placas, parafusos e fixadores externos, sendo a maioria usada para casos de traumas. O mercado para estes materiais era de 5,7 bilhões em 2013, com aumento da taxa de crescimento anual, de 7,2% em 2020 (GLOBAL MARKET, 2014). Alguns analistas do setor preveem que o mercado global de dispositivos ortopédicos registrará uma receita de mais de US\$ 44 bilhões até 2022 (ICROWD NEWSWIRE, 2020)

De acordo com Hochberg e colaboradores (HOCHBERG et al.,1996), 6% dos adultos acima dos 30 anos apresentam sintomas de osteoartrite nas articulações do

joelho, e 3% no quadril. A osteoartrite atinge aproximadamente 15% da população adulta mundial. É a principal causa da perda total ou parcial das articulações, uma enfermidade clínica progressiva que resulta na incapacidade funcional ou limitação devido a dores, fraquezas musculares, rigidez e redução da amplitude de movimento. O paciente que apresentar a perda total da articulação, terá deformação óssea pela fricção no contato osso-osso e quando o tratamento médico não for bem-sucedido, a artroplastia é indicada para substituir a articulação (HIROSE, FULLER e ROCHA, 1994; HOCHBERG et al., 1996). Esse procedimento é mais comumente realizado em pacientes entre 65 e 79 anos (INSALL et al., 1985).

Outro fator que contribui para o aumento na demanda de próteses e dispositivos ortopédicos são os acidentes de trânsito. Em 2002, quase um quarto das pessoas gravemente feridas requereu dispositivos devido a fraturas nos membros inferiores (WHO, 2002). A porcentagem dos acometimentos causados no trânsito, relacionados a fraturas foram: fratura de patela, tíbia e fíbula (7,8%), fratura de fêmur (7,5%), radio e ulna (5,5%), clavícula escápula e úmero (4,8%), fratura facial (3,3%), esterno e costela (3,2%), joelho (3,1%), vertebral e coluna (2,7%), pélvis (2,6%), fêmur (1,2%), mão e pé (4,1%) e crânio (2,3%) (WHO, 2002). A somatória chega a quase 50% dos pacientes de acidentes de trânsito. Fica evidente a necessidade do desenvolvimento de novas ligas de titânio para aplicação ortopédica.

Sabe-se que o tecido ósseo, diferentemente dos demais, apresenta capacidade de se regenerar e restaurar. No entanto, em um número significativo de casos, a regeneração pode não ocorrer, levando a uma cicatrização tardia e a não união do tecido fraturado (WINKLER et al., 2018). O tecido esquelético é composto pela medula óssea, perióstio, endóstio, tecidos vascular, muscular e nervoso, os quais participam do processo de cicatrização (BOSKEY et al., 2016). Além deles, as células como: eritrócitos, granulócitos, macrófagos, fibroblastos, fibrócitos, condroblasto, condrócitos, osteoblastos, osteócitos, osteoclastos, células tronco mesenquimais (CTMs), mastócitos, megacariócitos, células T e B, células endoteliais e hematopoiéticas também contribuem para o processo de cicatrização, regeneração e, por fim, conduzindo a osteointegração (ROCHEFORT, PALLU e BENHAMOU, 2010).

Juntamente com os tecidos, as células e as suas vias de sinalização governam o processo de cicatrização óssea, induzida ou iniciada pelo hematoma que ocorre

durante o processo de fratura. Em caso de inserção da prótese, a cicatrização é iniciada durante o processo cirúrgico. Em seguida, dispara-se a fase inflamatória pelas vias de sinalização pós hematoma que inicia o processo de cicatrização (MOUNTZIARIS et al., 2011; MARSELL e EINHORN, 2011). Em detalhe, a fase inicial abrange a liberação de sangue, ambiente de hipóxia com pH mais baixo, e concentração elevada de Na^+ e K^+ (CLAES, RECKNAGEL e IGNATIUS, 2012). No processo de cicatrização natural, os espaços do tecido fraturado são preenchidos por CTMs que por quimiotaxia atraem as demais células para iniciar o processo de cicatrização, juntamente com as citocinas (WANG, CHEN e CAO, 2014). No entanto, com o uso de um biomaterial, ele fornece o suporte para o preenchimento das CTMs e não mais o próprio osso, e iniciam-se as reações inflamatórias (GAO et al., 2017).

A etapa seguinte é a de formação de tecido de granulação. Primeiramente o hematoma amadurece em direção a um tecido de granulação, juntamente com os fibroblastos que são estimulados e sinalizados para seguir para esta região. Debris celulares são removidos pelos polimorfonucleares, e ocorre a revascularização. Em processo de cicatrização normal o tecido de granulação maduro serve como ponte para o próximo processo de cicatrização (RAHN, 2002). Neste ponto a Matriz Extra Celular (MEC) é estruturada, associada aos vasos recém-formados e a diferenciação osteogênica. A terceira etapa envolve a cicatrização óssea secundária que ocorre por um estágio cartilaginoso. Esta etapa fornece o suporte necessário para estabilidade mecânica e antecede a formação óssea (DIMITRIOU, TSIRIDIS e GIANNOUDIS, 2005). Nesta fase ainda não há a formação de tecido vascular e as únicas células presentes são os condrócitos e condroblastos. No processo natural os condrócitos expressam colágeno tipo II (Coll II), tornam-se hidrofóbicos e expressam colágeno tipo X (Coll X) e se transdiferenciam em osteoblastos (BAHNEY et al., 2014; Yang et al., 2014; ZHOU et al., 2014). No caso com a implantação do dispositivo inicia-se a revascularização e os condrócitos guiam a expressão de Coll X (EYRE, 2002) (POOLE, 2002). Na penúltima etapa, tem-se a formação do tecido ósseo que substitui a cartilagem e inicia-se o processo de mineralização, porém sem a necessidade de suporte mecânico. Neste ponto, osteoclastos, osteoblastos, células do sistema imune do sistema vascular e progenitoras (CTMs) que substituem as células únicas de composição da cartilagem são estimuladas para regerem suas funções, enquanto que

no processo natural os osteoblastos antecedem o depósito de colágeno tipo I (COL I) e mineralização pela MEC.

Já na implantação, ocorre o fornecimento de espaço para o crescimento do tecido ósseo, juntamente com o processo de osteocondução (JAYAKUMAR e SILVIO, 2010). Na etapa final, tem-se o rearranjo ósseo de acordo com os sinais mecânicos recebidos. A mineralização ocorre em uma área já vascularizada e a estabilidade mecânica é aqui readquirida.

Na ortopedia e odontologia os materiais metálicos são os dispositivos mais utilizados como próteses de longa a curta duração devido a suas características já bem estabelecidas de biocompatibilidade, boa resistência a corrosão e propriedades mecânicas (WALL et al., 2009; LAVENUS et al., 2010).

Um dos principais aspectos que leva ao bom aceite desse dispositivo é a interação biológica, imprescindível para que a interface seja suficientemente rígida e resistente, pré-requisitos para o sucesso a longo prazo (PULEO e NANCI., 1999; HEO et al., 2010; MANGANO et al., 2010). Para que esta interface osso-implante se integre de maneira adequada (osteointegração) há a necessidade que as células ósseas sejam diferenciadas, aderidas e se proliferem na superfície destes materiais (DAVIES, 1996). As características do próprio implante como microestrutura e morfologia (porosidade e rugosidade) podem influenciar na qualidade da integração (PULEO et al., 1991; DAMSKY, 1999).

Diversos trabalhos apresentaram fortes evidências de que a morfologia afeta significativamente a adesão, proliferação e diferenciação celular, via produção de fatores de crescimento (CONSERVA, LANUTI e MENINI, 2010; PULEO et al., 1991; KURELLA e DAHOTRE, 2005; ANSELME e BIGERELLE 2006; KIESWETTER et al., 1996). Em particular, as células osteoblásticas tendem a aderir rapidamente em superfícies ásperas e/ou mais rugosas (JAYARAMAN et al., 2004; SCHWARTZ et al., 1999). A diferenciação celular em superfícies rugosas é condicionada por parâmetros como morfologia celular, produção de MEC, atividade específica da fosfatase alcalina (FA), produção de osteocalcina (OC) e depósitos de cálcio na MEC (SCHWARTZ et al., 1999). A interação entre as células e a MEC é outro fator crítico que regula as funções celulares, como formato, migração, proliferação e sobrevivência das células (SANTANDER et al., 2012).

No entanto, antes dos osteoblastos, o primeiro contato celular é com as CTMs que, atraídas ao redor do biomaterial, promovem a sinalização de processos imunológicos e posteriormente diferenciam em osteoblastos os quais formarão o novo tecido (CAPLAN et al., 2006; CAPLAN, 2009; MARINUCCI et al., 2010). Em outras palavras, no ato cirúrgico, após a inserção da prótese, o crescimento local dos vasos sanguíneos permite o recrutamento de CTMs que migram para esta região cirúrgica.

As células então se proliferam e se diferenciam em osteoblastos maduros responsáveis pela deposição da matriz óssea. Este processo de proliferação e diferenciação é essencial para a perfeita integração com o implante. Sendo assim, a formação óssea ao redor do implante depende do nível de diferenciação das CTMs (DAVIES, 1996). Alguns autores corroboram a ideia de que as CTMs, além de estarem em uma localização estratégica durante o ato de inserção da prótese, são consideradas importantes na cicatrização das fraturas e no processo integrativo dos implantes mais do que os próprios osteoblastos pré-existentes (ALBREKTSSON e JOHANSSON, 2001). Dessa maneira, o estudo da interação de CTMs com biomateriais demonstra-se altamente relevante para aplicação ortopédica, em termos de seu potencial integrativo e de restauração funcional do tecido (MARTIN et al., 1995).

Santander e colaboradores (2014) relataram que a liga de titânio (Ti), alumínio (Al) e vanádio (V) (Ti-6Al-4V) modificadas superficialmente com microrugosidades e microporosidades provocadas pelo recobrimento com TiO_2 (óxido de titânio) e íons PO_3^{4-} e Ca^{2+} promoveram a proliferação celular comparado com materiais não modificados, após 28 dias. Os autores atribuíram o êxito da proliferação ao potencial osteogênico destes materiais, que promoveram a diferenciação das CTMs pelo aumento da expressão de marcadores da diferenciação osteogênica.

No trabalho desenvolvido por Naddeo e colaboradores (2015), avaliou-se a interação das células-tronco da polpa dentária com Ti. Esses implantes dentários receberam tratamento de superfície por jateamento com areia (rugosidade) e no outro, foi feita uma modificação de superfície recobrimo-se com TiO_2 e íon PO_4^{3-} para aumentar a rugosidade e microporosidade. Após 3 dias de cultivo das CTMs, as células cobriram praticamente toda a superfície dos materiais. Após 5 dias, havia maior concentração de núcleos, sugerindo maior atividade celular. Quanto à

proliferação celular, foi menor em relação ao controle após 24h, mas a diferença de proliferação foi menor após 48h. Esse comportamento provavelmente se deve à fase de adaptação das células do sistema de cultura 2D para o 3D. Os níveis de expressão de marcadores osteogênicos neste mesmo trabalho foram positivamente expressos por ambas as superfícies. Porém, as células sobre Ti jateado apresentaram um pico de expressão de Fosfatase Alcalina Óssea (FAO) aos 14 dias, enquanto que no Ti com recobrimento de TiO_2 e PO_4^{3-} a expressão foi encontrada somente no 21º dia.

De fato, a superfície de propagação é decisiva para orientar as atividades celulares, como adesão e migração (MARTÍNEZ et al., 2009). As células sentem agudamente a variabilidade do ambiente e se adaptam a ele (KIM et al., 2014). Muitos trabalhos dão ênfase à rugosidade para aumentar a adesão e proliferação celular (GRAZIANO et al., 2008).

Duvvuru e colaboradores (2019), modificaram a superfície de titânio com nanotubos (NTs) em titânio comercialmente puro (Ti-cp) e Ti-6Al-4V provendo uma superfície mais porosa e acompanharam o comportamento das CTMs da medula óssea em contato com esses materiais. As células aderiram adequadamente em ambos os materiais, independentemente da composição do metal e morfologia. No entanto, a incorporação com NTs no Ti-6Al-4V reduziu a proliferação de CTMs comparado com o Ti-6Al-4V controle, sugerindo que a incorporação de NTs pode fornecer eficácia terapêutica, a de promover a formação óssea (BANDYOPADHYAY et al., 2017) reprimindo o crescimento de CTMs. No entanto, o potencial osteogênico não foi afetado tanto para as células cultivadas sob Ti-cp como Ti-6Al-4V e não expressaram marcadores de diferenciação de osteoblastos, nem fosfatase alcalina-1 (FAC-1), colágeno A-1 (COLA-1) ou OC. Estudos anteriores relataram que os NTs acoplados a biomateriais metálicos servem de arcabouços e que aumentam a adsorção de proteínas e fixação de células osteoblásticas, o que melhora a bioatividade (EL-WASSEFY et al., 2014; LU et al., 2018).

Outro fator importante é a molhabilidade (propriedade de afinidade pela água, hidrofílico ou hidrofóbico). A rugosidade e a molhabilidade são fatores que influenciam na fixação celular (OH e JIN 2006; ERCAN et al., 2011). No trabalho de Zareidoost e colaboradores constatou-se que os NTs melhoraram a osteointegração e atribuíram-no ao aumento na rugosidade da superfície (ZAREIDOOST et al., 2012). Por outro

lado, os materiais acoplados com NTs apresentaram uma superfície mais hidrofílica. As células se mostraram mais ancoradas, o que pode estar relacionado ao aumento na hidrofilicidade (BELTRAÍN et al., 2017). De acordo com a literatura, superfícies altamente hidrofílicas aumentam a interação do material com as células e melhoram a bioatividade (BRAMMER et al., 2009; LI et al., 2015).

No trabalho de Blanco et al., (2011), compararam a atividade de CTMs em contato com arcabouços de Ti e Tântalo (Ta). As CTMs aderiram em ambos os materiais, ocupando as estruturas porosas, com formação de projeções citoplasmáticas para a ancoragem à estrutura porosa.

Gastaldi e colaboradores (2010) avaliaram a capacidade de diferenciação osteoblástica de CTMs derivadas de tecido adiposo cultivado sobre Ti poroso. As células aderiram à superfície metálica e foram capazes de se diferenciar em osteoblastos. Esse estudo corrobora a idéia de que arcabouços metálicos também podem servir como carreadores de CTMs para aplicação cirúrgica, a fim de potencializar os processos de cicatrização e osteointegração. Adicionalmente, HABIJAN et al., 2013, constataram que arcabouços de Níquel (Ni) e Ti (Ni-Ti) podem ser utilizados como carreadores de CTMs, devido a sua porosidade. Após 8 dias de cultivo, sobre os materiais, as superfícies e os poros estavam totalmente preenchidos pelas CTMs de origem humana. No entanto, foi detectada a liberação de partículas de Ni no sobrenadante. Sabe-se que alguns íons metálicos podem levar a efeitos adversos no corpo humano, como osteólise e afrouxamento do implante (KADOYA, KOBAYASHI e OHASHI, 1998). É de conhecimento que o elemento Ni apresenta características nocivas e que 20% das mulheres residentes na Europa são alérgicas a este elemento (CIOFFI et al., 2005).

No trabalho de Longa e colaboradores (2019), as CTMs humanas semeadas em diferentes superfícies (Ti-6Al-4V com micro, macro e nano rugosidades) adquiriram uma morfologia celular do tipo estrelada, típica de osteoblastos e osteócitos maduros, com uma taxa migratória mais rápida e diferenciação osteogênica melhorada. É uma demonstração de que a superfície do material é um fator chave que influencia os primeiros eventos (adesão, rápida migração e diferenciação aprimorada de CTMs em osteoblastos) após a implantação no paciente, e que pode definir o sucesso ou o insucesso do implante.

Um dos parâmetros importantes para materiais voltados para aplicação ortopédica é o módulo de elasticidade. Também conhecido como Módulo de Young, e dita quanto um material é rígido e quanto ele pode sofrer alterações em sua estrutura reversivelmente (deformações elásticas). É um dos parâmetros que pode definir a longevidade e qualidade de um biomaterial. Em relação ao tecido ósseo, sabe-se que o seu módulo de elasticidade está entre 0,5 a 20 GPa (osso cortical e trabecular) (GIBSON, 1985) e que a maioria das ligas comerciais apresentam valores discrepantes em relação a este. A principal inconveniência do elevado módulo de elasticidade dos biomateriais metálicos é que toda carga/tensão recebido pelo corpo é absorvida pelo implante e, dessa maneira, o tecido ósseo ao redor do implante não é estimulado pelas cargas recebidas ao longo do tempo. Com isso, o tecido é enfraquecido, criando uma espécie de osteoporose. Essa condição é denominada por “*Stress Shielding*” ou “Reabsorção óssea Adaptativa” (GEETHA et al., 2009; LI et al., 2014; NIINOMI, NAKAI e HIEDA, 2012). O tecido é blindado porque o biomaterial é mais rígido e dessa maneira ocorre o afrouxamento da prótese e fratura da mesma. Estes pacientes necessitam de uma nova cirurgia para retirada e reposição de uma nova prótese.

O módulo elástico pode ser determinado pela Lei de Hook, que é uma descrição de que quando as deformações são pequenas, ela é proporcional ao estresse, considerando o comportamento do sólido elástico e linear. A tensão de tração nominal, é então proporcional a tração estresse. Para tensão simples tem-se que

$$\sigma = E \cdot \varepsilon, (1)$$

onde E é denominado de Módulo de Young, dado em unidades de pressão, Pascal (N/m²), σ é a tensão aplicada, também dado em unidade de pressão, Pascal (N/m²) e ε é adimensional, é a deformação obtida. A mesma relação também é válida para tensões e deformações durante a compressão simples. Para o cálculo do Módulo de Young para metais, por serem materiais rígidos, é necessário que a deformação seja medida com muita precisão. Dessa maneira, para um sólido metálico, utiliza-se de extensômetros em suas extremidades, e o sinal elétrico é amplificado para se medir a deformação. Assim, o E é constante para cada metal ou liga metálica, e é determinado pelas forças de ligação entre seus átomos. Essas forças de ligação são constantes, mas podem ser alteradas por condições térmicas ou por adição de

elementos de liga, alterando suas estruturas (MÜNSTERMANN, FENG e BLECK, 2014). Matematicamente, a medida de E pode ser adquirida pela tangente da reta característica da zona elástica do diagrama carga x deformação. Visto que a zona elástica é a região aonde as deformações ocorridas não são permanentes, ou seja, obedecem a Lei de Hook, de acordo com Callister e William, (2012) representado pela figura 1. Dessa maneira, um dos métodos utilizados para a determinação do E, na área de materiais e metalurgia, é dado pela seguinte equação:

$$E = \frac{QL_0}{S_0\Delta L_0} \quad (2)$$

onde os valores de S_0 (área da secção transversal inicial do material) e L_0 (braço do extensômetro) são previamente conhecidos.

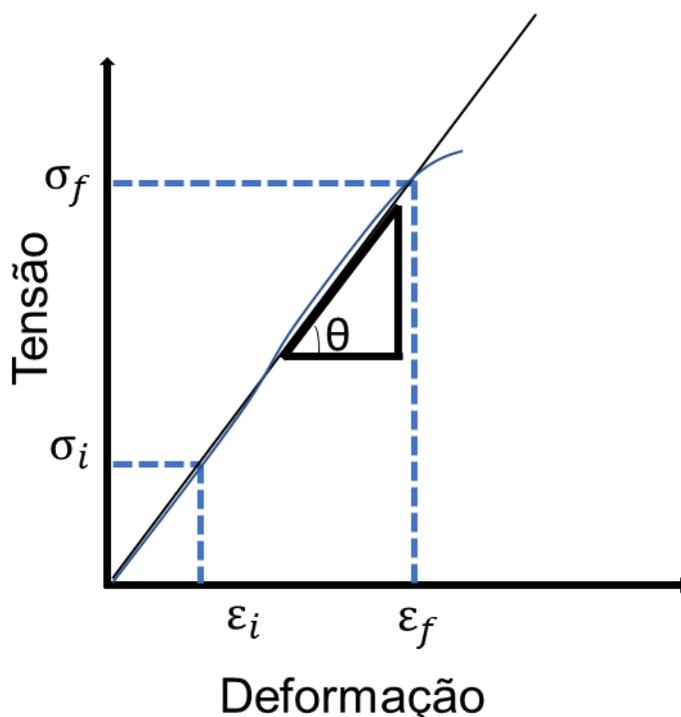


Figura 1. Esquema do diagrama da curva tensão x deformação.

Outra possibilidade para o cálculo de E é por métodos não destrutivos, diferentes dos utilizados na metalurgia, como o método de Excitação por Impulso. Nesse caso o material sofre um impacto de curta duração e responde com vibrações em suas frequências naturais de vibração de acordo com as condições de contorno impostas. Nessa técnica utiliza-se um pulsador, equipamento que aplica o impacto no material, a fim de gerar as ondas mecânicas, um transdutor, para a captação da

resposta acústica que irá transformá-la em sinal elétrico para que seja possível a leitura das frequências de ressonância (BREBELS e BOLLEN 2015; HERITAGE, FRISBY, e WOLFENDEN 1988; LIMA 2014; LOPES et al., 2000; PSIUK et al., 2016).

Estas duas técnicas são amplamente utilizadas por diversos pesquisadores. Porém, a primeira está consolidada há mais tempo de acordo com as normas técnicas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) e ASTM (*American Society for Testing and Materials*).

Em relação aos materiais já caracterizados e comercializados, tem-se o Ti-6Al-4V, com E em torno de 110GPa (NIINOMI, 2016); aço inoxidável 200GPa (PILLIAR, 1991; NIINOMI, 2003), ligas de cobalto (Co), cromo (Cr) e molibdênio (Mo) CoCrMo 200-230 GPa (NIINOMI, 2002), Ti-cp (grau II) 102 GPa (NIINOMI, 1998) , liga de Ti, Al e nióbio (Nb) Ti-6Al-7Nb 105GPa (BOYER, WELSCH e COLLINGS, 1994), Ti-5Al-2,5Fe 110GPa (ZWICKER, 1986), Ti-13Nb-13Zr 79GPa (DAVIDSON et al., 1994), Ti-15Mo-5Zr-3Al 80GPa (LONG e RACK, 1998), Ti-15Mo-3Nb 82GPa (LONG e RACK, 1998) e Ti-29Nb-13Ta-4,5Zr (KURODA et al., 1998; NIINOMI et al., 2002; NIINOMI et al., 2003). Percebe-se que os E das ligas citadas são muito maiores do que o tecido ósseo. Dessa maneira, a busca por biomateriais que apresentem características elásticas mais próximas é um grande desafio.

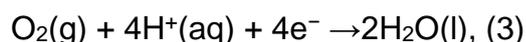
Como discutido anteriormente, o ambiente corporal, juntamente com as substâncias presentes nos fluidos, pode interferir na vida útil dos biomateriais metálicos. A fim de avaliar tal resistência, é imprescindível que estudos de corrosão dos materiais sejam realizados nestes ambientes, antes de sua aplicação.

Alguns materiais, como ligas metálicas constituídas dos elementos Ni, Co, Cr, V e Al são consideradas alergênicas, citotóxicas e até cancerígenas. Materiais constituídos com tais elementos podem ser liberados por processos de corrosão durante a vida do paciente. Além do potencial tóxico, a susceptibilidade à corrosão destes materiais pode levar ao afrouxamento do implante e, conseqüentemente, à falha (ELIAZ 2008; ELIAZ 2009; ELIAZ e KAMACHI 2003; BLACKWOOD 2003; KAMACHI et al., 2003; VIRTANEN, 2008; MANIVASAGAM, DHINASEKARAN e RAJAMANICKAM, 2010).

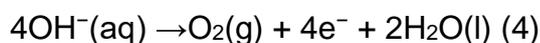
O processo de corrosão está intimamente ligado aos eletrólitos presentes nos fluidos corporais. Sabe-se que a água presente no corpo humano varia de 40% a 60% de sua massa total. Um dos locais em que a água pode ser encontrada em abundância no organismo é nos fluidos intra (no interior das células) e extracelulares (plasma, nos vasos sanguíneos). A distribuição dos fluidos e eletrólitos é mantida naturalmente através de processos metabólicos de equilíbrio denominado homeostase (ELIAZ, 2019).

Os eletrólitos, participantes do metabolismo, determinam os potenciais de membrana celular e osmolaridade dos fluidos. As principais espécies catiônicas são: hidrogênio (H^+), sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}). Já como ânions incluem íons hidróxido (OH^-), bicarbonato (HCO_3^-), cloreto (Cl^-), fosfato (PO_4^{3-}) e sulfato (SO_4^{2-}). Os íons dissolvidos nos fluidos são os componentes que mais influenciam no processo de corrosão dos biomateriais *in vivo*. Os íons Cl^- (e outros halogenetos) favorecem a corrosão de quase todos os metais e interferem em muitos processos de proteção contra corrosão (ELIAZ, 2019).

Além dos sais dissolvidos nos fluidos corporais, a temperatura e o pH são fatores importantes que também afetam a susceptibilidade à corrosão dos materiais. Os processos corrosivos podem ser melhor entendidos analisando-se as reações de redução de oxigênio (RRO), que ocorrem no ambiente *in vivo*. Em soluções neutras ou ácidas, a RRO pode ser descrita como:



enquanto que em solução alcalina seria,



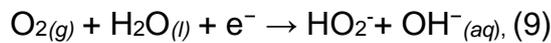
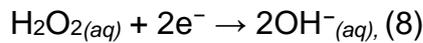
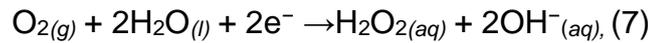
Em condições que não o padrão (Estado padrão: 25°C, P=1,0 atm, atividade de todas as espécies igual a 1 mol/L ou 1 atm no caso de espécies gasosas), o potencial termodinâmico da RRO em meio ácido ou neutro é dado pela equação de Nernst da seguinte maneira:

$$E_{RRO} = 1,229 + \frac{2,303RT}{4F} \log \frac{a_{O_2}}{a_{H^+}^4} \quad (5)$$

$$E_{\text{RRO}} = 1,229 + \frac{2,303RT}{4F} \log a_{\text{O}_2} - \frac{2,303RT}{F} \text{pH} \quad (6)$$

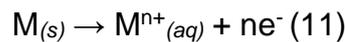
onde a_{O_2} e a_{H^+} representam as atividades do oxigênio e de H^+ , R é a constante dos gases, T a temperatura absoluta e F a constante de Faraday respectivamente.

Além das reações acima, outras reações possíveis de acontecer na superfície do implante estão descritas abaixo. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidróxidos ($\text{HO}\cdot$ e OH^-) são produtos da reação de redução parcial de oxigênio.



Estas espécies intermediárias (H_2O_2 etc), que são conhecidas por afetar consideravelmente o sistema biológico e estimular o estresse oxidativo nas células, podem resultar de processos de redução parcial de O_2 (GILBERT e MALI, 2012). O ambiente redox local ao redor de um implante metálico pode influenciar o estado redox das células também (GILBERT e MALI, 2012).

A RRO pode ocorrer à custa da oxidação de um metal:

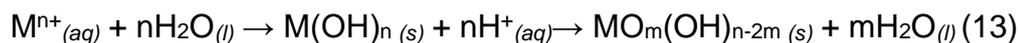


O potencial dessa reação é dado pela equação de Nernst da seguinte forma:

$$E_{\text{M}} = -E_{\text{M}}^0 + \frac{2,303RT}{nF} \log \frac{a_{\text{M}^{n+}}}{a_{\text{M}}} = -E_{\text{M}}^0 + \frac{2,303RT}{nF} \log \frac{a_{\text{M}^{n+}}}{a_{\text{M}}} \quad (12)$$

onde $-E_{\text{M}}^0$ é o potencial padrão da oxidação do metal M, $a_{\text{M}^{n+}}$ e $a_{\text{M}}=1$ representam as atividades do íon M^{n+} e do metal M, respectivamente.

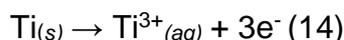
Os cátions dos metais de transição podem hidrolisar em meio aquoso formando hidróxidos que, na seqüência, podem sofrer desidratação (parcial ou não) formando estruturas mistas do tipo “oxo-hidroxo” ou óxido na superfície do metal e podem servir de camada de passivação (formação de películas protetoras sobre a superfície de metais, geralmente de óxidos no caso de metais):



A oxidação e a perda do metal para o meio ocorrem quanto maior for a tendência a oxidar o que depende da natureza do metal (característico) e de seu estado (fase cristalina, se está na forma de liga ou puro etc). Depende ainda da hidrólise (que forma camada de passivação), ou seja, do pH das espécies aniônicas presentes na solução que podem formar compostos de coordenação solúveis em água com alguns íons metálicos.

Termodinamicamente, a tendência do metal de oxidar é ditada pelo potencial de redução de oxigênio e potencial de oxidação do metal, dada pela soma desses potenciais: $E = E_{\text{RRO}} + E_M$. Tanto maior será e também a tendência do metal de oxidar quanto maior for o valor do E .

Considerando que o metal seja titânio e que sua oxidação ocorre segundo a reação:



seu potencial em meio aquoso é dado pela seguinte equação:

$$E = 2,529 + \frac{2,303RT}{4F} \log a_{O_2} - \frac{2,303RT}{F} pH + \frac{2,303RT}{3F} \log a_{Ti^{3+}} \quad (15)$$

A tendência de oxidar é uma função do pH, concentração de oxigênio ($a_{O_2} = f_{O_2} P_{O_2}$) e concentração de Ti^{3+} ($a_{Ti^{3+}} = f_{Ti^{3+}} P_{Ti^{3+}}$).

O intervalo normal de pH do plasma sanguíneo está na faixa de 7,35 a 7,45. Uma diminuição no pH do sangue abaixo do normal é conhecida como acidose, enquanto que um aumento acima do normal é conhecido como alcalose. Para que alterações no pH sejam evitadas, os tampões entram a fim de controlar tais alterações. Os dois tipos principais de mecanismos tamponantes que controlam o pH do corpo são o químico e o fisiológico. Os químicos são de ação rápida (sistemas de HCO_3^- , HPO_4^{2-} e proteínas), combinam-se com qualquer ácido ou base nos fluidos corporais, evitando alterações drásticas na concentração de H^+ ou pH. Se a ação imediata não puder estabilizar o pH, os tampões fisiológicos (sistemas de resposta respiratória e urinária) são acionados como uma defesa secundária contra mudanças prejudiciais no pH. O

sistema tampão fisiológico controla a produção de ácidos, bases ou CO₂. (THIBODEAU e PATTON, 1999).

Quando um dispositivo ortopédico é implantado, ocorre a interrupção do fornecimento de sangue ao osso e pode ser seguida por infecções patológicas graves e afetar a cicatrização tecidual, causando variações termodinâmicas no estado de equilíbrio (WINTER, 1974). O pH do fluido corporal pode cair de 7,4 para 5,5 e pode levar de 10 a 15 dias para voltar ao seu estado normal, devido à baixa circulação sanguínea. Caso haja infecção bacteriana, pode resultar em uma variação de pH ainda maior nas proximidades da superfície do implante, de ácida a alcalina (4,0 a 9,0). Laing (1973), relatou que o pH ao redor de um implante recém-inserido pode cair para valores tão baixos quanto 4,0 devido ao acúmulo de hematomas, uma condição que pode durar várias semanas.

A diminuição local do pH pode resultar em corrosão localizada severa do implante metálico. Além disso, o H₂O₂ pode se formar durante os estágios iniciais à colocação de um implante, uma resposta inflamatória *in vivo* (THOMSEN e ERICSON 1991; TENGVALL e LUNDSTRÖM 1992). O nível das alterações patológicas acima mencionadas depende do implante, do seu tamanho, forma geométrica e de produtos de corrosão liberados, bem como da atividade biológica. (GREEN, 1985). O risco de corrosão localizada devido a variações locais de pH nas proximidades de ligas de titânio foi relatado com base em estudos *in vitro* (CIOLAC et al., 2000).

Os níveis de oxigênio dissolvido no sangue são mais baixos do que nas soluções artificiais expostas ao ar atmosférico devido à combinação com a hemoglobina. A pressão parcial de oxigênio (P_{O₂}) no sangue varia entre 100 a 40 mmHg para o sangue arterial e venoso, respectivamente, enquanto que o valor correspondente no ar é 160 mmHg. Como a maioria dos biomateriais depende do oxigênio para repassar, a repassivação de superfícies metálicas é mais difícil em condições de baixa concentração de oxigênio dissolvido. Em alguns trabalhos a desaeração da solução com N₂ para manter baixa concentração de O₂ foi realizada a fim de simular melhor o desempenho de implantes metálicos *in vivo*, conforme prevê a norma ASTM F2129–17b. Como a pressão parcial do oxigênio varia amplamente dentro do corpo, cerca de 2,67×10² Pa a 1,33×10⁴ Pa, uma superfície de implante pode estar em contato com ambientes de pressões parciais de oxigênio muito

diferentes. Outro gás, como o dióxido de carbono (CO₂) afeta o pH, influenciando a corrosão *in vivo* (VIRTANEN, 2012).

Como mencionado anteriormente, alguns íons metálicos podem ser prejudiciais à saúde, como os de: Al, V, Ni e Cr, entretanto quando liberados no corpo podem não apresentar o mesmo risco. Um íon quando formado reagirá imediatamente com moléculas de água ou ânions inorgânicos. No caso do íon Ti, como é muito reativo, reage rapidamente com hidroxila e ânions, formando óxidos e sais insolúveis em fluidos corporais, indicando assim que a possibilidade de combinação com biomoléculas é baixa. No entanto, não significa que a reação com biomoléculas não ocorrerá.

Os íons de Zr, Nb e Ta se comportam da mesma maneira como o Ti. No entanto, íons ácidos, como Ni e Cu, não se combinam imediatamente com moléculas de água e ânions inorgânicos, permanecendo no estado iônico por um tempo relativamente longo. Dessa maneira, apresentam maior probabilidade de se combinar com biomoléculas e exibir toxicidade.

No trabalho de Han e colaboradores (2015), foi avaliado o comportamento corrosivo das ligas de Ti-xNb por técnicas eletroquímicas. Comparado com o Ti-cp, a resistência a corrosão foi semelhante. Os ramos anódicos exibiram uma transição ativa-passiva, podendo estar associadas à formação de um ou mais filmes protetores. Sabe-se que a adição de uma pequena quantidade de Pt ou Pd ao Ti é muito eficaz para melhorar a resistência à corrosão devido à promoção da transição ativa-passiva pela reação catódica (NAKAGAWA et al., 2005). Este trabalho apresentou uma tendência semelhante de mudança no potencial eletroquímico na direção positiva do potencial de corrosão pela adição de Nb ao Ti, indicando um notável aumento da resistência à corrosão (YAMAZOE et al., 2007).

Quanto ao efeito dos ânions, Li e colaboradores (2018), estudaram o efeito do íon flúor (F⁻) no comportamento eletroquímico da liga Ti-24Nb-4Zr-8Sn (Ti2448 do tipo β) em fluido simulador de saliva. Um aumento de F⁻ de ≤0,1 para 1% diminuiu a resistência à corrosão dessa liga.

Huang (2003), relatou que as propriedades eletroquímicas do Ti-6Al-4V não alteram apenas com o conteúdo de F^- , mas também com o pH e tempo de imersão na solução de Ringer.

Robin e Carvalho (2013), investigaram a passivação de Ti-cp e ligas Ti-13Nb-13Zr, Ti-5Nb-13Zr e Ti-20Nb-13Zr em uma faixa de pH de 2 a 7,5 em solução de Ringer contendo F^- a 1000 ppm. A resistência à corrosão das ligas testadas reduziu com um aumento de F^- e diminuição de pH. Além disso, houve melhora na resistência à corrosão das três ligas testadas em comparação com Ti-cp devido a uma camada espontânea formada de óxido estável (TiO_2) em sua superfície.

Embora a estabilidade química das ligas de Ti-Nb sejam altas (devido à sua excelente proteção pela camada passiva) (REYES et al., 2017), na acidificação da solução de Ringer de pH 7,5 para pH 0,5, resultou em desvios negativos do potencial de corrosão. A adição de NaCl exacerbou melhorando ainda mais a resistência à corrosão das ligas de Ti-22Nb-6Zr, quando comparadas com Ti-22Nb (PRASHANTH, 2016; FOJT, JOSKA e MÁLEK, 2013; ATAPOUR 2011; SAMUEL, 2010; MORENO, 2013).

No trabalho de Robin e Carvalho (2013), acima citado, avaliou-se a estabilidade da liga Ti-24Nb-4Zr-8Sn em solução de NaCl 0,9% após 24 h, 72 h e 168 h. Foi observado que na superfície da liga após 24h formou uma camada passiva resistente à ataque de corrosão (BAI et al., 2013).

A superfície da liga do tipo β do sistema Ti-Nb-Zr-Fe foi modificada por atrito mecânico, num estudo de JIN e colaboradores (2014). Esta modificação foi utilizada a fim de avaliar a nanocristalização e resistência à corrosão. A superfície com o tratamento apresentou potencial de corrosão mais positivo e menor densidade de corrente de corrosão em soluções de NaCl a 0,9% e NaF a 0,2% em comparação com a superfície não tratada. A melhoria da resistência à corrosão foi atribuída à rápida formação de filme passivo estável e denso na superfície nanocristalizada da liga Ti-Nb-Zr-Fe.

Atapour e colaboradores (2011) avaliaram a liga Ti-13Mo-7Zr-3Fe constituída de fases $\alpha + \beta$ e β metaestável, após 50h de imersão em HCl (5 mol/L) a 37°C. Verificaram que a superfície da liga, apresentava uma seletiva dissolução da fase β

na microestrutura. Num estudo similar com liga Ti-6Al-4V (MAEUSLI, et al.,1986), atribuíram a corrosão preferencial da fase β à presença de vanádio (V), um elemento β estabilizador, o que fez com que o Ti-6Al-4V apresentasse maior taxa de corrosão em comparação com o Ti-13Mo-7Zr-3Fe, devido a destruição da camada passiva formada pelo Ti.

Liang e Mou (2001), estudaram as características de corrosão da liga Ti-6Al-4V em diferentes fluidos corporais simulados, incluindo solução de Ringer (NaCl 8,5 g/L, KCl 0,2 g/L, CaCl₂ 0,2 g/L, NaHCO₃ 1,1g /L), solução salina tamponada com fosfato (PBS) (NaCl 8,0 g/L, KCl 0,2 g/L, Na₂HPO₄ 1,15 g/L, KH₂PO₄ 0,2 g/L) e solução Hank (NaCl 0,8 g/L, KCl 0,4 g/L, CaCl₂ 0,14 g/L, NaHCO₃ 0,35 g/L, C₆H₁₂O₆ 1,0, g/L, MgCl₂. 6H₂O 0,1, g/L, MgSO₄.7H₂O 0,06, g/L, Na₂HPO₄ 0,06,g/L, KH₂PO₄ 0,06 g/L em diferentes pH. Foi encontrado que a ordem da taxa de corrosão (da mais alta para a mais baixa) é na solução de Ringer, na solução de PBS e na solução de Hank. É sabido que Na₂HPO₄ e KH₂PO₄ reagem com a superfície do metal e agem como inibidores de corrosão devido a formação de uma camada passiva quando em solução Hank e PBS.

Hansen e colaboradores (2015) avaliaram o comportamento eletroquímico da liga NiTi também em diferentes soluções simuladas. Maiores concentrações de Cl⁻ a 37°C causaram deslocamentos de potenciais de corrosão para valores mais catódicos em solução salina Hank e de Ringer. Além disso, foi sugerido que na solução de Hank com pH variando de 1 a 9, a taxa de corrosão é altamente afetada pelo pH (TRÉPANIER e PELTON, 2004). Alguns autores (SHAHRABi et al., 2008; LIANG e MOU 2001; LI et al., 2007) explicaram que a solução de Ringer parece ser mais agressiva devido a maior concentração de íons Cl⁻.

Materiais metálicos densos apresentam incompatibilidade no módulo elástico quando comparado com o do tecido ósseo exibindo baixa proteção contra o estresse e estabilidade interfacial com os tecidos hospedeiros, elevando o potencial de produção de tecido fibroso na superfície do implante (WEN, YAMADA e HODGSON, 2002); (WEN et al., 2002). Devido à dificuldade em concentrar todas as características essenciais em um implante (compatibilidade biológica e mecânica), essas desvantagens motivam sintetizá-los na forma de materiais porosos para aplicações ortopédicas.

Um material biologicamente compatível é um material que não causa resposta inflamatória no tecido nem reação que caracteriza citotoxicidade durante sua vida útil. Além disso, a superfície do material deve induzir uma camada de apatita, para atender aos critérios bioativos. No caso de Ti denso, a possibilidade de afrouxamento do implante devido à diferença significativa entre o módulo elástico com o do osso natural é um grande obstáculo conforme já mencionado (módulo elástico do titânio e osso: 55-110 GPa e 5-30 GPa, respectivamente). Uma maneira de diminuir o valor do módulo é introduzir porosidade além dos elementos de liga estabilizadores de fase β no titânio.

As estruturas porosas podem fornecer espaço para que o osso cresça em seu interior e promova melhor fixação. A estrutura com poros interconectados promove a adesão celular e manterá o crescimento celular, até a formação de novos tecidos. A superfície rugosa do material poroso também fornece uma plataforma onde a carga pode ser transferida de um implante para o osso. Como exemplo, cita-se o estudo *in vivo* feito com o Ta poroso, usado para fusão da coluna lombar em um paciente com artrodeses da coluna vertebral cervical e lombar em que foi verificado o crescimento do osso na estrutura porosa do Ta (GEROS e CRAIG, 1993; ZOU et al., 2004).

Com relação a tamanho de poros, alguns autores sugerem que o tamanho ideal para garantir a vascularização e o crescimento ósseo esteja na faixa de 100 a 400 μm (BOBYN et al., 1980).

Na metalurgia do pó, para a formação de arcações com tamanhos de poros específicos é necessário controlar o tamanho das partículas dos pós metálicos de partida utilizados. O tamanho das partículas influencia na energia de superfície e também na capacidade de indução da apatita. Ao se diminuir o tamanho das partículas terá redução do tamanho de poros durante o processo de sinterização devido à maior energia de superfície por unidade de volume. Partículas de pequeno diâmetro com elevada área superficial têm maior energia, portanto a sinterização será mais rápida. Chen e colaboradores (2009) relataram que, ao reduzir o tamanho das partículas de Ti em pó, aumentou-se a energia superficial e isso levou a uma maior capacidade de indução de apatita. Por outro lado, aumentar a pressão de compactação diminuiu a porosidade devido à maior deformação plástica do pó de Ti nas regiões de contato

entre partículas. Estudos do mesmo autor revelaram que a porosidade ideal de um implante para o crescimento do osso está na faixa de 20 a 50%.

Para a caracterização da porosidade de arcabouços é utilizada a técnica de Arquimedes por gravimetria usando a fórmula abaixo (WANG et al., 2009):

$$\varepsilon = \left(1 - \frac{\rho}{\rho_s}\right) 100\% \quad (16)$$

Onde ρ e ρ_s são a densidade da liga porosa e sua densidade teórica correspondente (quando denso).

A interconectividade (ou percolação) é outro parâmetro a ser avaliado que pode sugerir se o arcabouço servirá de suporte para o crescimento ósseo. A conectividade entre os poros fornece uma área suficiente para que o fluido corporal atravesse o material, levando a uma melhoria no transporte de nutrientes. A interconectividade pode ser determinada usando o método de parafina proposto por WANG e colaboradores (2009). A interconectividade pode ser calculada usando a seguinte equação:

$$I = \left(\frac{V_p}{V}\right) 100\% \quad (17)$$

onde V_p e V são o volume de parafina que penetra na estrutura porosa e o volume total de poros, respectivamente. Este método fornecerá uma estimativa razoável da porcentagem de poros abertos presentes no material em relação ao total, isto é, a interconectividade.

O desenvolvimento de Ti poroso é uma solução para evitar os problemas de proteção da tensão no titânio denso, o que geralmente leva ao afrouxamento asséptico. Um exemplo bem-sucedido de fabricação de Ti poroso foi conduzido por WEN et al. O módulo elástico foi de aproximadamente 4 GPa, o que é significativamente menor em comparação com o titânio denso com 110 GPa (BOBYN e PILLIAR 1980). No entanto, deve-se sempre acompanhar o compromisso entre o módulo elástico e resistência mecânica, pois é de conhecimento que a porosidade pode diminuir significativamente a resistência mecânica dos materiais.

Assim, outros estabilizadores de liga são explorados continuamente para reduzir os impactos biológicos adversos. Elementos mais comumente estudados para

o desenvolvimento de ligas de titânio são Ta, Sn, Nb e Zr (LI et al., 2010). Esses elementos não apresentam citotoxicidade, mostram boa biocompatibilidade, alta resistência à corrosão e tem boa solubilidade no Ti (LOPEZ et al., 2008; OSHIDA, 2007). Os elementos foram classificados em três tipos, de acordo com a característica da liga formada: estabilizadores α , estabilizadores β e neutros. Acredita-se também que a liga de Ti com a combinação da fase $\alpha + \beta$ é preferida devido a sua alta resistência mecânica. No entanto, estudos também se concentram nas ligas de titânio do tipo β devido ao seu módulo elástico mais próximo ao osso. OBBARD e colaboradores (2010) demonstraram que o ajuste na concentração do estabilizador de fase β , Ta e Sn, pode reduzir o módulo de elasticidade. Baseado no estudo da citotoxicidade de elementos de liga, observa-se que Ti, Ta, Zr, Nb e Sn são biocompatíveis, enquanto que íons de Mo e Si são citotóxicos em determinados níveis (LI et al., 2010).

Wang e colaboradores (2010) verificaram que pode-se associar ao método da metalurgia do pó à adição de espaçadores e sintetizar materiais com combinação de macro e microporos. Notou-se que estes macroporos são determinados pelo tamanho dos espaçadores usados e os microporos dependem da dimensão das partículas de pó de Ti e de seus elementos de liga. O fato foi comprovado por Mediaswanti e colaboradores (2012), para ligas porosas de Ti-14Nb-4Sn, que exibiram micro e macroporos. Adicionalmente, Wang et al., (2009) mostraram que ligas porosas de Ti-10Nb-10Zr com porosidade de 69% exibiram resistência mecânica de 67 MPa, enquanto que os arcabouços de Ti e Ta puros com a mesma porosidade apresentaram resistência inferior de 53 MPa e 35,2 MPa (WANG et al., 2009).

Outro elemento metálico interessante para a fabricação de arcabouços, usado como espaçador, é o magnésio, o qual apresenta boa biocompatibilidade. O magnésio é um mineral conhecido, facilmente oxidável e desempenha um papel essencial no metabolismo humano quando na forma iônica. Este elemento é conhecido por ser leve e com boa tenacidade à fratura. Portanto, contribuiria para diminuir o módulo de elasticidade do titânio (41-45 GPa e 110 GPa para magnésio e titânio, respectivamente).

Wen et al., (2001) relataram que espuma de magnésio preparada com uma porosidade de 50% mostrou uma resistência à compressão de 2,33 MPa, com módulo

de Young de 0,35 MPa, respectivamente. Zhuang e colaboradores (2008), também avaliaram as propriedades mecânicas do magnésio poroso fabricado por metalurgia do pó. Os arcabouços com porosidade de 36 a 55% mostraram um valor de módulo de Young na faixa de 3,6 a 18,1 GPa, mais próximo ao do osso natural (ZHAUNG, HAN e FENG, 2008). Eles também investigaram o efeito da porosidade na biodegradação. Em seu estudo, foi relatado que materiais com maior porosidade degradaram-se mais rapidamente, devido à maior interconectividade e exposição da superfície, condições que maximizam as reações químicas. Apesar de materiais a base de magnésio apresentar baixo módulo elástico, a resistência mecânica e corrosão são fatores limitantes de seu uso (WITTE et al., 2005). No entanto, o seu uso juntamente com outros elementos para formar ligas porosas como com o Ti pode ser uma alternativa interessante.

A Metalurgia do Pó (MP) é uma tecnologia bem conhecida e promove a obtenção de peças de tamanho pequeno com formas complexas a baixo custo a partir de precursores em pó. De maneira geral, ela abrange uma etapa de prensagem simples seguida de sinterização. Essa rota de fabricação pode ser chamada de método ou processo MP de produção em massa, onde o custo é um forte fator a ser levado em consideração.

A energia envolvida no processo é muito menor do que a de tecnologias alternativas. Um processo típico de MP envolve a prensagem uniaxial e a sinterização em duas etapas distintas. Uma das principais vantagens do processo de MP, além do preço, é a tolerância dimensional (TENGEZELIUS, 2005; EUROPEAN POWDER METALÚRGICA ASSOCIATION, 2014), baixo consumo de energia e reduzido desperdício de matéria prima.

Para a produção de porosidade utilizando essa técnica é necessário controlar parâmetros como temperatura e tempos das etapas de sinterização, além do tamanho das partículas dos pós, devido ao seu compromisso com propriedades mecânicas (STOYANOVA, 2005). Tais variáveis influenciam fortemente a morfologia dos poros, isto é, pode conferir a mesma quantidade de porosidade, mas com formas e tamanhos diferentes. As propriedades mecânicas são também afetadas, principalmente aquelas relacionadas à ductilidade e às propriedades dinâmicas do material, pois dependem das características da porosidade (STOYANOVA et. al., 2004). Os poros atenuam a

força aplicada, não a distribui para uma área maior e causam acúmulo de tensão local, de modo que podem até servir como locais para a nucleação de trincas (MOLINARI et. Al., 2011). O efeito da porosidade nas propriedades mecânicas depende principalmente dos seguintes fatores: fração volumétrica dos poros e sua interconexão, tamanho, morfologia e distribuição. Os parâmetros mais importantes são a porosidade total, a forma dos poros e/ou contatos durante a sinterização (BLANCO et. al., 2005). A porosidade tem um efeito perceptível e bem reconhecido nas propriedades mecânicas. A porosidade pode aumentar a concentração de tensões e causar fraturas. Foi demonstrado por Danninger e colaboradores que esse parâmetro está diretamente relacionado às propriedades mecânicas de uma liga (DANNINGER et al., 1997). Esses fatores podem ser controlados por ajuste dos parâmetros de sinterização, pressão de compactação e tamanho de partícula. (MAROLI et. Al., 2003).

Na maioria dos casos, os implantes metálicos são fabricados por metalurgia convencional, tendo como matéria prima os lingotes, que inclui a fundição de peças semi-acabadas com subsequente trabalho a frio ou a quente para melhorar a microestrutura e as propriedades mecânicas e, finalmente, a modelagem por usinagem mecânica. No entanto, a MP é uma alternativa atraente sob o ponto de vista econômico, por exemplo, se for necessário um grande número de peças de formato complexo. Além disso, a MP é mais vantajosa para biomateriais metálicos como Ti e magnésio que são difíceis de usinar pelos modos convencionais. Por último, é possível a síntese de implantes ósseos com rugosidade superficial bem definida ou porosidade funcional, combinando a qualidade na fixação do implante (devido ao crescimento ósseo nos poros) e adequação das propriedades elásticas ao do osso humano.

Como mencionado, a ductilidade e a resistência à fadiga são reduzidas pela microporosidade residual resultante do processo de sinterização, bem como pela absorção de impurezas como O e C, que são introduzidos durante o processamento pelo contato de pós metálicos com ligantes orgânicos ou gases da atmosfera de sinterização. Essas impurezas podem levar à fragilização dos materiais devido ao endurecimento por solução sólida. O endurecimento é um tipo de tratamento térmico muito utilizado na metalurgia para reforçar as ligas metálicas. É também chamado endurecimento por precipitação, uma vez que reforça o metal através da criação de

impurezas sólidas, ou de precipitados, o que nos aços, impede os deslizamentos dos planos cristalinos. Este processo faz dos metais materiais mais vulneráveis, capazes de serem dobrados de forma irreversível por forças externas.

O Ti apresenta duas estruturas cristalinas possíveis: a fase α - hexagonal compacta (hc) que é estável a temperaturas abaixo da temperatura β *transus* (885°C) e a fase β - cúbica de corpo centrado (ccc), a se estruturar em temperaturas mais altas, ou a temperaturas mais baixas pela adição de elementos de liga β . A mistura de fases, como ligas $\alpha+\beta$, como por exemplo Ti-6Al-4V, apresenta ambas as fases, mesmo à temperatura ambiente, enquanto que em ligas β meta-estáveis, a fase β está retida à temperatura ambiente (LEYENS e PETERS, 2003). Essa fase pode ser estabilizada por elementos como Nb e Zr que são também biocompatíveis, enquanto que para o Al essa propriedade não é esperada (BARIL et al., 2011; EBEL et al., 2010).

As ligas também podem ser usadas como materiais de partida, transformando-as em pó após sinterizar (“*prealloyed powder*”) por essas mesmas técnicas. Os pós de baixo custo podem ser feitos por moagem mecânica de esponja ou lingote, por exemplo, após o processo de hidretação (MCCRACKEN et al., 2010), que fragilizam o metal ou a liga.

Os pós de hidretos metálicos são usados principalmente como uma alternativa econômica, se as propriedades após a sinterização forem suficientes. Na sinterização, é eliminado o hidrogênio que contribui para proporcionar uma atmosfera redutora, o que é vantagem, pois pode reagir com o oxigênio presente em traços na atmosfera do forno ou adsorvido no material compactado.

Opcionalmente, a porosidade funcional pode ser introduzida adaptando o tamanho das partículas dos pós de partida e as condições de sinterização. Além disso, a MP permite flexibilidade no *design* da liga, misturando pós de magnésio puro com diferentes pós elementares ou de liga. Devido à alta afinidade do magnésio pelo oxigênio, todo o manuseio de pós e amostras, bem como a sinterização subsequente, devem ser realizados sob uma atmosfera protetora de argônio e sob vácuo. (WOLFF et al., 2010). Sob essas condições, podem ser obtidas propriedades mecânicas correspondentes às do material fundido ou do osso cortical. Dependendo das condições de sinterização, os poros residuais podem variar entre 2% e 45%. Ao se aproximar de porosidades próximas a 45%, surge a interconexão (percolação) dos

poros. Os poros podem ser criados tanto por sinterização de pó solto (THIEME et al., 2001; OH et al., 2003) ou pelo uso de materiais adequados para espaçadores (BRAM et al., 2000; WEN et al., 2001; ESEN e BOR, 2007; HONG et al., 2008). Embora o ajuste da porosidade, forma e tamanho dos poros seja limitado no caso de sinterização de pó solto, esses parâmetros podem ser controlados de maneira simples e precisa em uma ampla faixa pelo uso de materiais chamados de suporte de espaço, ou metais de sacrifício. O tamanho e formas dos poros obtidos na MP são uma função do tamanho e da forma do pó precursor da liga, bem como da forma e tamanho do suporte de espaço (JHA et al., 2013). Os detentores de espaço convencionais são carbamida, cloreto de sódio, hidrogenocarbonato de amônio e magnésio (ARIFVIANTO e ZHOU 2014; MANSOURIGHASRI, MUHAMAD e SULONG; JHA et al., 2013; SMORYGO et al., 2012).

O uso do suporte de espaço pode fornecer porosidade aberta, essencial para a fixação óssea do implante. Esta forma é econômica, capaz de ajustar a distribuição do tamanho dos poros, a forma dos poros e o nível de porosidade, pelo tipo de espaçador, sua proporção na mistura com o pó de metal, bem como o tamanho das partículas do espaçador que deve ter uma distribuição de tamanho muito estreita. (WEN et al., 2001; WEN et al., 2002a; WEN et al., 2002b; KOTAN e BOR, 2007). Os pós metálicos e o material de suporte de espaço são misturados e compactados (material a verde).

A compactação se presta a uma melhor resistência a verde ao pó de metal após a remoção do material espaçador durante o processo de sinterização. A compactação pode ser uniaxial ou isostática. Durante a sinterização em temperaturas relativamente baixas, o espaçador é removido por decomposição ou evaporação, deixando os espaços ocupados como poros.

Após a remoção do espaçador, as amostras ainda a verdes são sinterizadas a temperaturas superiores. Em geral, as formas e tamanhos dos poros são controlados pelas formas e tamanhos iniciais da partícula espaçadora, assim, amostras de alta porosidade com poros esféricos e angulares na faixa de 0,1-2,5 mm podem ser obtidas (RAUSCH e BANHART, 2002).

As propriedades desejadas para um material de suporte de espaço são, portanto, baixo ponto de ebulição / sublimação ou alta solubilidade em solventes

específicos. Além dos macroporos criados por partículas temporárias, os biomateriais preparados pela MP também contêm microporos no interior das estruturas sinterizadas, relacionadas à porosidade residual do processo de sinterização. Ambos os tipos de porosidade são úteis em aplicações como implantes, uma vez que a microporosidade (diâmetro do poro menor que 10 μm) permite a circulação do fluido corporal e melhora a aderência das células, enquanto a macroporosidade (diâmetros de poros na faixa de 100 μm a vários μm obtidos) fornece um suporte para a colonização de células ósseas em combinação com a vascularização (WINTERMANTEL e HA, 2002).

A MP oferece um alto grau de liberdade e possibilita o controle da arquitetura interna das porosidades produzidas. Todavia, esse alto grau de liberdade traz um número muito alto de parâmetros de processamento que afetam as propriedades estruturais e químicas simultaneamente (TUNCER et al., 2011a, 2011b).

Vários estudos chegaram ao consenso quanto ao diâmetro ideal de poros/interconexão para o crescimento ósseo. O valor está acima de 100 μm , mas o tamanho máximo de poros necessário para a fixação estável do implante ainda é controverso (BOBYN et al., 1980; WHANG et al., 1999; JONES et al., 2009).

Outra questão importante, relacionada ao tamanho dos poros abertos, é a rugosidade da superfície do implante. Ela influencia no atrito entre o osso e o implante, que é de grande importância para a fixação primária do implante após a cirurgia. Nos trabalhos de Tuncer e Arslan (2009) e Tuncer et al. (2011a), os poros foram produzidos comprimindo uma mistura de Ti com espaçador (uréia com tamanho médio de 400 μm , teor 70% em volume) e sinterização subsequente a 1200°C em Ar.

Como mencionado anteriormente, a contaminação por elementos intersticiais, especialmente O e C, é uma questão muito importante durante o processamento. Isso é ainda mais significativo quando biomateriais porosos são produzidos, pois possuem uma área superficial alta pronta para capturar elementos e introduzir nos espaços intersticiais durante o processamento térmico (BARIL et al., 2011; TUNCER et al., 2011a, 2011b).

No uso do magnésio como espaçador, a sua afinidade pelo oxigênio é ainda mais alta, mas, ao contrário de outros metais com alta afinidade por oxigênio, por

exemplo Ti, a matriz não apresenta solubilidade em átomos de oxigênio. Como consequência, a captação de oxigênio da atmosfera circundante leva à formação de uma camada de MgO (óxido de magnésio) termodinamicamente estável, com uma espessura na faixa de 3 a 5 nm, na superfície das partículas de pó. Esta camada de óxido inibe drasticamente os processos de difusão no Ti. Assim, o processo de interdifusão do Ti nos pós de partida do Ti necessários para a densificação do material ou para a formação de ligas durante a sinterização também é inibida.

Entre os espaçadores, o magnésio pode ser um bom candidato na produção de arcabouços, já que sua solubilidade em Ti é insignificante. Além disso, aumenta a osteocondutividade dos arcabouços se permanecer e não constitui uma desvantagem para aplicações biomédicas (AYDOĞMUŞ e BOR 2009). Portanto, o emprego de magnésio como suporte de espaço e sua remoção incompleta do arcabouço podem resultar na fabricação de estrutura porosa e promover sua biocompatibilidade, simultaneamente.

Esen e Bor (2007), utilizaram magnésio como espaçador, que foi removido lentamente aquecendo-se a 1200 °C e mantendo-se por 1h sob gás Ar de alta pureza. Foram fabricados arcabouços de Ti com uma faixa de porosidade de 45-70% e um tamanho médio de poro de cerca de 525 µm. Os valores da resistência ao escoamento e dos módulos de elasticidade variaram na faixa de 15 a 116 MPa e 0,42 a 8,80 GPa, respectivamente. Citaram como vantagem de usar o magnésio como suporte de espaço o seu baixo ponto de ebulição (1107 °C) e miscibilidade baixa com Ti (WHEELER et al., 1983).

Bansiddhi e Dunand referiram distintamente os compostos iônicos de NaF (BANSIDDHI e DUNAND, 2007) e NaCl (BANSIDDHI e DUNAND, 2008) como material de suporte de espaço na mistura com pó de NiTi, uma liga com memória de forma. Os arcabouços foram constituídos por 35-40% de poros abertos quando fabricados por prensagem isostática e sinterização a 950 °C e 1065 °C. As amostras apresentaram poros de tamanho 240 µm quando utilizou NaF, em comparação com tamanhos entre 70 e 400 µm para as amostras com NaCl. O arcabouço apresentou rigidez média de 6-12 GPa e 4-25 GPa para as amostras porosas feitas de NaF e NaCl, respectivamente.

No trabalho de Xu e colaboradores (2019), o arcabouço de Ti-35Zr-28Nb poroso foi fabricado por MP usando como espaçador NH_4HCO_3 , que foi adicionado ao pó da liga previamente preparado. Os resultados mostram que todos os materiais consistiam de uma única fase (β). A porosidade aumentou de 51,4% para 64,9%, aumentando a concentração de espaçador de 63% para 79% (proporção em volume), e o tamanho médio dos poros (d_{50}) estava na faixa de 230-430 μm . A resistência ao escoamento na compressão e o módulo elástico diminuíram gradualmente com o aumento da porosidade, variando de 230,5MPa a 79,7MPa e 6,9GPa a 1,8GPa, respectivamente, com o aumento da porosidade. Entretanto, a taxa de corrosão em solução salina de tampão fosfato (PBS) aumentou de $0,91 \times 10^{-3}$ mm/ano para $4,18 \times 10^{-3}$ mm/ano com um aumento na porosidade (de 51,4% para 64,9%).

Cheng e colaboradores (2013), analisaram dois arcabouços de magnésio com poros abertos de diferentes tamanhos, mas mantendo-se a mesma porosidade. Foram fabricados a partir de lingotes de magnésio de alta pureza utilizando o método *titanium wire space holder* (TWSH) que se baseiam na fusão de magnésio a 700°C, adição de fios de titânio enovelados no magnésio líquido. Testes celulares indicaram que arcabouços de magnésio assim obtidos apresentaram boas propriedades de citocompatibilidade e diferenciação osteoblástica.

No estudo, por Chuan e colaboradores (2013), os arcabouços de liga Ti-7,5Mo com porosidades de 30 a 75% foram preparados por meio de sinterização utilizando espaçadores. A resistência ao escoamento e o módulo de elasticidade dessa liga com porosidade de 50% foram 127 MPa e 4,2 GPa, respectivamente, sendo comparáveis às propriedades mecânicas do osso natural.

As ligas porosas de Ti-6Al-4V que foram produzidas pela MP, no trabalho de Aşık e Bor (2015), aliada ao suporte de espaço, de magnésio, para gerar porosidade na faixa de 51-65% apresentou resistência mecânica entre 69 e 167 MPa e os módulos elásticos entre 4 e 12 GPa.

Propriedades distintas podem ser alcançadas graças ao polimorfismo do Ti. As estruturas cristalinas mais comuns são hexagonal compacta (hc, ou fase α) e cúbica de corpo centrado (ccc, ou fase β), podendo ser encontradas como mistura $\alpha + \beta$, dependendo da temperatura à que foi submetida (POLMEAR, 1996; ZHU, ZHANG e CHEN, 2017; LIU, CHU e DING, 2004). A alta resistência específica é um dos

principais requisitos para implantes, e o Ti é o que melhor atende a esse quesito entre os biomateriais metálicos (GORIAINOV et al.,2014). Apesar disso, aspectos inconvenientes como a rigidez (módulo de elasticidade ou de Young) requer que se prepare o Ti na forma de ligas. As ligas ricas em fase β têm baixo módulo de Young, assim, incorporando elementos biocompatíveis como o Nb (β estabilizador) para preparar ligas de Ti ricas em fase β as tornam ideais para aplicações biomédicas (NIINOMI 2008; ZHU, ZHANG e CHEN, 2017; GORIAINOV et al., 2014). O Nb exibe solubilidade completa em Ti acima de 882°C, o que permite estudar sua influência em toda faixa de teor em titânio e acompanhar a modificação de suas propriedades (ZHU, ZHANG e CHEN, 2017; SHARMA, KUMAR e AMEYAMA, 2016). Na Figura 2 está apresentado o diagrama de fases do sistema Ti-Nb (MURRAY, 1998) aonde se conclui a elevada solubilidade deste elemento no Ti em temperaturas médias/elevadas, sob estrutura ccc (fase β).

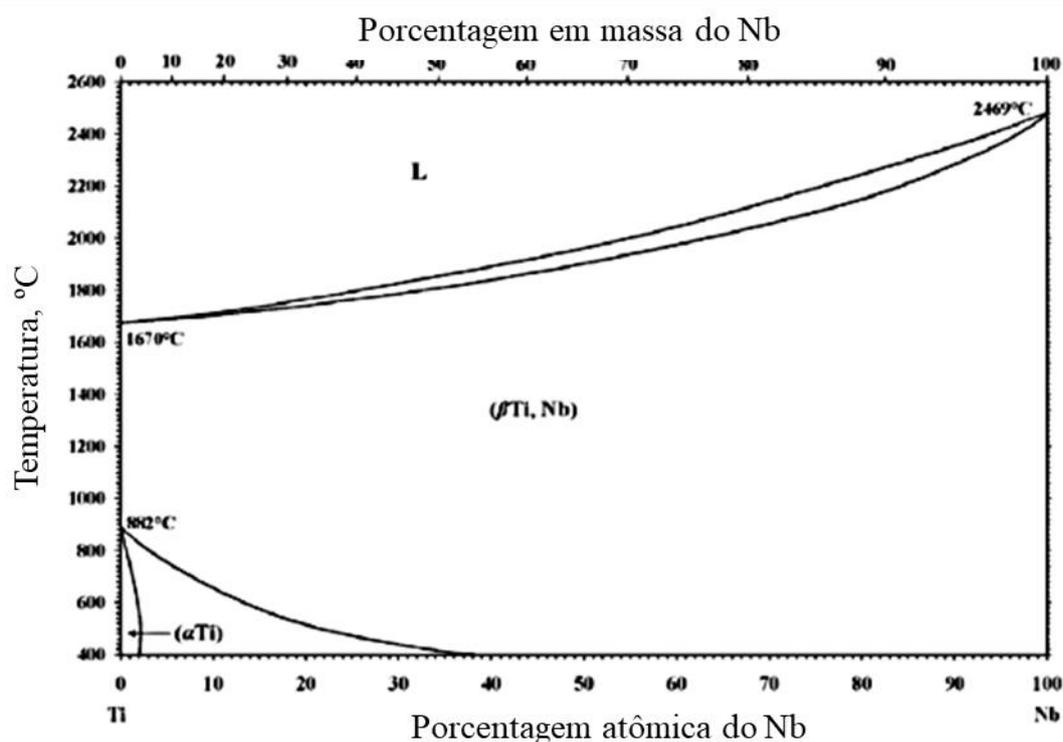


Figura 2. Diagrama de fase do sistema Ti-Nb (MURRAY, 1998).

Ao reduzir a temperatura é possível notar estabilidade sob presença de duas fases ($\alpha+\beta$), sendo que resfriamentos rápidos da fase β resultam em uma microestrutura formada por fases meta-estáveis. Em um sistema binário de Ti-Nb, o resfriamento brusco a partir de temperaturas no campo β resulta na transformação

martensítica da fase β , o que pode resultar nas fases α' ou α'' . Sendo que esse resultado depende do teor de elemento estabilizador, nesse caso, de Nb.

No trabalho de Yahaya e colaboradores (2016), foi avaliado o efeito do teor de Nb na liga do sistema Ti-Nb nas propriedades mecânicas e na formação de fase β , por MP. Foi constatado que até 35% em peso de Nb a fase α foi quase eliminada. No entanto, obteve-se menor resistência a compressão, porém menor módulo elástico (13.46GPa). De maneira geral, o conteúdo de 35% em peso foi o que apresentou características mais adequadas quanto à microestrutura e propriedades mecânicas. Influência de porosidades não foi abordada neste trabalho.

Yolun e colaboradores (2020) estudaram a biocompatibilidade do sistema Ti-Nb, também fabricado por MP. Constatou-se que a temperatura necessária para a transformação de fase α em β diminuía com o aumento do teor de Nb mas que maiores conteúdos de Nb afetavam negativamente a resistência mecânica. Contudo, relataram que nenhum efeito citotóxico foi constatado sob qualquer teor de Nb.

Dessa maneira, é interessante conciliar a quantidade Nb de modo a obter significativa fração de fase β , em baixas temperaturas, buscando não somente o baixo módulo elástico, mas também boa resistência mecânica e biocompatibilidade, por exemplo promovendo ou preservando a formação de porosidade, com o uso de espaçadores e utilizando elementos neutros, não tóxicos como Sn para auxiliar na melhora da resistência mecânica.

Atualmente, o uso de ligas em ortopedia ainda é muito limitado. O mais comum comercializado é o Ti-6Al-4V, inicialmente produzido para aplicações militares ou em aeronaves. Desde a década de 60 são utilizados para aplicações médicas. A resistência mecânica de chapas, pregos, parafusos e endopróteses deste material é maior que do titânio puro, entretanto, ressalvas para uso em longo prazo como implantes foram relatadas devido ao vanádio, que é tóxico tanto no estado elementar como na forma de oxidada (BLACK, 1991; EISENBARTH et al., 2001; WAPNER, 1991). Estudos *in vitro* demonstraram que os detritos gerados pelo desgaste do Ti-6Al-4V estimulam as células fagocíticas em maior extensão do que o Ti-cp ou ligas de Ti-6Al-6Nb. Além disso, a exposição das partículas de Ti-6Al-4V em cultura celular da medula óssea humana induziu uma liberação significativamente mais alta de

mediadores pró-inflamatórios e osteolíticos, responsáveis pelo afrouxamento asséptico das próteses (ROGERS et al., 1997).

Na década de 80, essas preocupações levaram ao desenvolvimento de ligas de implante de Ti sem o V. Tais ligas consistem da mistura de fases $\alpha+\beta$ e exibem propriedades mecânicas semelhantes à das que contêm V. No entanto, alguns aspectos adversos das ligas $\alpha+\beta$ (módulo de elasticidade e resistência mecânica insuficientes) levaram a buscarem ligas de Ti com predomínio de fase β , apesar da piora na resistência mecânica (SEMLITSCH, STAUB e WEBBER, 1985; ZWICKER et al., 1980; METIKOS-HUKOVIC, KWOKAL e PILJAC, 2003), a saber, a fase α que possui uma estrutura cristalina hc que confere melhor resistência à fadiga (resistência mecânica), uma superior resistência ao desgaste e maior módulo de elasticidade ao metal, enquanto que a fase β , obtida em alta temperatura, possui uma estrutura cristalina ccc e menor resistência à fadiga e à abrasão, e menor módulo de elasticidade (NIINOMI, KURODA e FUKUNAGA, 1999).

As ligas constituídas de fases $\alpha+\beta$ têm propriedades que nem sempre são aquelas esperadas como intermediárias e proporcionais à quantidade de fases, que depende do elemento de liga. Porém, pode apresentar um equilíbrio entre boa resistência mecânica e adequado módulo elástico.

Elementos metálicos que servem como β estabilizadores de Ti são: Fe, V, Ta, Nb, Mo, Ni, Cr, Cu etc. Esses elementos atuam não somente como estabilizadores β , mas também favorecem as propriedades mecânicas e de corrosão do biomaterial (ROSENBERG, 1970).

Já os elementos que estabilizam a fase α são Al, O, N, C, Ga, Ge, Ce, La entre outros. Estes dissolvem-se preferencialmente na fase α do Ti e expandem o campo α no diagrama de fases, ou seja, elevam a temperatura de transição $\alpha\rightarrow\beta$. Entre os poucos elementos que se comportam dessa maneira, Al e O são os mais importantes (POLMEAR, 1996). Sendo β uma fase do Ti que se forma em altas temperaturas, para assegurar que essa fase permaneça mesmo em temperatura ambiente requer o preparo de ligas com elementos estabilizadores β em quantidades adequadas.

A partir de uma liga de Ti puramente β ou α , uma combinação de fases α/β é observada em função da quantidade de elementos de liga. Elementos que diminuem

a temperatura de transição α/β e estabilizam a fase β podem ser classificados em dois grupos: aqueles que formam sistemas binários do tipo β -isomorfo e aqueles que favorecem a formação de um sistema β -eutetóide. Entende-se por sistema β -isomorfo quando todos os componentes são completamente solúveis um no outro e que estruturam sob sistema ccc. Já os sistemas eutéticos podem ser divididos em sistemas de solubilidade nula ou de solubilidade parcial. Estes sistemas apresentam a formação de uma solução eutética, a qual ocorre para uma temperatura e uma composição química fixa e definida, onde um líquido se transforma em duas fases sólidas distintas ao resfriar.

Deve se notar, que a formação de fase eutetóides, em várias ligas, são muito lentas. Na prática, as ligas tendem a se comportar como se a formação de uma solução não tivesse ocorrido. Exemplos são os sistemas binários Ti-Fe e Ti-Mn, e essas ligas se comportam como se estivessem em conformidade com o diagrama de fases β -isomorfos. Exemplos de estabilizadores β -isomorfos são V, Mo, Nb, Ta, W, Re e outros. Os elementos estabilizadores β -eutetóides são Cr, Fe, Mn, Cu, Ni, Co, H, Ag, Au, Pb e outros (POLMEAR, 1996). A influência e efeito dos elementos estabilizadores de fase estão indicados na Figura 3.

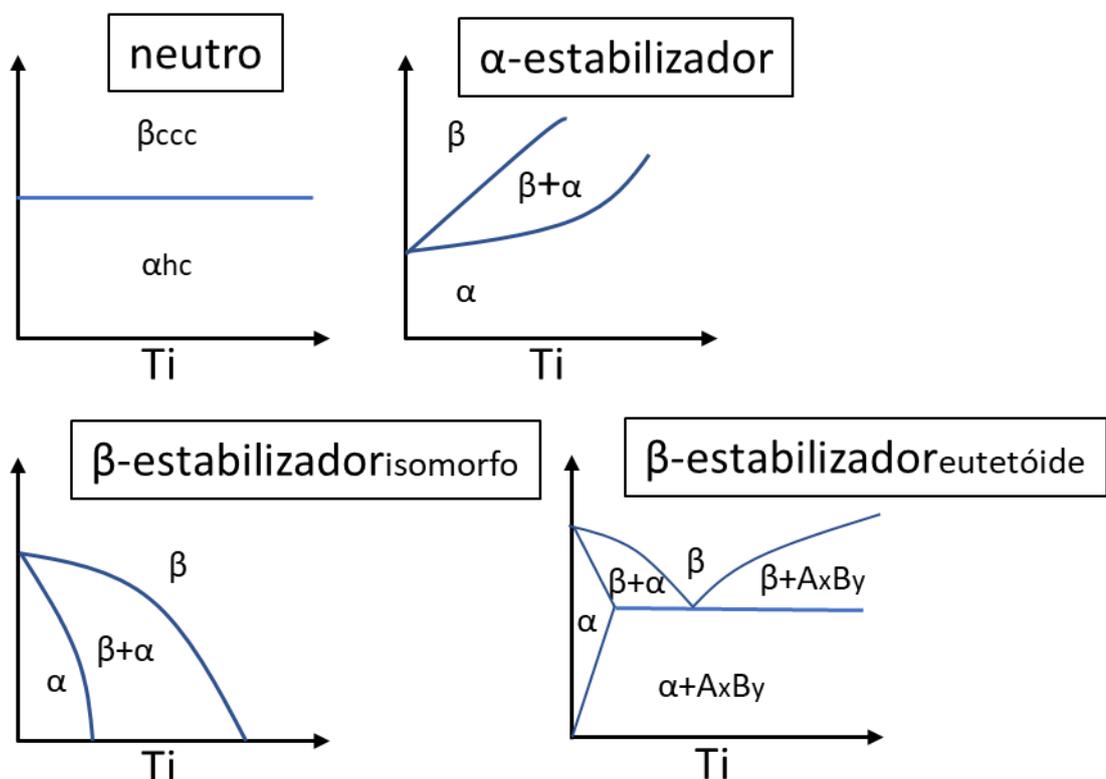


Figura 3. Efeito dos elementos estabilizadores de fase em Ti e ligas de Ti.

Outra fase de Ti possível é a ω , que é uma fase metaestável e se forma geralmente em ligas de Ti com elementos que tendem a estabilizar a fase β em altas temperaturas (200-500°C), dependendo da composição da liga (FROES e STAFF, 2015). A formação dessa fase pode ocorrer durante a têmpera a altas temperaturas ou durante o envelhecimento dos materiais temperados (HICKMAN, 1969). A adição de elementos como Al (α estabilizador), Zr ou Sn (neutro), atua como um estabilizador de fase α na presença de outros estabilizadores e suprime a formação da fase ω para promover a formação da fase α (POLMEAR, 1996). A Figura 4 mostra o diagrama binário do sistema Sn-Ti (OKAMOTO, 2010).

Elementos neutros são aqueles que não favorecem a cristalização sob nenhuma das fases, α ou β do Ti (como visto na Figura 3). Eles geralmente são utilizados para outros fins que não a modificação de fases, como fortalecimento e processabilidade.

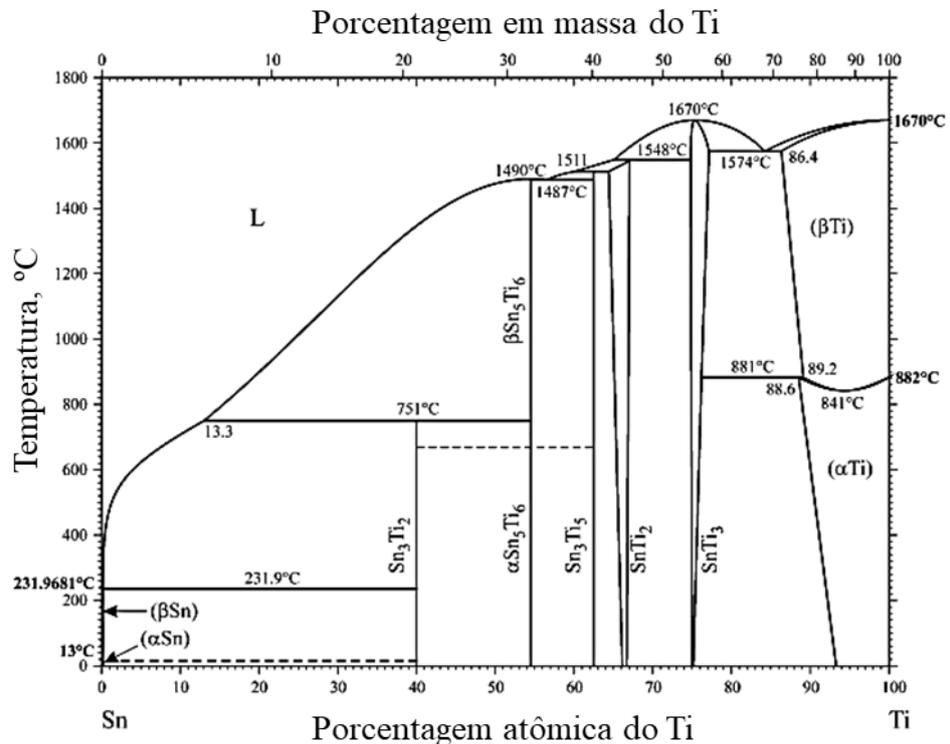


Figura 4. Diagrama de fase do sistema Sn-Ti (OKAMOTO, 2010).

Fica claro que a busca por materiais que permitam a utilização por longo prazo em ortopedia é de extrema importância, principalmente pela dificuldade em unir as propriedades necessárias para estes dispositivos. Assim, estudos voltados na síntese de arcabouços de Ti com presença de elementos estabilizadores de fase β , como o Nb e Sn (neutro), a fim de produzir boa compatibilidade mecânica aliada ao uso de suporte de espaço de magnésio, podem contribuir na busca de materiais com características vantajosas para longo prazo em pacientes com acometimentos no tecido ósseo.

Artigo científico submetido ao periódico International Journal of Materials Research

(sob as normas vigentes – anexo 1)

Avaliação das Propriedades Físicas e Biológicas da Liga Ti-34Nb-6Sn/Mg em Diferentes Tempos De Moagem e Sinterização por Metalurgia do Pó

Evaluation of the Physical and Biological Properties in Ti-34nb-6sn/Mg Alloy at Different Times of Milling and Sintering by Powder Metallurgy

Mariana Correa Rossi^a, Fernanda de Castro Stievani^a, João Pedro Hübbe Pfeifer^a, Luis Gallego Martinez^b, Vicente Amigó Borrás^c, Margarida Juri Saeki^d, Ana Liz Garcia Alves^a.

^a **Regenerative Medicine Lab, Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University, Botucatu, Brasil. mariana.rossi@unesp.br, fe.stievani@gmail.com, joao.pfeifer@unesp.br, ana.liz@unesp.br**

^b **Materials Science and Technology Center, Nuclear and Energy Research Institute, USP – Butantã, São Paulo, SP – Brasil, lgallego@ipen.br**

^c **Institut de Tecnologia de Materials, Universitat Politècnica de València, València, Spain, vamigo@mcm.upv.es**

^d **Department of Chemistry and Biochemistry, Institute of Biosciences (IBB), São Paulo State University, Botucatu, Brasil, mj.saeki@unesp.br**

RESUMO

O sistema Ti-34Nb-6Sn foi preparado pela técnica da metalurgia do pó afim de investigar o processo de transformação da fase β . Os pós foram moídos em dois tempos distintos (40 e 60 min) com e sem Mg, usado como suporte de espaço. Em seguida, foram compactados e sinterizados a 700°C e 800°C. A caracterização das partículas e dos sinterizados foi feita por um microscópio eletrônico de varredura (MEV) e difratômetro de raios X (DRX). A porosidade foi caracterizada pelo método de Arquimedes. A dureza dos sinterizados foi analisada por Vickers. Para os ensaios biológicos foram utilizadas células-tronco mesenquimais derivadas de medula óssea equina (MOCTMs). Com 40 min de moagem e sinterização a 800°C, as amostras apresentaram melhor homogeneidade, maior quantidade de fase β e de macroporos formados. Ambas as condições promoveram boas respostas biológicas quando em contato com as células.

Keywords: Liga de titânio do tipo β ; Moagem de alta energia; Biocompatibilidade; Implante biomédico.

1. Introdução

O número de pacientes que necessitam de próteses ortopédicas tem aumentado significativamente, devido ao aumento da população mundial e expectativa de vida [1,2]. Na reparação ortopédica, os dispositivos mais utilizados são metálicos, cerâmicos e poliméricos [3], pois são capazes de recuperar parcial ou totalmente a função do tecido ósseo por um longo período de tempo [4]. Dentre os dispositivos metálicos, os mais utilizados são o aço inoxidável, liga Co-Cr, titânio e suas ligas como Ti-6Al-4V [5]. Sabe-se que o titânio possui características adequadas como dispositivo médico, devido sua boa resistência mecânica, módulo de elasticidade menor, baixa susceptibilidade à corrosão e boa biocompatibilidade [6-8]. Por esse motivo, mais de 70% dos dispositivos utilizados possuem titânio em sua composição [9,10]. Não obstante, a liga de titânio mais amplamente utilizada (Ti-6Al-4V) tem alumínio e vanádio, componentes que são conhecidos como citotóxicos e podem levar a distúrbios neurológicos e respiratórios [11,12]. Além disso, o módulo de elasticidade chega a 110 GPa enquanto que a do osso está entre 10 e 30 GPa.

Por não apresentarem inconveniências a nível biológico, o nióbio (Nb) e o estanho (Sn) são bons candidatos para a formar ligas de Ti, que, em condições adequadas, pode-se combinar adequado módulo elástico e assim aumentar a osteointegração [13,14]. Materiais hidretados também podem ser utilizados. Em tempo, a hidratação fragiliza o metal e é importante no processo de micronização. Assim, controlando o processo de moagem, pode conferir tamanho de partícula desejado com excelente homogeneidade. A desidratação concilia metais com diferentes pontos de fusão para formação de ligas [15] e durante a sinterização em que o hidrogênio é eliminado, pode contribuir para proporcionar uma atmosfera redutora. Ademais, podem ser combinados materiais espaçadores à metalurgia do pó, em que são adicionados elementos de baixo ponto de ebulição sublimação ou decomposição que conferem porosidade aos materiais. O Mg apresenta características interessantes para a produção de arcabouços de Ti. Sua solubilidade é insignificante em Ti e no caso de sua persistência aumenta a osteocondutividade sem inconveniências biomédicas [16]. Desta forma, a liga de Ti-34Nb-6Sn/Mg foi

produzida pela técnica do pó metalúrgico em diferentes tempos de moagem e temperatura de sinterização.

2. Procedimento Experimental

2.1 Síntese

Pós de TiH de Grau 2 (ASTM F67), NbH (99,99%) e Sn atomizado (99,50%) foram fornecidos pela CBMM (Araxá-MG-Brasil) e Metalpó (São Paulo-Brasil). Quantidades para se obter uma liga com relação mássica de 60% em Ti, 34% em Nb e 6% em Sn, sendo que no caso de ligas com Mg foi adicionado em quantidade suficiente para dar 2% em relação à massa total, foram misturados em moinho planetário de alta energia (modelo Pulverisette 5 da FRITZCH) de aço a 200 rpm na presença de etanol, o qual foi colocado em quantidade suficiente para recobrir os pós. Após 40 min e 60 min de moagem, as misturas foram secas sob vácuo e compactadas uniaxialmente em uma matriz de 1 cm² com pressão de 100MPa. A sinterização foi realizada em duas etapas (até 700°C para os pós moídos em 40 min, e 800°C para os pós moídos em 60 min) em forno resistivo de alto vácuo (COMBUSTOL - modelo Tubular Forno) acoplado a uma bomba mecânica (Edwards) e uma difusora (Edwards), que forneceu uma pressão inferior a 10⁻² Pa. Antes da sinterização, a câmara do forno foi substituída por argônio e realizado vácuo por duas vezes. As etapas de sinterização estão esquematizadas na Figura 1.

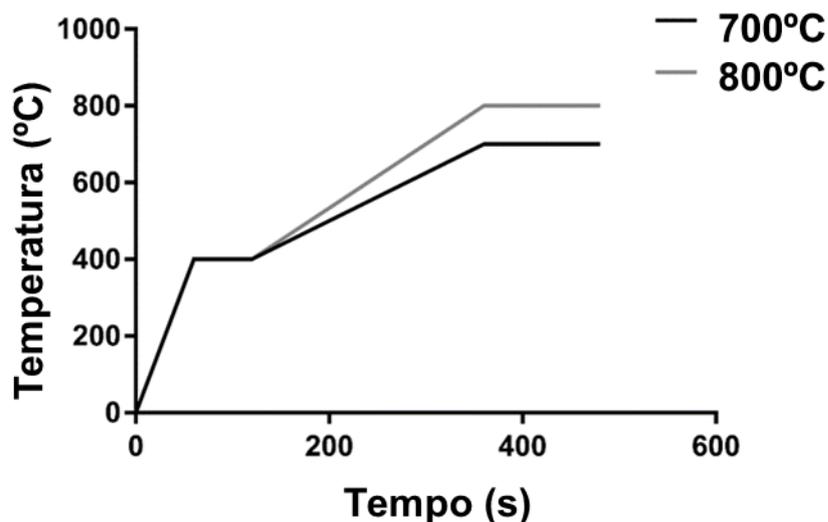


Figura 1. Processo de sinterização de Ti-34Nb-6Sn.

2.2 Caracterização Microestrutural

A preparação metalográfica foi realizada em todas as amostras, a fim de eliminar irregularidades e óxidos superficiais. Para o preparo metalográfico foi utilizada lixa padrão de 220, 320, 400, 600 e 1200 mesh na presença de água, a fim de evitar superaquecimento. Após essa etapa, foram polidos com alumina de 0,3 μ m e 0,05 μ m (Alcrisa-Teclago). A caracterização estrutural (identificação e quantidade das fases presentes) da mistura após moagem dos pós e dos corpos de prova foi feita utilizando difratômetro de raios X (DRX) com radiação Cu K α (Rigaku-Ultima IV) operando com passos de 0,05 nos ângulos quando os picos de difração eram mais largos e 0,02 graus para picos mais estreitos. Os tempos de contagem por passo foram da ordem de 10 s. O refinamento da estrutura cristalina e a análise quantitativa das fases foram realizados pelo método de Rietveld, utilizando o software GSAS [17]. As análises morfológicas e composicionais semiquantitativas foram realizadas usando um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV, da FEI, Quanta 200), equipado com um detector de Elétrons Secundários (Everhart-Thornley), Elétrons Retroespalhados e Energia Dispersiva de Raios X (EDS de Oxford, 51 -XMX1119). A análise composicional foi realizada em três regiões distintas com uma área total de aproximadamente 86 μ m² em cada material, portanto, os resultados são apresentados como média \pm DP das três regiões. Os picos de alumínio (Al), oxigênio (O), ouro (Au), silício (Si) e carbono (C) foram desconsiderados, uma vez que a presença dessas espécies se deve à metalização (Au), lixa, colagem de amostra no *stub* em alumínio com fita de carbono e oxigênio do ar.

2.3 Teste de Dureza

As medições de dureza dos materiais foram feitas com base na escala Vickers. Para a melhor precisão das medições, os testes foram realizados em discos com superfícies polidas. A carga aplicada foi de 300 g (~ 3 N) e um tempo de indentação de 60s [18] em um equipamento Shimadzu, modelo HMV-G.

2.4 Porosidade aparente dos materiais sinterizados

A porosidade foi determinada utilizando o princípio de Arquimedes (porosidade aparente), seguindo as normas B328 ASTM. A porosidade também foi avaliada por

meio da análise das imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) por meio do software (Image J Tool).

2.5 Cultivo celular e biocompatibilidade

Primeiramente, os materiais foram limpos e esterilizados para evitar possível contaminação. Assim, após o polimento, cada amostra foi limpa por banho ultrassônico com acetona, álcool isopropílico e água ultrapura (18,2 MΩcm) por 15 min. Em seguida, as amostras foram secas em estufa e autoclavadas a 120°C por 1h. O efeito dos materiais sobre a viabilidade das células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea equina (BMMSCs) foram estudados pelo seu cultivo em meio que foi condicionado por 24 horas com os materiais, conforme estabelecido pela norma ISO 10993-5. As BMMSCs foram inicialmente cultivadas na proporção de 1×10^5 células/poço em meio de cultura KnockOut DMEM (ThermoFisher Scientific) em placas de 96 poços. Essas placas foram incubadas a 37°C em ar contendo 5% de CO₂ e mantidas nessas condições por 24h. Ao mesmo tempo, apenas o meio de cultura foi mantido incubado nas mesmas condições com as amostras obtidas por sinterização a 700 e 800°C. Após esse tempo, as células da primeira placa foram tratadas com esses meios condicionados (Tratado). O grupo controle recebeu apenas meio de cultura convencional (Controle) no volume de 100 µL por poço. As placas foram mantidas a 37°C por mais 24h. Em seguida, os meios foram aspirados, 100 µl do sal de brometo de difeniltetrazólio dimetilazol (MTT) (Sigma-Aldrich) (5 mg/ml de meio) foram adicionados a cada poço e incubados nas mesmas condições por 3h. Na sequência, o restante do sal foi removido e os cristais de formazan formados pela reação com as mitocôndrias das células viáveis foram dissolvidos pela adição de 100µl de álcool isopropílico (Sigma-Aldrich) a cada poço. Por fim, a absorbância do formazan foi determinada pelo método colorimétrico em leitor de microplacas a 570 nm. Esta experiência foi realizada em triplicata. Em outro ensaio, o comportamento morfológico bem com a adesão das células sob as amostras foi estudado utilizando a mesma linhagem celular, na densidade de 1×10^4 células/poço em placas de 24 poços onde as células foram cultivadas em contato direto com a superfície de cada material. A placa foi incubada com os respectivos materiais e células nas mesmas condições do ensaio anterior. Após 48h, o meio foi substituído por um novo, permanecendo assim até completar 72h de cultivo. Em seguida, as células foram fixadas com glutaraldeído (2,5%), tamponado com PBS (solução tampão de fosfato) a 0,2 mol/L e

logo foram desidratadas em soluções aquosas com concentração crescente de etanol [7,5% (2x10min), 15% (2x10min), 30% (2x10min), 50% (2x10min), 70% (3x15min), 90% (2x15min) e 100% (2x10min)] e submetido à secagem acima do ponto crítico em CO₂. Os espécimes foram analisados por MEV após metalização com uma camada de ouro. O uso de BMMSCs foi aprovado pelo comitê de ética e está registrado sob o protocolo CEUA 0235/2018.

2.6 Análise estatística

Os resultados experimentais de viabilidade celular, análise composicional semiquantitativa por EDS e dureza estão apresentados como média \pm DP, usando barras de erro nas figuras. Cada conjunto passou pelo teste de normalidade e uma comparação foi feita entre os grupos usando o teste t e Mann-Whitney. O software utilizado foi o GraphPad Prism v.7.0 e as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização dos pós após moagem de alta energia

A Figura 2 apresenta a evolução morfológica dos pós após mistura e moagem a 200 rpm a 0, 40 e 60 min, respectivamente. Sabe-se que durante o processo de moagem, as partículas são submetidas a diversos processos mecânicos, como deformações plásticas e fraturas dos pós elementares [19]. A fim de promover uma diminuição na soldagem a frio e reduzir a agregação [20], foi utilizado álcool etílico. As partículas se achatam pelas constantes colisões entre as bolas do moinho e, então partículas lamelares são produzidas. Desta forma, ocorre um aumento no tamanho das partículas em duas dimensões nas primeiras etapas de moagem (FIGURA 2A e A'). Nesta fase a mistura apresenta partículas com morfologias irregulares e esféricas. Pela moagem adicional, a deformação plástica dos pós leva ao processo de fratura, reduzindo seus tamanhos, iniciando o processo de refinamento da microestrutura. Isso ocorre aos 40 min de moagem (Figura 2B e B').

Nesta primeira etapa, as partículas ainda não apresentam morfologia esférica, porém, a redução de tamanhos é perceptível, confirmando a eficiência do processo. Além disso, essas características indicam que foram submetidos às ações físicas já mencionadas. As Figuras 2C e C' referem-se à moagem por 60 min, e observa-se que

este tempo foi suficiente para que as partículas passassem pelo processo de cisalhamento [21, 22 e 23], reduzindo significativamente seu tamanho. Esta diminuição no tamanho torna as partículas mais reativas, porque a área de contato efetiva aumenta consideravelmente. Segundo a literatura, partículas menores e mais finas podem preencher os espaços entre os pós, aumentando seu empacotamento [24] e conseqüentemente tornando os materiais mais resistentes à fratura. Uma distribuição bimodal de partículas grandes e finas leva sempre a um empacotamento maior. No entanto, a porosidade tende a diminuir com isso [25].

Em 60 min, os pós apresentam maior superfície de contato com aumento na interação entre eles. Partículas mais planas e com maior superfície de contato (Figura 2C e C') se deformam mais durante o processo de compactação, após a moagem [26]. Assim, um processo de moagem prolongado pode não ser necessário [27] podendo ao contrário promover maior formação de aglomerados, tornando o processo menos eficaz. Além disso, no caso de uma mistura de hidretos, onde as partículas são frágeis, o processo pode ser mais eficaz requerendo menor tempo para alcançar a homogeneidade e refinamento da microestrutura.

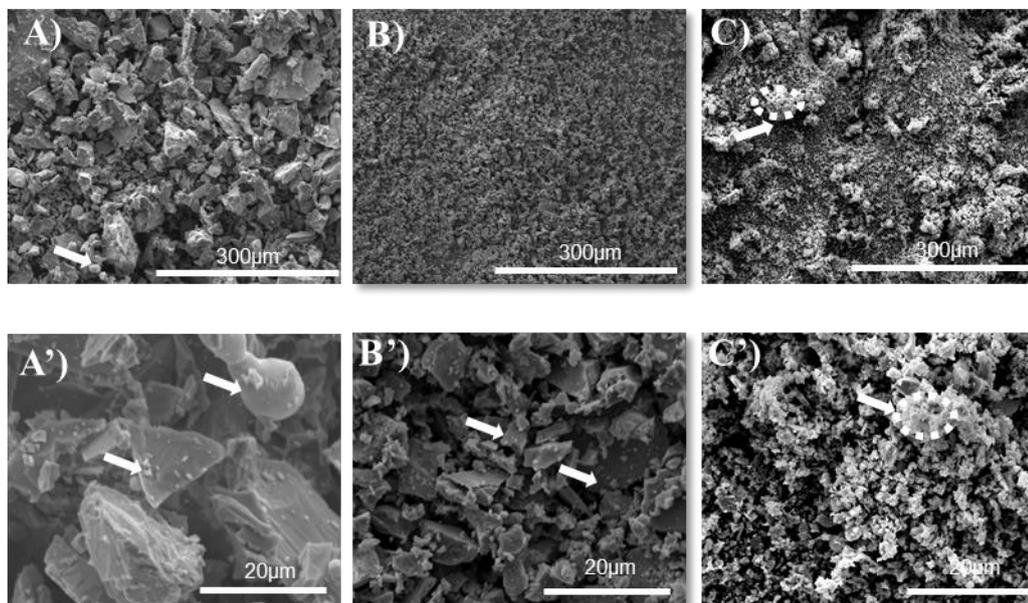


Figura 2. Morfologia do tamanho de partícula dos pós de Ti-H, Nb-H, Sn e Mg cujas misturas foram preparadas por moagem a 200 rpm por 40 e 60 min obtidas por MEV: (A) e (A') representam a mistura dos pós no tempo 0 min; (B) e (B') representam os

pós após moagem durante 40 minutos (aumento de 500 e 2000x) e (C) e (C') representam os pós após moagem durante 60 min.

A autocombustão do pó foi observada com tempo de moagem superior a 60 min e/ ou velocidades de rotação superiores. Assim, para preparar o material com a temperatura de sinterização de 700°C, utilizou-se o tempo de mistura de 60 min e 40 min para 800°C, ambos a 200 rpm. Os pós das amostras também foram avaliados quanto à distribuição dos elementos Ti, Nb, Sn e Mg (Figura 3A e B) utilizando EDS. Em 40 min, observa-se que os elementos Ti, Nb e Mg estão distribuídos com relativa homogeneidade (Figuras 3A). As partículas de Sn apresentam-se mais agregadas (Figura 3A), provavelmente porque a fase de endurecimento e fratura é tardia em comparação com os outros elementos.

Sabe-se que o Sn é mais solúvel que o Nb em Ti [28], portanto, suas partículas podem ser incorporadas mais facilmente que o Nb, mesmo que aglomerado. Em 60 min de moagem (Figura 3B), as partículas de Ti, Nb, Sn e Mg estão melhor distribuídas. A Tabela 1 mostra a percentagem em massa da composição das misturas de pó nos tempos T0, 40 e 60 min. Os valores de Ti e Nb são relativamente próximos do nominal. No entanto, o conteúdo Sn é sempre menor do que o nominal. Uma das causas está no fato da energia para ejetar os elétrons da camada $K\alpha$ do Sn ser alta requerendo a aceleração dos elétrons usando uma tensão acima do limite do equipamento. Já outra, é que as partículas de Sn podem ter sido aderidas em maior extensão nas jarras e bolas e, portanto, perdendo sua proporção, já que é o único metal plástico que foi introduzido.

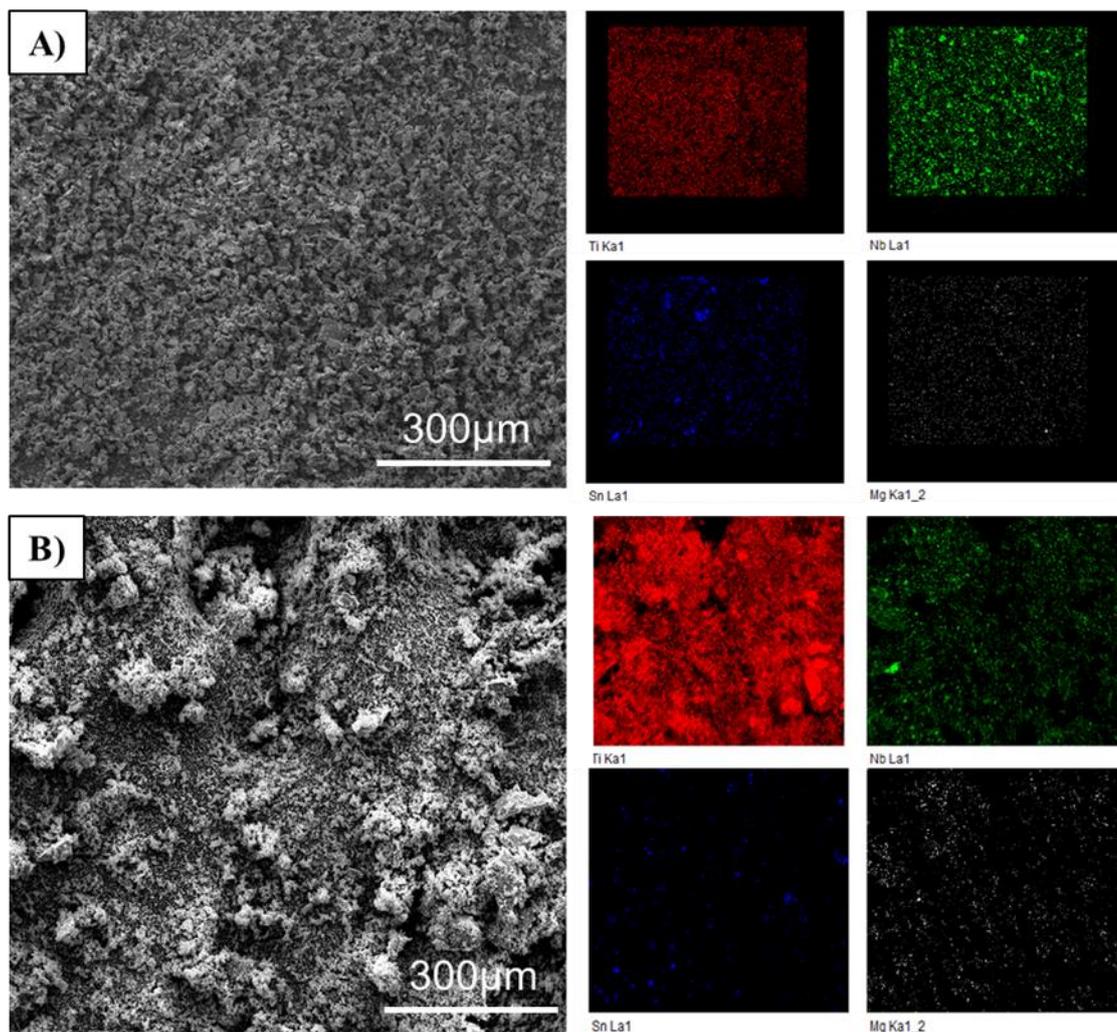


Figura 3. Análise por EDX (mapeamento) da distribuição dos elementos Ti, Nb, Sn e Mg após moagem a 200 rpm por (a) 40 min e B) 60 min em alta energia.

Tabela 1. Análise composicional semiquantitativa, por EDX, (% em massa) dos pós precursores após o processo de moagem (T0 - a 0 min; T40 - após 40 min de moagem e T60 - após 60 min).

	Ti (%wt)	Nb (%wt)	Sn (%wt)
T0	62±1	33±1,5	5±1
T40	63±1.4	28±9,2	3±0,7
T60	65±6	27±6	3±1,5

A Figura 4 mostra o padrão de difração de raios X da mistura dos pós, com 40 min de moagem. O difratograma é composto de padrões de difração de todos os componentes, como Ti, Nb e Sn, com Ti sob uma estrutura hexagonal compacta (hcp), (fase α), Nb sob uma estrutura cúbica de corpo centrado (ccc), (fase β) e Sn sob a fase hcp. A mistura contendo o Mg apresenta um pico de MgO confirmando a oxidação parcial do espaçador durante o processo de homogeneização do pó. Além disso, nota-se que a intensidade dos picos de Ti e Nb na amostra com espaçador diminuiu (Figura 4). A diminuição na intensidade de alguns picos de Ti em relação aos de Nb, principalmente com Mg, pode ser devido à diminuição do tamanho do cristal ou / e deformação do arranjo regular e tensão na rede durante as ações físicas da alta energia, moagem e / ou mudança na distribuição dos componentes de hidreto [20].

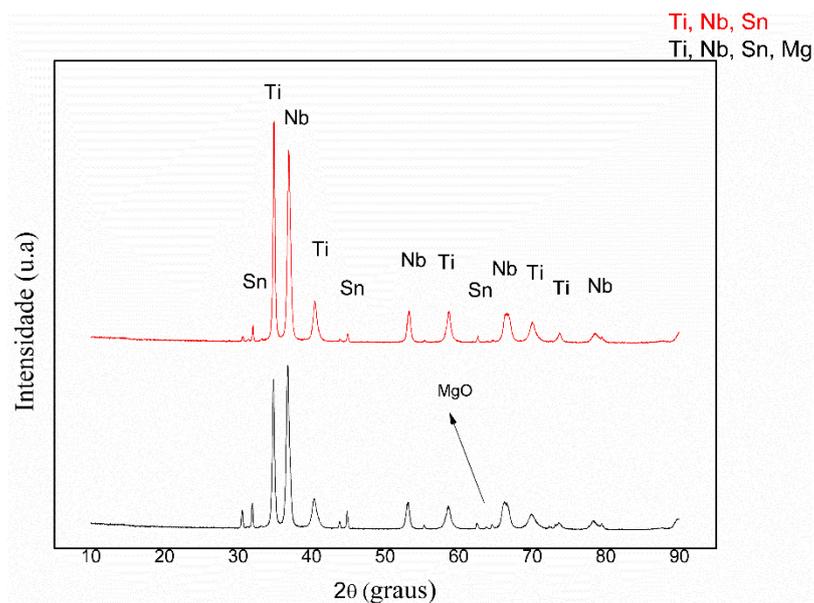


Figura 4. Padrão de difração de raios X da mistura dos pós de Ti, Nb, Sn e Mg, com 40 min de moagem.

3.2 Caracterização microestrutural das ligas Ti-34Nb-6Sn e Ti-34Nb-6Sn/Mg por DRX

Nos difratogramas da Figura 5, observa-se que a temperatura proporcionou a formação dos materiais sob duas fases: fase α e β , e que nenhum Sn ou Mg permaneceu em seu estado elementar. Não se detectou óxidos ou nitretos como TiO e TiN, além de óxidos de magnésio. O refinamento estrutural mostrou que nos

materiais sinterizados a 700°C (Figura 6A), 44% em massa foram estruturaram-se sob fase α e 56% sob fase β , na ausência de Mg.

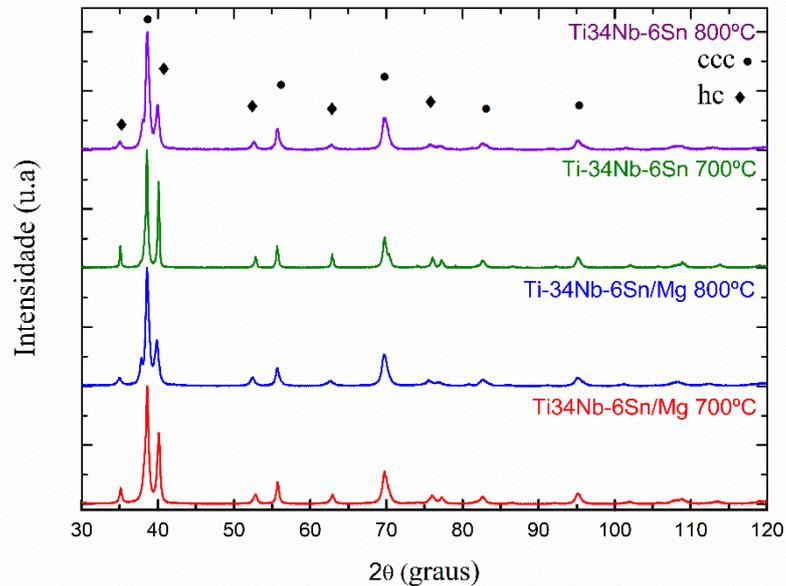


Figura 5. Padrão de difração de raios X após sinterização.

No refinamento, foram usadas as massas de 95,734 g/célula unitária (Ti) e 185,812 g/célula unitária (Nb) para as fases α e β , respectivamente, apesar de ser uma liga ternária. A razão está no fato das fases β de Ti e Nb serem isomórficas com uma diferença muito pequena no parâmetro de rede ($a = 0,33065$ nm para Ti e $0,33066$ nm para Nb), ou seja, não há diferença no padrão de difração e não é possível refinar a ocupação. Na presença de Mg, a fase α foi de 43% e a fase β foi de 57% sob as mesmas considerações. Na sinterização a 800°C (Figura 6B) sem Mg, a fase α foi de 33% e a fase β , de 67%. Em relação à liga com Mg, a proporção foi de 37% e 63% para as fases α e β , respectivamente.

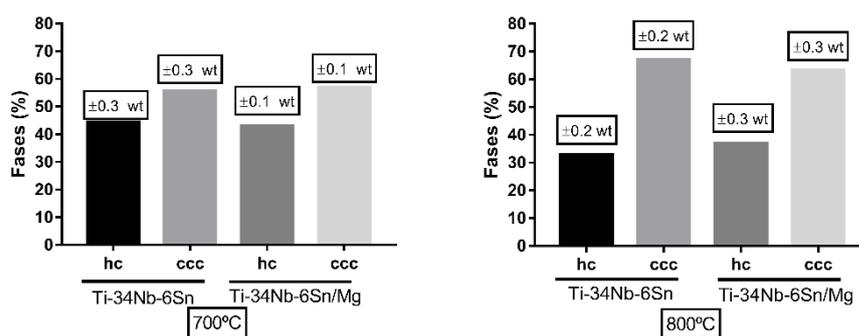


Figura 6. Composição de fases encontradas por difração de raios X e refinamento estrutural (método de Rietveld) para amostras obtidas por sinterização a: (a) 700°C e (b) 800°C.

3.3 Avaliação por MEV e EDX dos materiais sinterizados

A Figura 7 mostra as imagens obtidas por um detector de elétrons retroespalhados. Consistem em regiões com contraste mais escuro, que se refere às fases mais ricas de Ti (menor número atômico), com a estrutura hcp e pobres em elementos estabilizadores do tipo β (número atômico maior), e região de contraste mais claro referente à fase β mais rica em Nb com estrutura bcc. O Nb em ambas as temperaturas de sinterização não parece ter se dissolvido completamente, porque no contraste mais claro, a porcentagem de Nb é maior do que Ti (ver Tabela 3). No contraste escuro, a porcentagem de Ti é maior do que Nb.

A porção referente ao contraste mais claro aumentou com a temperatura de sinterização, indicando que houve enriquecimento nas fases que possuem elementos de maior número atômico, não sendo necessariamente acompanhado pela formação de uma liga homogênea. A razão da área escura / clara que era 70:30 sem Mg e mudou para 40:60 (a 700°C) com Mg. A mesma razão mudou de 40:60 para 36:64 sem e com Mg, respectivamente, a 800°C. Nas amostras obtidas a 700°C, as regiões mais escuras e mais claras não estão suficientemente segregadas para o cálculo das áreas, mas aquelas obtidas a 800°C, os resultados corroboram com os dados de DRX. A análise composicional semiquantitativa total mostrou que os constituintes estão em quantidades próximas do nominal para todas as amostras (Tabela 2), exceto para o componente Sn.

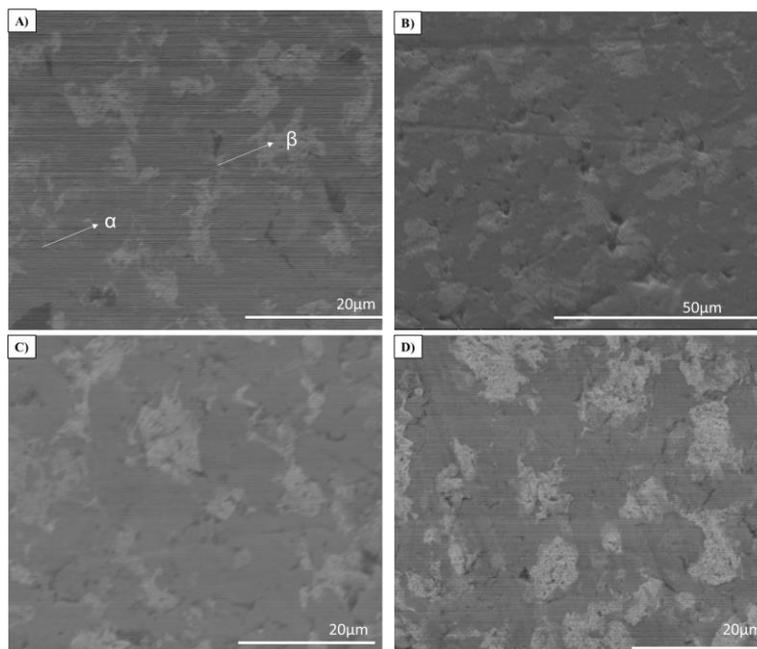


Figura 7. MEV dos materiais sinterizados a 700°C e 800°C. (A) Ti-34Nb-6Sn (B) Ti-34Nb-6Sn/Mg a 700°C. (C) Ti-34Nb-6Sn (D) Ti-34Nb-6Sn/Mg a 800°C.

Tabela 2. Análise composicional semiquantitativa, por EDX, (% em massa) dos materiais sinterizados.

	Ti (wt%)	Nb (wt%)	Sn (wt%)	Mg(wt %)
Ti-34-Nb-6-Sn 700°C	67	33	-	sem Mg
Ti-34-Nb-6-Sn 700°C/Mg	espaçador			1
Ti-34-Nb-6-Sn 800°C	67	32	-	sem Mg
Ti-34-Nb-6-Sn/Mg 800°C	61	35,5	3,5	-

As análises composicionais diferenciadas por regiões de diferentes contrastes estão apresentadas na Tabela 3. São dados das regiões que estão indicadas nas imagens da Figura 7. Existem variações nas composições, principalmente em amostras obtidas a 700°C, provavelmente devido a insuficiente segregação das fases como mencionado acima. Também não se pode garantir que o sinal que chega ao detector de EDX provém apenas dos grãos com o contraste escolhido. Porém, os três

componentes estão presentes em ambas as regiões, sendo que na de contraste mais claro, ainda que o Nb predomine, o conteúdo de Ti é maior do que a quantidade de Nb na região de contraste mais escuro onde há predominância de Ti, o que confirma a baixa difusividade de Nb no Ti nas temperaturas estudadas.

Tabela 3. Análise composicional semiquantitativa, por EDX, das regiões claras e escuras indicadas na Figura 7.

	Ti (wt%)	Nb (wt%)	Sn (wt%)	Mg(wt%)
Ti-34-Nb-6-Sn 700°C	24,9 clara	75,1	-	-
	95,1 escura	4,9	-	-
Ti-34-Nb-6-Sn 700°C/Mg	2,8 clara	96,6	-	0,6
	97,5 escura	2,5	-	-
Ti-34-Nb-6-Sn 800°C	32,3 clara	63,7	4	-
	73,1 escura	25,6	1,3	-
Ti-34-Nb-6- Sn/Mg 800°C	11,2 clara	86,8	1,5	0,5
	89,4 escura	6,3	4,3	-

A distribuição dos elementos nas respectivas regiões foi analisada por mapeamento com detector EDX. De acordo com a Figura 8 em ambas as sínteses, a 700 e 800°C apresentou baixa homogeneidade do Ti e Nb. No entanto, a 800°C o conteúdo de partículas de Nb diminuiu. Os elementos estão bem distribuídos cada uma das regiões de mesmo contraste (claro e escuro) e o Sn está homogeneamente distribuído independente das fases e para qualquer uma das temperaturas de sinterização, embora fora detectado apenas na síntese a 800°C. O Nb é um estabilizador de fase β isomórfico e devido à sua baixa difusão no Ti, não se concentra ou se aglomera facilmente. Por outro lado, Sn é um estabilizador neutro, sua difusão no Ti é mais significativa [29, 30]. Além disso, o Sn funde primeiro do que os outros materiais, pois apresenta ponto de fusão inferior (231,9°C). O Sn fundido flui para os poros das partículas de Ti ou Nb por forças capilares e aí sua difusão na estrutura de Ti ou Nb é favorecida, sendo facilmente incorporado. A ausência de picos de Sn no padrão de DRX, bem como a formação das fases α e β podem indicar sua

incorporação na rede cristalina de Ti e Nb, ou estar concentrada nos contornos de grão. Quanto ao Nb, é certo que induz a transformação da fase β .

A eficácia do processo de evaporação do Mg foi parcialmente alcançada em ambas as temperaturas de sinterização (700°C e 800°C), e foi detectada na região de contraste mais claro a presença de partículas remanescentes (Figura 8B e 8D)

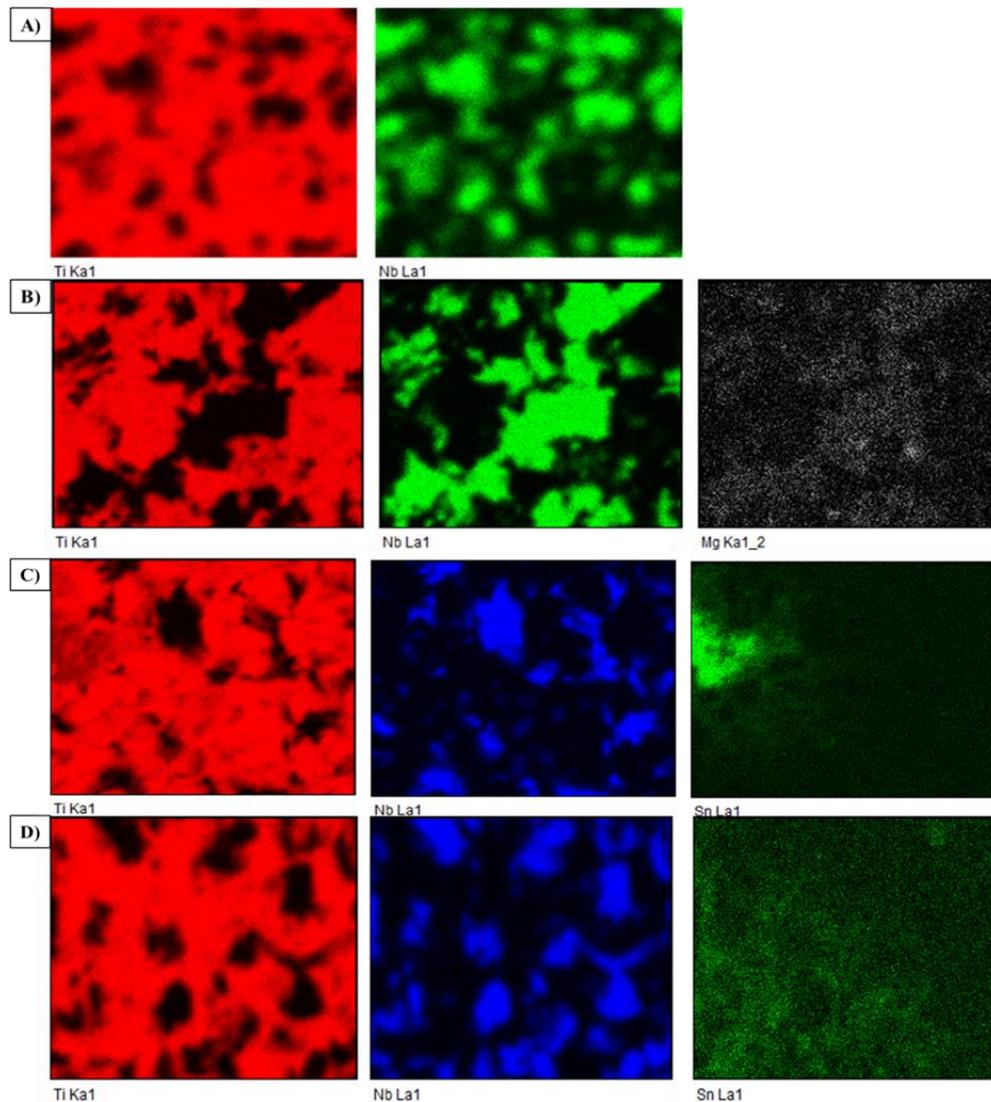


Figura 8. Mapeamento de elementos por EDX após sinterização a 700 e 800°C. (A) e (B) Ti-34Nb-6Sn e Ti-34Nb-6Sn/Mg a 700°C. (C) e (D) Ti-34Nb-6Sn e Ti-34Nb-6Sn/Mg a 800°C.

3.4 Análise da porosidade

A Figura 9 mostra que o tempo de moagem e a temperatura de sinterização resultam em materiais com porosidades diferentes, bem como com tamanhos e

morfologias diferentes. Na sinterização a 700°C (Figura 9A e B) nota-se a presença de microporosidade em relação a 800°C (Figura 9C e D). Os poros na faixa de 10 a 100 µm com elevada rugosidade são formados a 700°C, enquanto que sinterizados a 800°C estão na faixa de 100 a 300 µm. Os materiais que receberam Mg como espaçador (Figura 9B e D) apresentaram maior tamanho de poro quando comparados aos seus respectivos controles (Figura 9A e C). Além disso, a porosidade aparente diminuiu com o aumento da temperatura de sinterização (Tabela 4), de 23% para 21%, sem Mg, de 38% para 28% com Mg. Alguns estudos revelaram que a faixa ótima de porosidade de um implante para o crescimento ósseo está entre 20 a 50% [31].

Na Figura 9A, observe a formação de macroporos com elevada rugosidade com aproximadamente 100µm, além de diversos microporos formados ao redor (seta tracejada). A rugosidade, juntamente com a formação de porosidade, pode auxiliar na adesão, crescimento e proliferação das células ósseas [32]. Os microporos têm tamanhos na faixa de 2 a 5µm. De acordo com alguns estudos, são classificados como microporos quando são menores que 10µm [32]. Embora alguns estudos considerem que o tamanho dos poros não influencia a interface osso-implante [33, 34], outros sugerem que materiais com porosidade na faixa de 250-600µm são adequados para aplicação ortopédica [35] e outros que poros entre 100-400 µm fornecem permeabilidade suficiente para a mineralização óssea [36]. Qualitativamente, a homogeneização de 60 min promoveu maior formação de microporos em relação aos materiais com 40 min de moagem, possivelmente devido ao menor tamanho de partícula e baixa temperatura de sinterização (700°C) [36,33].

Com relação a microporos, estudos mostraram que eles não são desejados nos arcabouços, pois podem reduzir a seção transversal de suporte de carga e consequente deterioração na resistência à compressão dos mesmos [37, 38, 39]. No material sinterizado a 800°C (Figura 9C e D) com os pós moídos por 40 min, houve menor formação de microporos e macroporos apresentam tamanhos maiores, na faixa de 200µm para o material sem espaçador (Figura 9C) e 300µm para o material que recebeu o espaçador (Figura 9D). A diminuição da microporosidade foi acompanhada da diminuição da porosidade. A Tabela 4 mostra que com o aumento da temperatura de sinterização, houve diminuição da porosidade aparente.

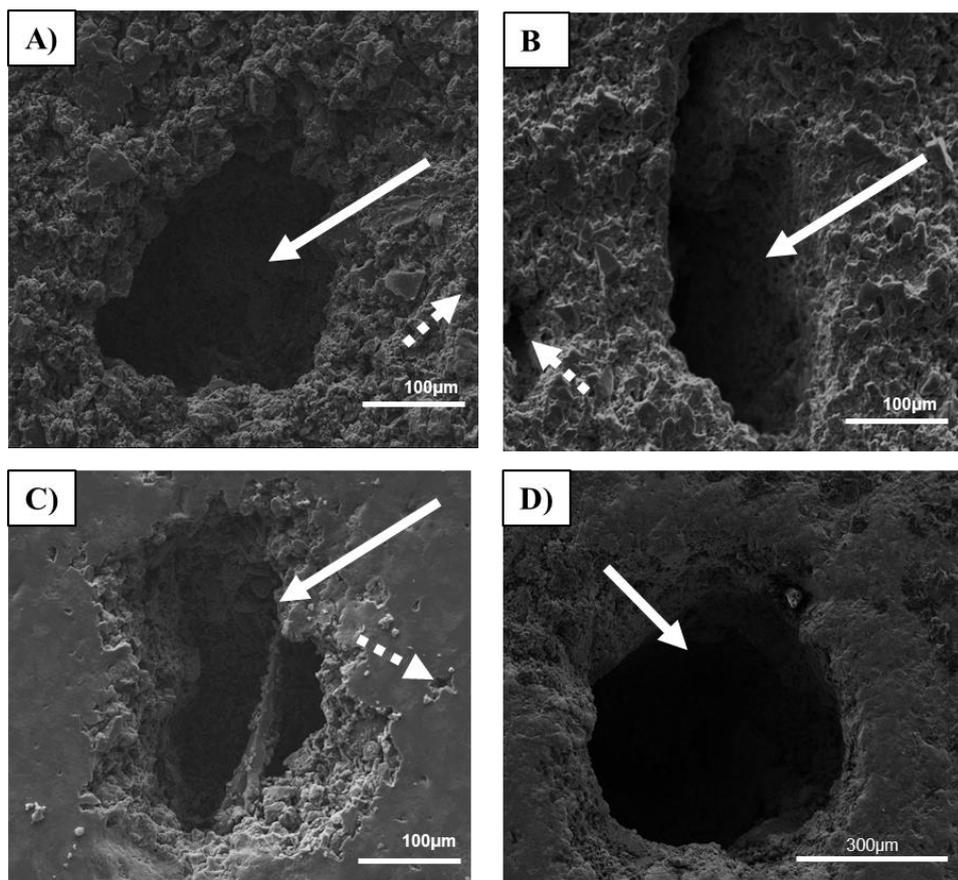


Figura 9. Avaliação da porosidade por MEV. (a) e (b) micro e macroporos em materiais sinterizados a 700°C sem e com espaçador, respectivamente; (c) e (d) micro e macroporos em materiais sinterizados a 800°C sem e com espaçador, respectivamente. As setas tracejadas indicam os microporos e as setas contínuas indicam os macroporos.

Tabela 4. Porosidade dos materiais sinterizados determinada pelo método de Arquimedes.

Materiais	Porosidade aparente % vol (SD)
Ti-34Nb-6Sn (700°C)	23±0,5
Ti-34Nb-6Sn/Mg (700°C)	38±0,6
Ti-34Nb-6Sn (800°C)	21±1,4
Ti-34Nb-6Sn/Mg (800°C)	28±0,3

3.5 Comportamento de Dureza

De acordo com os dados da Tabela 5, a dureza das amostras sinterizadas a 700°C foi menor que as amostras sinterizadas a 800°C. Normalmente, a porosidade dos materiais sinterizados diminui, e a distribuição dos poros muda com o aumento da temperatura, uma vez que o transporte de massa é maior em temperaturas mais altas, o que leva a uma maior formação de ligações partícula-partícula mais eficientes [40]. No caso das amostras sem Mg, a porosidade (Tabela 4), não se alterou significativamente, mas a fração da fase β aumentou de 55,6% para 67,1%. O aumento da dureza, portanto, está principalmente associado a este fato. É evidente que o transporte de massa ocorreu à medida que houve as mudanças na fração de fase e evidente mudança na distribuição de porosidade.

O efeito da temperatura foi maior para as amostras contendo Mg, provavelmente porque sua evaporação é mais intensa na faixa de temperatura utilizada. O efeito do espaçador foi menor para a síntese a 800°C, com menor diferença tanto entre a dureza, quanto o efeito da temperatura na dureza, a porosidade e fração da fase β foi maior nas amostras com Mg. Deve-se lembrar que a composição de Mg determinada por EDX não é precisa devido ao baixo teor desse elemento nas amostras. Os valores de dureza encontrados são próximos ao c.p-Ti (136 HV), considerando que a fração das fases α e β e microestruturas são substancialmente diferentes das do presente trabalho [41].

Em ligas semelhantes, o valor de dureza encontrado foi 158 HV para Ti-33.6Nb4Sn [42] e 173 HV para Ti-30Nb-4Sn [43]. Como a proporção de dureza e porosidade dos materiais aplicados à ortopedia é extremamente importante para mimetizar o tecido ósseo, cabe destacar que a dureza dos materiais aqui sintetizados é semelhante à dos materiais já comercializados [44].

Tabela 5. Dureza Vickers.

Material	Temperatura	Dureza (HV)
Ti-34Nb-6Sn	700°C	146±16
Ti-34Nb-6Sn/Mg	700°C	92±10
Ti-34Nb-6Sn	800°C	153±12
Ti-34Nb-6Sn/Mg	800°C	120±20

3.6 Efeito biológico causado pelo tratamento de BMMSCs após 24 horas em contato com os materiais sinterizados

A Figura 10 representa o efeito biológico do meio condicionado com os materiais obtidos por sinterização a 700 e 800°C nas BMMSCs. Observe que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na viabilidade celular após 24h de cultivo em meio condicionado (Tratado) em comparação com o grupo controle. Esse achado pode ser devido à ausência de íons ou partículas tóxicas liberadas no meio de cultura, não influenciando a viabilidade das células após 24 horas de tratamento. Essa análise é extremamente importante, pois em um ambiente biológico, o primeiro contato com o biomaterial é feito por células-tronco que posteriormente se diferenciam em células ósseas e aderem ao implante, permitindo uma boa osteointegração [45,46].

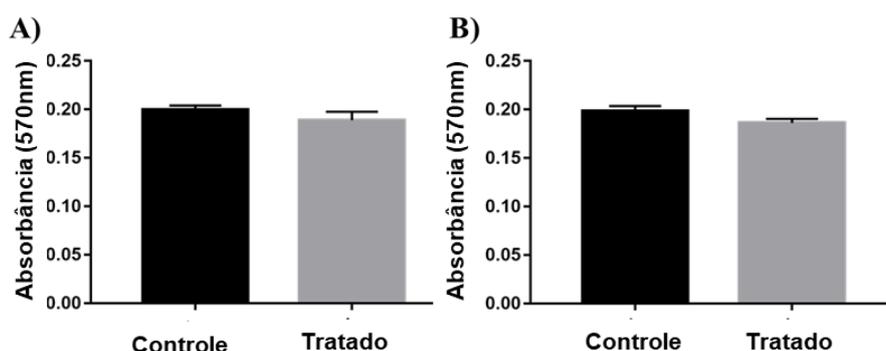


Figura 10. Viabilidade celular das BMMSCs após 24h de cultivo em meio condicionado com as amostras sinterizadas a (a) 700°C e (b) 800°C. Medições de absorbância realizadas usando um leitor de microplacas com um λ de 570 nm.

3.7 Adesão das BMMSCS na superfície dos materiais sinterizados

No teste de crescimento de 72 horas, as células aderiram a praticamente toda a superfície do material, bem como no interior dos poros (Figura 11). Apresentaram filopódios celulares, que indicam boa adesão, sendo que as células que cresceram sobre amostras obtidas a 800°C são mais arredondadas. Não é possível quantificar as células aderidas, entretanto, a proliferação e adesão celular foram maiores nos materiais mais ricos em macroporos, ou seja, materiais com Mg. Observa-se também que após 72 horas em contato direto com a superfície dos materiais, as células estão mais aderidas e com maior confluência na superfície das amostras preparadas com o

espaçador (Figura 11B e D). Isso pode ser devido a dois fatores: maior formação de porosidade e preferência das células por essas regiões mais rugosas, que mimetizam o tecido ósseo natural (arcabouço). Porém, a 700°C são observados os filopódios celulares, o que indicaria a melhor adesão, enquanto que a 800°C as células são mais arredondadas, mas também apresentam formação de filopódios. Um segundo fator a ser levado em consideração seria o Mg, que não evaporou completamente. A sua presença poderia auxiliar na adesão das células, pois aumenta a osteocondutividade do material (propriedade de indicar o caminho para o crescimento ósseo, na superfície ou nos poros). Íons divalentes como Mg^{2+} , Ca^{2+} ou Mn^{2+} podem se ligar a locais presentes no domínio extracelular das subunidades das integrinas [47], que são proteínas transmembrana responsáveis pela adesão celular [48].

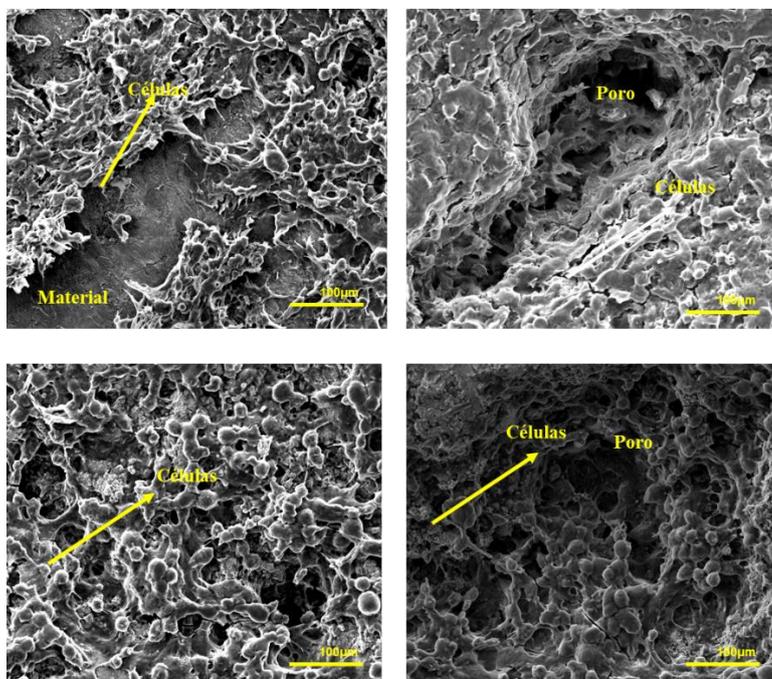


Figura 11. MEV das BMMSCs aderidas às amostras após 72 horas de cultura sobre: (a) amostra sinterizada a 700°C sem Mg; (b) amostra sinterizada a 700°C com Mg; (c) amostra sinterizada a 800°C sem Mg e (d) amostra sinterizada a 800°C com Mg.

4. Conclusão

- No tempo de moagem de 40 min, os pós de partida da liga estão melhores distribuídos (menos aglomerados do que a 60 minutos);
A sinterização a 800°C promoveu melhor consolidação da liga, com maior número de macroporos e diminuição dos microporos;

- O aumento da temperatura de sinterização promoveu maior transformação de fase $\alpha \rightarrow \beta$ nos materiais com e sem Mg. Comparado com os materiais que receberam o Mg, não ocorreu um aumento considerável do conteúdo de fase β , mas sim, menor percentual comparado aos materiais sinterizados sem Mg à 800°C.
- No ensaio de viabilidade, em todos os casos obtém-se uma resposta muito boa em relação ao controle;
- As células apresentaram boa preferência na adesão na superfície dos materiais sinterizados;

Essas características podem contribuir para uma melhor biocompatibilidade ao longo do tempo do material quando implantado;

Este trabalho teve o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [processo: 2017 / 13876-2] e do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, no desenvolvimento de materiais, a quem os autores agradecem.

Referências

- [1] E.A Lewallen, S.M Riester, C.A Bonin, H.M Kremers, A Dudakovic, S Kakar, R.C Cohen, J.J Westendorf, D.G Lewallen, A.J van Wijnen. Biological strategies for improved osseointegration and osteoinduction of porous metal orthopedic implants. *Tissue Eng. Part B Rev.* 21(2015) 218–230. [https://doi: 10.1089/ten.teb.2014.0333](https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0333).
- [2] M. Geetha, A.K Singh, R. Asokamani, A.K Gogia. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—A review. *Prog. Mater. Sci.* 54 (2009) 397–425. [https://doi: 10.1016/j.pmatsci.2008.06.004](https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2008.06.004).
- [3] M. Kulkarni, A. Mazare, P. Schmuki, A. Iglic. Biomaterial surface modification of titanium and titanium alloys for medical applications. *Nanomedicine*. One Central Press; Manchester, UK. (2014) 111-133.
- [4] J.R Davis. *Handbook of Materials for Medical Devices*. 4th ed. ASM International; Novelty, OH, USA. (2006).
- [5] M. Niinomi, T. Narushima, M. Nakai. *Advances in Metallic Biomaterials*. Springer; Berlin/Heidelberg, Germany (2015).

- [6] D. Churakova, D. Gunderov, A. Lukyanov, N. Nollmann, *Acta Metall. Sin. (Engl. Lett.)* 28 (2015) (10), 1230. <https://10.1007/s40195-015-0317-6>.
- [7] Y.C. Lin, H. M. Chen, Y.C. Chen, *Mater. Des.* 54, 222 (2014).
- [8] G.J. Feng, Z.R. Li, R.H. Liu, S.C. Feng, *Acta Metall. Sin. (Engl. Lett.)* 28(4), 405 (2015).
- [9] L.M.R. De Vasconcellos, Y. Rodarte, R.F. do Prado, L.G.O. de Vasconcellos, M.L.D. Alencastro Graa, C.A. Alves. Porous titanium by powder metallurgy for biomedical application: Characterization, cell cytotoxicity and in vivo tests of osseointegration. In: Hudak R., editor. *Biomedical Engineering—Technical Applications in Medicine*. InTech. (2012). <https://doi: 10.5772/47816>.
- [10] A. Cremasco, A.D. Messias, A.R. Esposito, D. Eliana Aparecida de Rezende, R. Caram. Effects of alloying elements on the cytotoxic response of titanium alloys. *Mater. Sci. Eng. C.* 31(2011) 833–839. <https://doi: 10.1016/j.msec.2010.12.013>.
- [11] D.G. Barceloux. Vanadium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 37 (1999) 265-278.
- [12] J.K. Marquis. Aluminum neurotoxicity: an experimental perspective. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 29 (1982) 43-49.
- [13] K. Miura, N. Yamada, S. Hanada, T-K. Jung, E. Itoi. The bone tissue compatibility of a new Ti–Nb–Sn alloy with a low Young’s modulus. *Acta Biomater.* 7 (2011) 2320–2326. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.02.008>.
- [14] H. Matsumoto, S. Watanabe, S. Hanada. Beta TiNbSn alloys with low Young’s modulus and high strength. *Mater Trans.* 46(2005) 1070–1078. <https://doi.org/10.2320/matertrans.46.1070>.
- [15] L.M.R. de Vasconcellos, C.A.A. Cairo, L.G.O. de Vasconcellos, M.L. de Alencastro Grac, R.F. do Prado, Y.R. Carvalho. Porous Titanium by Powder Metallurgy for Biomedical Application: Characterization, Cell Cytotoxicity and in vivo Tests of Osseointegration, INTECH. (2012) <http://dx. doi.org/10.5772/47816>.
- [16] A. Mansourighasri, N. Muhamad, A. Sulong. Processing titanium foams using tapioca starch as a space holder. *J. Mater. Process. Technol.* 212 (2012) 83–89. <https://doi.org/10.1016/J.JMATPROTEC.2011.08.008>.

- [17] A.C. Larson, R.B. Von Dreele. General Structure Analysis System (GSAS), Los Alamos National Laboratory Report LAUR 86-748 (2000).
- [18] ASTM.E92-82-Standard Test Method for Vickers Hardness of Metallic Materials; ASTM International: Conshohocken, PA, USA, (2003).
- [19] C. Suryanarayana. Mechanical Alloying and Milling. *Progress in Materials Science*. 46 (2001) 1-184. [https://doi.org/10.1016/S0079-6425\(99\)00010-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6425(99)00010-9).
- [20] A. Nouri, P. D. Hodgson, C. Wen. Effect of ball-milling time on the structural characteristics of biomedical porous Ti–Sn–Nb alloy, *Mater. Sci. Eng. C*. 31 (2011), 921–928, <https://doi:10.1016/j.msec.2011.02.011>.
- [21] C.S. Torres, L. Schaeffer. Effect of High Energy Milling on the Microstructure and Properties of Wc-Ni Composite. *Materials Research*. 13(2010) (3): 293-298. <https://doi.org/10.1590/S1516-14392010000300004>.
- [22] A. Kulov, A. Gusev. Phase Equilibria in the W-C System and Tungsten Carbides. *Russian Chemical Reviews*. 75(2006) 687-708. <https://doi.org/10.1070/RC2006v075n07ABEH003606>.
- [23] H.A. Al-Quereshi, A.E. Galiotto, A.N. Klein. On the Mechanical of Cold Die Compaction for Powder Metallurgy. *Journal of Material Processing Technology*. (2005) 166:135-143. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2004.08.009>.
- [24] G. Dercz, I. Matua, M. Zubko, J. Dercz, Phase composition and microstructure of new Ti–Ta–Nb–Zr biomedical alloys prepared by mechanical alloying method, *Powder Diffr.* (2017) 1–7. <https://doi.org/10.1017/S0885715617000045>.
- [25] S.A. Hewitt, T.E. Laoui, K.K Kibble. Effect of Milling Temperature on the Synthesis and Consolidation of Nanocomposite WC–10Co Powders. *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*. (2009) 27:66-73. <https://doi.org/10.1016/j.ijrmhm.2008.03.007>.
- [26] R.W. Heckel. Density-Pressure Relationships in Powder Compaction. *Transactions of The Metallurgical Society of AIME*. 221(1961)671-675.
- [27] J.E. Wert, N.E. Paton, *Metall. Trans. A* 14A (1983) 2535.

- [28] S.Z. Bokshstein, S.T. Kishkin, V.B. Osvenskii, *Met. Sci. Heat Treat.* 2 (1960) 329–332.
- [29] R. Davis, H. M. Flower, D. R. F. West. Martensitic transformations in Ti-Mo alloys. *Journal of Materials Science.* 14(1979)712–722. <https://doi.org/10.1007/BF00772735>.
- [30] X.B. Chen, Y.C. Li, P.D. Hodgson, C. Wen. The importance of particle size in porous titanium and nonporous counterparts for surface energy and its impact on apatite formation. *Acta Biomater.* 5(2009) 2290-2302. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.02.027>.
- [31] S.D. Cook, K.A. Walsh, R.J Haddad. Interface mechanics and bone growth into porous Co–Cr–Mo alloy implants. *Clin Orthop.* 193(1985)271–80.
- [32] A. Nouri, P.D. Hodgson, C. Wen. Biomimetic Porous Titanium Scaffolds for Orthopedic and Dental Applications. in *Biomimetics learning from nature*, InTech. (2010) 415–50.
- [33] A.J. Clemow, A.M. Weinstein, J.J. Klawitter, J. Koeneman, J. Anderson. Interface mechanics of porous titanium implants. *J Biomed Mater Res A.* 15(1981) 73–82. <https://doi.org/10.1002/jbm.820150111>.
- [34] S. Mishra, M.L. Knothe-Tate. Effect of lacunocanalicular architecture on hydraulic conductance in bone tissue: Implications for bone health and evolution. *Anatomical Rec.* 273A (2003)752–62. <https://doi.org/10.1002/ar.a.10079>.
- [35] B. Dabrowski, W. Swieszkowski, D. Godlinski, K.J. Kurzydowski. Highly porous titanium scaffolds for orthopaedic applications. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 95(2010) 53–61. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31682>.
- [36] B. Arifvianto, J. Zhou. Fabrication of Metallic Biomedical Scaffold with the Space Holder Method: A Review. *Materials.* 7(2014) 3588-3622. <https://doi.org/10.3390/ma7053588>.
- [37] G. Kotan, A.S. Bor. Production and characterization of high porosity Ti-6Al-4V foam by space holder technique powder metallurgy. *Turk.J.Eng. Environ. Sci.* 31(2007)149-156.

- [38] W. Niu, C. Bai, G. Qiu, Q. Wang. Processing and properties of porous titanium using space holder technique. *Mater. Sci.Eng. A.* 506 (2009) 148-151. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2008.11.022>.
- [39] I. Mutlu, E. Oktay. Processing and properties of highly porous 17-4PH stainless steel. *Powder Metall. Met. Ceram.* 50 (2011) 73-82. <https://doi.org/10.1007/s11106-011-9305-1>.
- [40] R.M. German. *Powder Metallurgy Science*. New York: Metal Powder Industry Federation; (1990).
- [41] R.L. Fleischer, R.S. Gilmore, R.J. Zabala. Elastic moduli of polycrystalline, intermetallic compounds of titanium. *J. Appl. Phys.* 64(1988) 2964–2967. <https://doi.org/10.1063/1.341558>.
- [42] T. Ozaki, H. Matsumoto, S. Watanabe, S. Hanada. Beta Ti alloys with low Young's Modulus. *Mater. Trans.* 45(2004) 2776–2779.
- [43] C.A.F. Salvador, E.S.N. Lopes, C.A. Ospina, R. Caram. Orthorhombic martensite formation upon aging in a Ti-30Nb-4Sn alloy. *Mater. Chem. Phys.* 183 (2016) 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.08.023>.
- [44] A. Bandyopadhyay, F. Espana, V. K. Balla, S. Bose, Y. Ohgamib, N. M. Davies. Influence of porosity on mechanical properties and in vivo response of Ti6Al4V implants. *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 1640–1648. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.11.011>.
- [45] S.P. Bruder, N. Jaiswal, N.S. Ricalton, J.D. Mosca, K.H. Kraus, S. Kadiyala. Mesenchymal stem cells in osteobiology and applied bone regeneration. *Clin Orthop Relat Res.* (1998) S247–S256.
- [46] T.A. Einhorn. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 355(1998) S7–S21.
- [47] H. Zreiqat, C. Howlett, A. Zannettino, P. Evans, G. Schulze-Tanzil, C. Knabe, M. Shakibaei. Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants. *J.Biomed.Mater.Res.*62 (2002)175–184. <https://doi.org/10.1002/jbm.10270>.

[48] K. Anselme. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*. 21(2000)667–681. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(99\)00242-2](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(99)00242-2).

Artigo científico publicado em *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*

(sob as normas vigentes – anexo 2)

Caracterizações Físicas e Biológicas do Sistema TNbSn/(Mg) Produzido por Metalurgia do Pó para Uso Como Material de Prótese

Physical and Biological Characterizations of Tinbsn/(Mg) System Produced by Powder Metallurgy for Use as Prostheses Material

Mariana Correa Rossi^{1a}, Daniel Leal Bayerlein², Jaqueline de Souza Brandão^{1b}, João Pedro Hübbe Pfeifer^{1c}, Gustavo dos Santos Rosa^{1d}, William de Melo Silva³, Luis Gallego Martinez⁴, Margarida Juri Saeki⁵, Ana Liz Garcia Alves^{1e*}.

¹ São Paulo State University, Regenerative Medicine Lab, Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, UNESP – Botucatu, SP- Brazil. (a: mariana.rossi@unesp.br, b: jaquelinebrandao.s@hotmail.com, c: joao.pfeifer@unesp.br, d: gustavo.s.rosa@unesp.br, e: ana.liz@unesp.br).

² Materials Science and Technology Center, Nuclear and Energy Research Institute (IPEN) and Technological Research Institute (IPT) –São Paulo/SP. danielbayer@usp.br.

³ São Paulo State University, Institute of Biotechnology, UNESP- Botucatu, SP – Brazil. william.melo-silva@unesp.br.

⁴ Materials Science and Technology Centre, Nuclear and Energy Research Institute, Av. Prof. Lineu Prestes 2242 - Cidade Universitária - USP – Butantã, São Paulo, SP - Brazil. lgallego@ipen.br.

⁵ São Paulo State University, Institute of Biosciences (IBB), Department of Chemistry and Biochemistry, UNESP-Botucatu, SP-Brazil. mj.saeki@unesp.br.

Resumo

Arcabouços de titânio com elementos estabilizadores do tipo β não-tóxicos (Nb e Sn), Ti-34Nb-6Sn (TNS), e com magnésio como espaçador (TNS/M), foram produzidos por metalurgia do pó e sinterizados a 800°C. O padrão de difração de raios X (DRX) mostrou que os materiais são ligas bifásicas, apresentando 45 a 42% (% em peso) em hcp (fase α) e o restante estruturado na forma bcc (fase β), e uma leve presença de um pico relacionados ao TiO₂ em ambos os materiais. Poros de aproximadamente 50 μ m para TNS e 300 μ m para TNS/M foram observados na análise micrográfica por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A molhabilidade foi maior para TNS/M em comparação com TNS. O módulo de elasticidade foi maior para TNS em comparação com TNS/M. Células-tronco derivadas de medula óssea equina (BMMSCs) foram

usadas para os ensaios *in vitro*. A avaliação morfológica e de adesão após 72 h, realizada por ensaio de contato direto com os materiais, mostrou que as BMMSCs estavam ancoradas e aderidas aos arcabouços porosos, sendo observada extensões citoplasmáticas. A migração celular, pelo método de "cicatrização de feridas", foi significativa para os grupos tratados com meio condicionado com materiais em 24h. A diferenciação osteogênica das BMMSCs, avaliada pela deposição de cálcio e coloração com Vermelho de Alizarina, foi maior no meio condicionado com TNS/M em 10 dias de cultivo.

Palavras-chave: magnésio, arcabouço, titânio-nióbio-estanho, metalurgia do pó.

1. Introdução

O número de pacientes que necessitam de próteses ortopédicas tem aumentado, devido ao aumento da expectativa de vida e aumento dos acidentes de trânsito [1,2]. Os biomateriais utilizados para esses fins devem ser capazes de substituir as funções do tecido ósseo por um longo prazo e as principais características esperadas são a não toxicidade, módulo de elasticidade semelhante ao tecido ósseo e presença de porosidade. Muitos materiais já foram desenvolvidos formados preferencialmente por ligas de titânio para estabilizá-los em uma estrutura cúbica de corpo centrado (fase β) de menor módulo de elasticidade [3]. Algumas das ligas ainda utilizadas apresentam toxicidade devido a presença de elementos como alumínio, vanádio, níquel e cromo que podem levar a graves distúrbios neurológicos e respiratórios. [4,5]. Em relação à redução do módulo de elasticidade, é desejável minimizar o efeito de proteção contra tensões/estresse, que é um fenômeno biológico causado pela discrepância entre o implante e o módulo de elasticidade do osso. Normalmente, os dispositivos utilizados apresentam módulo de elasticidade maior que os ossos e, conseqüentemente, a carga recebida pelo corpo é em sua maioria absorvida pela prótese, causando o desestímulo para o osso com o tempo, o que ativa a reabsorção óssea [6].

Um tipo de osteoporose ocorre ao redor do implante, que pode levar ao seu afrouxamento e fratura [7]. Alguns materiais já mostraram resultados promissores em termos de rigidez, como Ti-Nb [8], Ti – 11.5Mo – 6Zr – 2Fe [9], Ti – 36Nb – 2Ta – 3Zr [10] Ti – 24Nb – 4Zr – 7.8Sn [11], Ti – 15Mo [12]. Apesar da diminuição dos valores, não se aproxima o suficiente das propriedades dos tecidos ósseos. Além disso,

características morfológicas como porosidade não são pronunciadas para essas ligas. A síntese de arcaçouços metálicos utilizando métodos que proporcionam excelente resistência mecânica pode potencializar o crescimento ósseo dentro deles, melhorando o processo osteointegrativo e diminuindo o fenômeno de reabsorção óssea, visto que a porosidade também pode contribuir para a diminuição do módulo de elasticidade [13]. Ti – 18Nb – 4Sn poroso [14] tem mostrado boa resposta biológica à interação com células osteoblásticas.

No entanto, diversos estudos que utilizaram grandes quantidades de espaçadores relataram baixa resistência mecânica e a corrosão devido à maior fragilidade gerada pelo conteúdo significativo de poros. Segundo Yan e colaboradores., concentrações inferiores a 20% em peso de partículas de bicarbonato de amônio como espaçadores, promoveram melhorias nas propriedades mecânicas e corrosivas [15]. Neste mesmo trabalho, a pressão de compactação utilizada foi de 150MPa. No trabalho de Tao e colaboradores, [16] 5% em peso de magnésio foi usado como espaçador e obteve porosidade na faixa de 20-22%. A resistência à corrosão e as propriedades mecânicas com 5% em peso de magnésio como espaçador para o material Ti-3Cu foram muito promissoras. Neste trabalho, os autores utilizaram uma pressão de compactação de 580MPa, que é significativamente elevada.

A considerável presença de porosidade poderia ser aumentada, diminuindo tanto a pressão de compactação quanto o conteúdo do espaçador, promovendo um bom equilíbrio de custo benefício para a fabricação desses materiais.

Além disso, a presença de grande quantidade de magnésio, conseqüentemente, o conteúdo de oxigênio também aumenta. A correlação positiva entre a dureza dos materiais metálicos e a presença de oxigênio já está comprovada [17] além de produzir materiais mais frágeis. Nesse caso, altas temperaturas de sinterização podem aumentar a resistência mecânica, porém aumentando a densificação do material, ou podem aumentar sua evaporação e diminuir a presença de precipitados de magnésio, o que não poderia contribuir para melhorar as propriedades biológicas.

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de liga de Ti com elementos não-tóxicos (Nb e Sn) por metalurgia do pó, adicionando baixa % de magnésio em massa para a formação de poros, valorizando não só atingir

porcentagem de poros adequados, mas também bom módulo de elasticidade e boas propriedades biológicas.

2. Material e Métodos

2.1 Síntese dos arcabouços

As quantidades de TiH (ASTM F67), NbH (CBMM / Araxá-MG-Brasil) e Sn atomizado (Metalpó / São Paulo-Brasil, 99,99%) para fornecer uma liga com composição em massa de 60% Ti, 34% Nb e 6 % Sn foram misturados e moídos em moinho de bolas planetário (modelo Pulverisette 5 da FRITZCH) nas seguintes condições: vasos de aço com capacidade de 450 mL, esferas de aço com raio entre 2 mm e 3 mm e álcool etílico suficiente para cobrir os pós como um agente dispersante e para evitar o aquecimento. A mistura em pó foi moída a 200 rpm durante 40 minutos e seca sob vácuo. O pó de magnésio, quando utilizado, era equivalente a 2% em massa. A composição utilizada para o preparo desses materiais ainda não foi estudada, mas segundo alguns autores, níveis de Nb próximos a 30% em massa e baixo teor de Sn (até 10%) podem promover a diminuição do módulo de elasticidade sem prejuízo mecânico nas propriedades [18,19].

Os pós secos foram compactados em uma matriz cilíndrica de 1 cm² a 100MPa por 15s. A sinterização foi realizada em forno resistivo de alto vácuo (COMBUSTOL - modelo de forno tubular) acoplado a bombas mecânicas e difusoras (Edwards). A câmara foi previamente purgada com argônio e aspirada duas vezes antes da sinterização a 400°C, por 1 hora, seguido de 800°C, por 2 horas sob vácuo. A moagem de alta energia de hidretos metálicos juntamente com Sn (e magnésio) promoveu homogeneização e reatividade dos pós. A sinterização a 800 °C promove o desligamento do hidrogênio e a formação da liga metálica em temperaturas abaixo do ponto de fusão de seus componentes metálicos, resultando em amostras cilíndricas de 6 mm de altura e 10 mm de diâmetro. O sistema Ti-34Nb-6Sn está referido a seguir como TNS e Ti-34Nb-6Sn / magnésio como TNS/M.

2.2 Preparação Metalográfica

O processo metalográfico foi realizado para eliminar irregularidades e óxidos superficiais formados durante a sua confecção. Este processo foi realizado a 150 rpm em polidora metalográfica (Arotec-Aropol E-200), utilizando uma seqüência de lixas

de 220, 320, 400, 600 e 1200 mesh, sempre em água para evitar o superaquecimento, seguido de polimento com suspensão de alumina 0,3 μ m (nº 3) e 0,05 μ m (nº 2) (Alcrisa-Teclago) a 200 rpm. Por fim, os corpos-de-prova foram limpos em banho ultrassônico em água (18,2 M Ω cm), álcool etílico e acetona por 40 min.

2.3 Caracterização Física

As análises das fases e estruturas cristalinas do arcabouço foram realizadas por difração de raios X (Rigaku-Ultima IV) utilizando radiação CuK α operando a 40 kV e 30 mA em passos de 0,025 ° e tempo de contagem de 10 s/ passo. O refinamento da estrutura e a análise quantitativa da fase foram realizados pelo método de Rietveld, utilizando o software GSAS / EXPGUI [20]. A microestrutura foi avaliada em Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM, FEI, Quanta 200) e detector de Energia Dispersiva de Raios X (Oxford EDS, 51-XXM1119) e Microscópio Ótico (OM). A confirmação da não contaminação por Fe antes e após a moagem foi avaliada com o detector EDX, mostrado na Figura 1. A presença do pico de carbono foi devido à adesão dos pós ao adesivo de carbono. A redução e homogeneização do tamanho de partícula, bem como a circularidade relativa (> 50%) são mostradas na tabela 1.

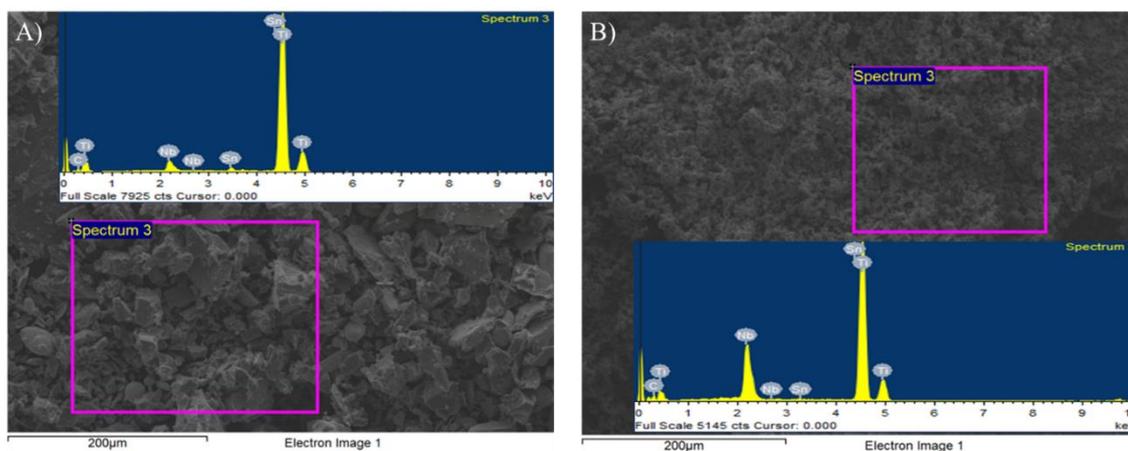


Figura 1. Homogeneização do tamanho das partículas após moagem de alta energia e distribuição dos elementos pelo detector EDX.

Tabela 1. Tamanho de partícula e circularidade antes e depois da moagem.

Pós	Máximo	Mínimo	Média \pm DP	Circularidade
TiH	140,7	5,8	17,4 \pm 10,7	0,60 \pm 0,11
NbH	199,0	5,6	18,3 \pm 12,0	0,59 \pm 0,12

Sn	107,2	5,7	17,1±8,8	0,63±0,15
TiNbSn (Moído)	24,1	3,0	5,8±2,6	0,65±0,11

A densidade e porosidade foram estudadas pelo método de Arquimedes de acordo com a norma ASTM B328. A análise da rugosidade dos poros internos foi realizada em Microscopia Confocal (CM) (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) utilizando o *root mean square* (rms) como parâmetro para a análise da rugosidade. O teste de molhabilidade foi realizado por medidas do ângulo de contato (DataPhysics Optical Contact Angle System OCA 25) das gotas de água na superfície.

O módulo de elasticidade, E (GPa), foi avaliado pela técnica de excitação por impulso (ATCP, Sonelastic®), que é um ensaio não destrutivo para obtenção do E dinamicamente, uma vez que a propagação das frequências de oscilação naturais no material depende do seu E. As medições de microdureza Vickers foram feitas aplicando uma carga de 300 g (~ 3N) e um tempo de permanência de indentação de 60s [21] usando um equipamento HMV-G Shimadzu. A microdureza foi utilizada, pois é possível selecionar áreas (dentro ou fora dos poros usando um microscópio óptico) para dar reprodutibilidade aos testes. Além disso, é mais sensível do que um durômetro convencional.

O teste de susceptibilidade à corrosão foi realizado com o auxílio de um potenciostato/galvanostato (Radiometer Copenhagen, PGZ 301 Voltalab), utilizando uma célula convencional de três eletrodos em solução de Hank, a 25 °C. O eletrodo de Ag/AgCl foi utilizado como eletrodo de referência e o eletrodo de Pt como auxiliar. Os testes eletroquímicos consistiram na medição do potencial de circuito aberto (OCP) (por 24 horas) e polarização abaixo de 0,166 mV /s na faixa de potencial de (OCP-0,2V) a (OCP + 1V).

2.4 Esterilização dos materiais e cultivo celular.

Inicialmente, a cultura de células-tronco mesenquimais da medula óssea (BMMSC), derivada de equino, foi preparada em frascos de cultura de 75 cm², com meio KnockOut DMEM (ThermoFisher Scientific) suplementado com Soro Fetal Bovina (SFB), L-Glutamina, essencial e não -aminoácidos essenciais (GBICO, Life Technologies). Os frascos foram mantidos a 37°C e 5% CO₂ em atmosfera de ar,

trocados por um novo a cada três dias até a confluência completa nos frascos. A coleta e o isolamento da medula óssea de BMMSCs encontram-se aprovados pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) sob o PROTOCOLO CEUA 0235/2018.

Os arcabouços foram limpos em banho ultrassônico com acetona, álcool isopropílico e água deionizada por 40 min, em seguida secos em estufa e esterilizados a 120°C.

2.5 Avaliação morfológica das BMMSCs sob contato direto com scaffolds

O comportamento de adesão celular e sua morfologia foram avaliados pela deposição das BMMSCs (1×10^5 cel/poço) nas superfícies do material e mantidos em contato direto por 72 horas em meio de cultura Knockout DMEM (sem SFB) a 37°C e 5% CO₂ ao ar. Após este tempo, o meio foi removido e foi adicionado glutaraldeído (2,5%) tamponado com solução salina de fosfato 0,2 mol / L (PBS). Em seguida, os materiais com células foram processados por desidratação com soluções de etanol e secos sob o ponto crítico, metalizados com ouro e avaliados por MEV e EDX.

2.6 Ensaio de migração celular

As BMMSCs foram semeadas em placas de 24 poços e após sua confluência, o ensaio de migração celular pelo método *Wound Healing* foi iniciado da seguinte forma: foi feita uma ranhura de 6 mm na camada celular já em confluência nos poços das placas. Em seguida, os grupos controle receberam o meio de cultura convencional e os grupos tratados receberam o meio de cultura previamente acondicionado por 24 h com TNS e ligas TNS/M [22]. A área de cicatrização após intervalo de 24h e 48h foi avaliada por microscopia ótica e analisada pelo software Image J, versão 1.51p.

2.7 Análise de depósito de cálcio por Vermelho de Alizarina

A mineralização na matriz extracelular (ME) foi avaliada com o marcador osteogênico usando vermelho de alizarina para corar os depósitos de cálcio após 10 dias de cultura celular. Inicialmente, as BMMSCs foram cultivadas em meio KnockOut DMEM (ThermoFisher Scientific) a 1×10^4 cel/poço em uma placa de 6 poços até atingir a condição de semiconfluência (~ 3 dias). A partir daí, o meio foi substituído por KnockOut DMEM enriquecido com indutores osteogênicos (soro fetal bovino, ácido ascórbico, β-glicerol fosfato e dexametasona, para induzir a diferenciação em osteoblastos) já condicionados com TNS e TNS/M por 24 horas.

As células foram mantidas em crescimento por 10 dias, para que o meio fosse substituído pelo meio enriquecido e condicionado a cada 48h até completar 10 dias. Com o tempo, os materiais foram mantidos no meio KnockOut DMEM enriquecido com indutores osteogênicos por 9 dias, para fornecer o meio condicionado para o experimento de 10 dias. Os grupos experimentais para esta análise foram: (i) (CTRL) onde as células foram tratadas apenas com meio de cultura convencional; (ii) (CTRL *) onde as células foram tratadas com KnockOut DMEM enriquecido com indutores osteogênicos; (iii) (TT1), tratado com meio de cultura contendo indutores de diferenciação e condicionado com (TNS) e (iv) (TT2), tratado com meio de cultura contendo indutores de diferenciação e condicionado com (TNS/ M).

Para todos os grupos, os meios foram substituídos respeitando o período de 48 horas. Após 10 dias, as amostras de células foram lavadas duas vezes com PBS e depois enxaguadas com solução de paraformaldeído a 4% durante 30 a 45 minutos a 4 °C. As células fixadas com paraformaldeído foram lavadas novamente (PBS) e então coradas com Vermelho de Alizarina, 2% (pH 7,2, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) por 3 min em temperatura ambiente. Este reagente pigmenta nódulos de cálcio indicando a diferenciação osteogênica. Por fim, as amostras foram lavadas em PBS e analisadas em microscópio óptico invertido.

2.8 Análise Estatística

A análise estatística foi aplicada nos módulos elásticos, rugosidade superficial, medidas do ângulo de contato e nos testes biológicos de migração celular. Todos os dados são expressos como média \pm DP. As diferenças estatísticas foram avaliadas por meio do teste T e da análise de variância, seguida do teste de múltiplas comparações, teste de Tukey, após teste de normalidade. As diferenças entre os resultados foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. Foi realizado com o software Graphpad Prism versão 7.0.

3. Resultados e discussão

3.1 DRX

Nos padrões de DRX (Figura 2), duas fases cristalinas podem ser observadas: uma fase hexagonal compacta (hcp) e uma fase cúbica de corpo centrado (bcc), ou fases α e β , respectivamente. Um ligeiro pico de TiO_2 também foi identificado em

ambos os materiais na região em torno de 44° . Nenhuma outra fase ou composto intermetálico foi encontrado. Os dados de DRX foram então refinados pelo método de Rietveld [23] para quantificar as fases do cristal e seus parâmetros de rede. Alpha-Ti (253841-ICSD) e beta-Ti (5475-ICSD) [24] foram usados como estruturas de partida. O bom ajuste dos refinamentos de Rietveld para apenas duas fases (α e β) indica que nenhuma outra fase está presente, como encontrado em outros trabalhos [25-27], sugerindo que a temperatura/tempo empregado não foi suficiente para ativar a formação intermetálica.

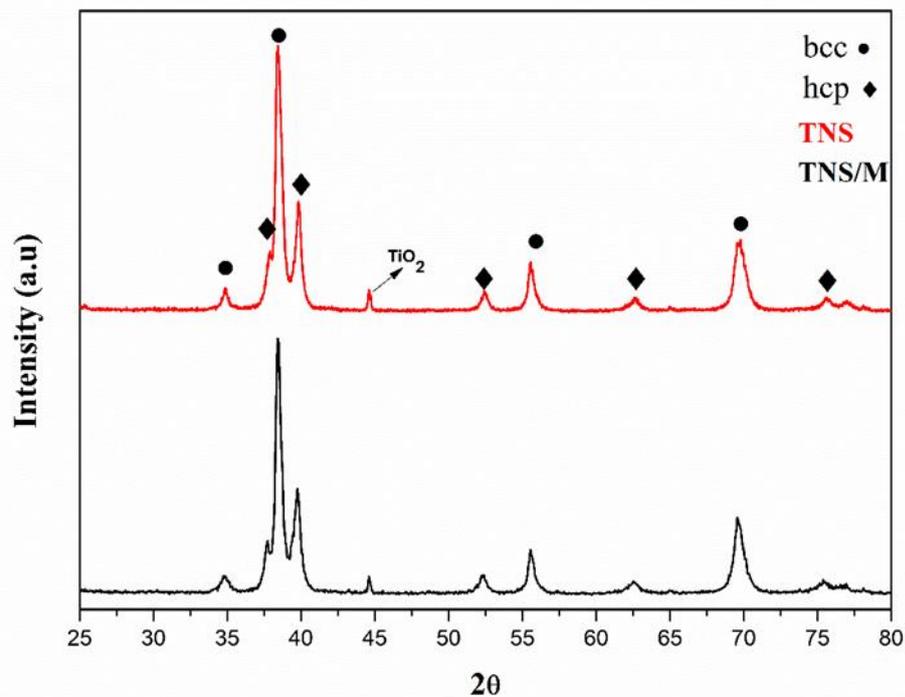


Figura 2. Padrão de difração de raios X normalizado de TNS e TNS / M.

A qualidade dos refinamentos foi boa, como pode ser verificado nos fatores de qualidade de Rietveld (wRp, DWd, X2 e RBragg) apresentados na tabela 2, onde também são apresentados os resultados para % de fase e parâmetros de rede para ambas as fases das amostras. Pode-se notar que a amostra TNS/M apresenta quantidade ligeiramente maior de fase β ($\sim 2\%$) e um pequeno aumento nos parâmetros de rede para ambas as fases. Estes podem ser um indicativo de que a porosidade promovida pelo magnésio e sua baixa solubilidade em Ti [28], podem constituir uma barreira mecânica que influencia a interdifusão de Nb em Ti. Como o

raio atômico do Nb é cerca de 47% maior do que o Ti (Ti: 147 e Nb: 215 pm), a fase β com maior conteúdo de Nb deve ter se formado.

Há uma ligeira variação no parâmetro a_{β} da estrutura bcc, do material sem e com magnésio ($\Delta a = 0,02\%$), visto na tabela 2, confirmando que com o aumento da porosidade ou a presença de partículas de magnésio poderia afetar, o processo de difusão. O conteúdo da fase β aumentou de 54,9% para 57,1%. Sabe-se que as partículas de magnésio, devido à sua alta reatividade com a atmosfera, formam facilmente óxidos, que podem ou não ser eliminados durante o processo de compactação e sinterização. O uso de altas pressões de compactação pode promover a quebra da camada de óxido e maior densificação do material, reduzindo a porosidade. Como a pressão de compactação neste trabalho é baixa (100MPa), os óxidos não são eliminados e podem atrasar o processo de difusão [29]. Este fato pode ser confirmado pelo pico de TiO_2 encontrado no padrão de DRX. O processo de difusão é dificultado pela falta de quebra das camadas de óxido entre as partículas e pela presença de porosidade [30]. Como a fase β aumentou, tanto β -Ti quanto Nb cristalizam na estrutura do tipo W no grupo espacial $Im-3m$, que apresentam ligeira diferença nos parâmetros de rede ($a_{\beta-Ti} = 3,327 \text{ \AA}$ e $a_{Nb} = 3,305 \text{ \AA}$); portanto, é difícil distingui-los usando a técnica de DRX [31,32].

Tabela 2. Fatores de qualidade para Refinamento Rietveld, % em peso das fases e parâmetros de rede para ambas as amostras.

	TNS	TNS/M
wRp	0,1193	0,0827
DWd	1,286	0,903
χ^2	1,607	2,154
R _{Bragg}	0,0314	0,0327
% de fase α		
Wt. %	45,1(1)	42,9(1)
% de fase β		
Wt. %	54,9(1)	57,1(1)
Parâmetros de rede		
fase α		
a (nm)	0,29630(2)	0,29674(1)
c (nm)	0,47466(5)	0,47629(3)

fase β		
a (nm)	0,329881(8)	0,329944(6)

3.2 Avaliação morfológica de sistemas sinterizados.

A Figura 3 apresenta a morfologia dos materiais quanto à distribuição dos poros após a sinterização, por MO assim como, a Tabela 3 apresenta a porosidade determinada pelo método de Arquimedes. Este conjunto de dados mostra que a porosidade é 1,5 vezes maior, bem como o tamanho médio dos poros é maior para TNS/M (Figura 3B) do que TNS (Figura 3A). A Figura 4A mostra imagens de MEV de um poro típico formado no sistema TNS com aproximadamente 50 μm , enquanto a Figura 4B mostra o poro no sistema TNS/M cujo tamanho chega a 300 μm , ambos com rugosidade interior. A maior formação de poros está relacionada principalmente ao tamanho e conteúdo do espaçador, mas também à eficiência do processo de sinterização [33]. O poro de tamanho mais pequeno geralmente está relacionado ao processo de compactação e devido ao processo de sinterização incompleta [34]. O tamanho das partículas de metal também influencia a formação de microporosidade [35].

Relata-se que a redução do tamanho das partículas de Ti promove maiores deformações plásticas e o processo de compactação é mais eficaz, tornando os corpos de prova mais densos após a sinterização [36]. Por outro lado, diminuindo o tamanho da partícula a energia superficial aumenta e, conseqüentemente, pode levar à formação da pequena porosidade que pode acabar favorecendo a deposição de apatita nela [37]. Seja qual for o fator, o sistema TNS/M apresentou tamanho de poro maior que pode ser atribuído à evaporação parcial do magnésio (em torno de 1,3% pela análise EDX) e também confirmando sua concentração ao redor dos poros (ver mapeamento de EDX na Figura 2). Acredita-se que o tamanho ideal do poro é aquele que favorece a vascularização interna e o crescimento ósseo na faixa de 100-400 μm [38]. Assim, o material sintetizado com magnésio tem essa exigência. O mapeamento por EDX mostra também uma distribuição homogênea dos elementos.

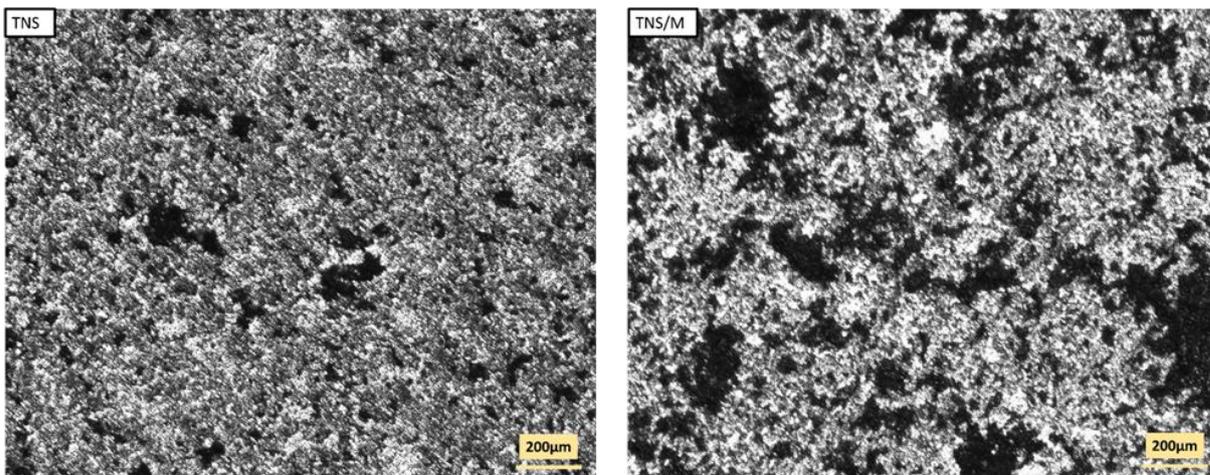


Figura 3. Distribuição dos poros formados por MO após o processo de sinterização.

Tabela 3. Avaliação da porosidade e densidade total por Arquimedes

Materiais	Porosidade (%)	Densidade relativa (%)
TNS	27,19±1,19	72,81± 1,95
TNS/M	40,63±1,13	59,37±0,66

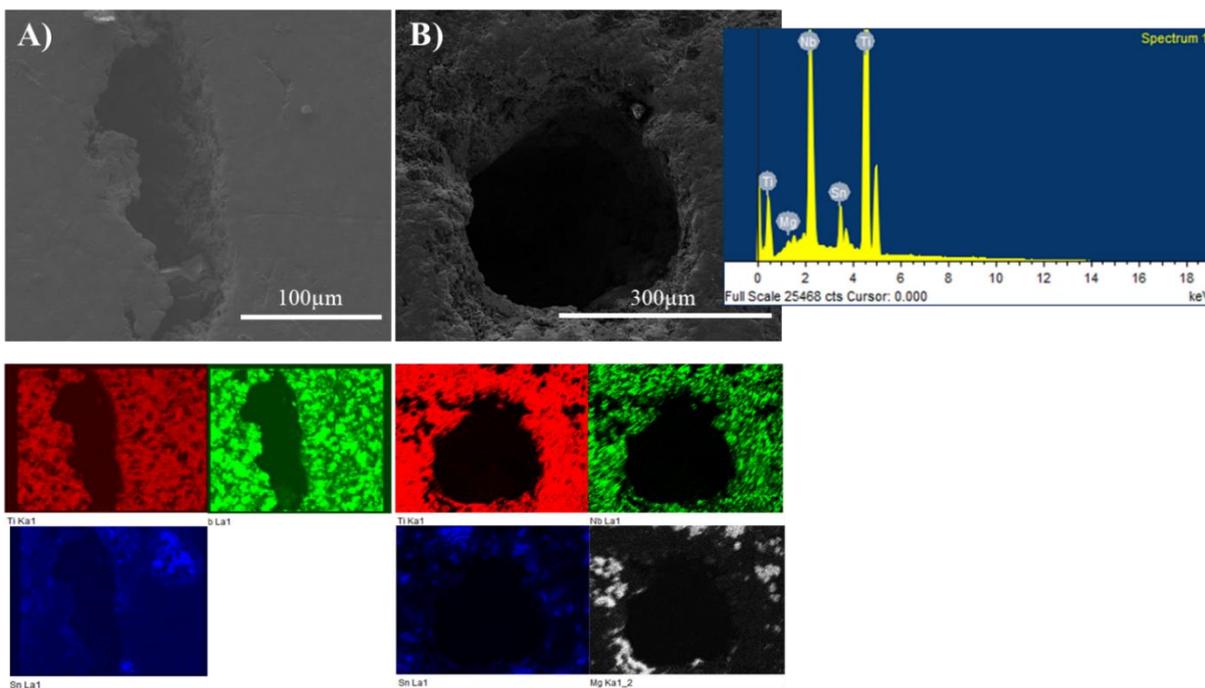


Figura 4. Imagens de MEV para a avaliação da morfologia dos poros formados em A) TNS (aumento de 1000X) e B) amostras de TNS/M (aumento de 500X) distribuição elementar e mapeamento por dectetor EDX. (Ti-vermelho, Nb-verde, Sn-azul e magnésio-branco).

A Figura 5 mostra micrografias obtidas por microscopia confocal (CM). A superfície interna do poro tem uma topografia mais regular e homogênea na Figura 5A, enquanto é mais irregular na Figura 5B devido à maior porosidade. De acordo com a Tabela 4, a rugosidade média do sistema TNS / M é 6 ± 4 (μm), enquanto que para o TNS é 3 ± 1 (μm), ou seja, o magnésio promoveu alta rugosidade aos poros.

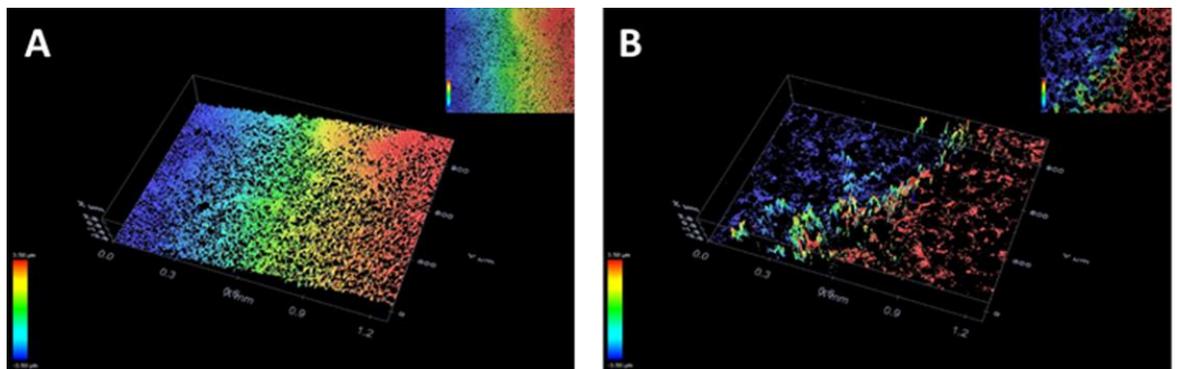


Figura 5. Análise de rugosidade por microscopia confocal de A) TNS e B) TNS / M na superfície dos poros internos.

Tabela 4. Avaliação da rugosidade das amostras usando o parâmetro rms.

Material	rms
TNS	3 ± 1
TNS/M	6 ± 4

3.3 Ângulo de contato dinâmico

Devido à alta rugosidade no interior dos poros, as gotículas de água foram rapidamente absorvidas. O método do ângulo de contato dinâmico foi utilizado para avaliar o ângulo de contato inicial formado quando a gota d'água entrava em contato com a superfície metálica. O ângulo de contato foi medido em função do tempo até

que o ângulo de contato seja zero, e o ângulo de tempo zero foi considerado como um valor que representa a molhabilidade. A molhabilidade da superfície de um determinado material está intimamente relacionada ao processo de adesão celular. É verdade que uma superfície com maior porosidade absorve água mais rapidamente, caso em que o ângulo inicial formado tende a ser menor (superfície mais molhável). Bathomarco e colaboradores, descobriram que conforme a área de superfície dos implantes de titânio aumenta, o ângulo de contato medido diminui [39]. O ângulo inicial formado em nosso trabalho com a amostra TNS foi de $79,7^\circ \pm 4,7$, e com a amostra TNS / M foi de $52^\circ \pm 3,5$. Quando o ângulo de contato com a superfície é em torno de 90° , é classificada como superfície com molhabilidade parcial; quando o ângulo é $<90^\circ$ é caracterizado como uma superfície com boa molhabilidade [40]. Ambas as amostras têm alta molhabilidade ($<90^\circ$), e esta propriedade é melhor para TNS/M, pois a molhabilidade da superfície é um fator crucial no desencadeamento de várias respostas biológicas, intimamente relacionadas ao processo de adesão celular.

A propagação e interação das células na superfície dos biomateriais são influenciadas por sua topografia. Uma superfície hidrofílica orienta os primeiros eventos que ocorrem, na interface biomaterial/ambiente biológico. Uma estimativa da hidrofiliabilidade de um material pode ser avaliada pelo método do ângulo de contato [41,42].

No presente trabalho, o material TNS/M se mostrou mais molhável que o TNS, característica que pode contribuir para melhores respostas biológicas. Alguns autores demonstraram que a adesão e proliferação celular das células-tronco mesenquimais, no Ti-6Al-4V com maior porosidade, foi muito mais significativa [43] onde apresentou menor ângulo de contato formado.

3.4 Comportamento Mecânico

O E das amostras de TNS foi de aproximadamente 22GPa, enquanto para TNS/M diminuiu para aproximadamente 18GPa. Ambos apresentaram valores próximos ao tecido ósseo (0,5 a 20 GPa para osso cortical e trabecular, respectivamente) [44], possivelmente devido à presença de titânio sob a fase β e à porosidade adicional introduzida pelo espaçador magnésio no caso do sistema TNS/M.

Ambos os materiais apresentaram valores de E significativamente mais baixos do que os de materiais usados comercialmente em aplicação ortopédica (Ti-6Al-4V: 110 GPa [45]; aço inoxidável: 200GPa [46], cpTi (grau II): 102 GPa [47], Ti -13Nb-13Zr: 79GPa [48] e Ti-29Nb-13Ta-4.5Zr: 55GPa [49]).

Os valores de dureza apresentados na Tabela 5 são significativamente próximos aos do cpTi (136 HV), mesmo considerando uma fração significativamente maior das fases β em relação à fase α . Sabe-se que este último oferece boa resistência mecânica. Além disso, a microestrutura é diferente daquelas dos trabalhos da literatura [50]. Para ligas semelhantes, a dureza encontrada foi 158 HV para Ti-33.6Nb4Sn [18] e 173 HV para Ti-30Nb-4Sn [51]. Nossos materiais conciliam dureza, porosidade e módulos de elasticidade adequados para serem aplicados como dispositivos ortopédicos, sendo a dureza semelhante aos materiais já comercializados, pelo uso controlado de espaçadores e Nb como elemento betagênico. Segundo Gibson, a liga bifásica composta pelas fases α e β apresenta melhores valores de E para aplicação de próteses [52], preservando a resistência mecânica

Tabela 5. Dureza Vickers

Materiais	Dureza (HV)
TNS	153±12
TNS/M	120±20

3.5 Suscetibilidade à corrosão

A Figura 6A representa o OCP vs o tempo de imersão nas últimas 3 horas do ensaio de 24 horas, i. e., das 21h às 24h para TNS e TNS/M em solução Hanks. Como nas primeiras duas horas os valores de OCP foram -0,70V para TNS e -0,40V vs Ag / AgCl para TNS / M, a variação não foi significativa em 24h. Pode-se notar que o material com espaçador (TNS/M), apresentou OCP mais anódico em comparação ao TNS, fazendo com que o magnésio ou o aumento da porosidade tornem o material mais resistente à corrosão.

A Figura 6B mostra a curva de polarização na solução de Hanks, exibindo o comportamento típico de um metal válvula, denotado: região ativa e passiva, sem transição clara entre a faixa de potencial em que ocorrem esses processos de corrosão. O comportamento transpassivo, geralmente observado na faixa de potencial mais anódico (E), foi observado apenas para a amostra TNS/M. A região ativa, na qual há uma dependência sistemática da densidade de corrente (i) com o potencial (comportamento linear de E vs log | i |), se estende de cerca de -0,150 V a +0,150 V do potencial de corrosão (E_{corr}) e pode fornecer informações sobre o mecanismo de oxidação. Na região passiva, onde o potencial (E) é superior ao limite superior da região ativa (ou E > E_{corr} + 0,150 V), a camada de óxido (passivação) formada na região ativa promove proteção e a taxa de oxidação diminui (densidade de corrente diminui) para a maioria dos metais.

O titânio e suas ligas apresentam comportamento passivo estável na região de Tafel, sem reduções de corrente. Na região transpassiva, ocorre uma dissolução ativa nos pontos isolados da superfície passiva do metal, devido à sua heterogeneidade (presença de poros quando o magnésio é utilizado, ocorrendo corrosão por pite (intensa oxidação química em pontos espalhados na superfície passiva não blindada do metal). Os parâmetros que caracterizam a susceptibilidade à corrosão são extraídos da região ativa. Inicialmente, os coeficientes de inclinação em duas regiões lineares de E vs log | i |, ou seja, nos intervalos “E_{corr}-0,15 ≤ E ≤ E_{corr}-0,03” e “E_{corr} + 0,03 ≤ E ≤ E_{corr} + 0,15”, denominados região de Tafel, são calculados com base nos dados de polarização, determinando assim, o catódico (b_c) e coeficientes anódicos (b_a), respectivamente, ou inclinações de Tafel. A intersecção das linhas de Tafel fornece os valores E_{corr} (potencial de corrosão) e i_{corr} (densidade de corrente de corrosão). Em seguida, a resistência de polarização (R_p) e a taxa de corrosão (Cr, em unidades de penetração) são calculadas usando as seguintes equações:

$$R_p = \frac{b_a | b_c |}{2,3 i_{cor} (b_a + | b_c |)} \quad (\text{eq 2})$$

$$Cr = 3,27 \frac{a i_{cor}}{nD} \quad (\text{eq 3})$$

onde a é a massa atômica (47,9 g/mol para titânio), i_{corr} é a densidade da corrente de corrosão (A/cm^2), n é a mudança líquida na valência das espécies sob corrosão e D é a densidade do metal (5,524 g/cm³ para liga TNS). A taxa de corrosão é calculada considerando a lei de Faraday e assumindo que a dissolução é uniforme.

A Tabela 6 mostra os parâmetros extraídos mencionados. E_{corr} mudou de -0,78 V para -0,50 V por adição de magnésio. Em outras palavras, E_{corr} é 0,28 V mais anódico para o sistema TNS/M, embora a taxa de corrosão (i_{corr}) seja semelhante à do TNS. Essa diferença pode ser causada por condições de superfície, composições de fase, dos componentes de liga, tamanho do cristalito, porosidade e distribuição de tamanho que podem conferir atividade eletroquímica distinta.

Vishnu e colaboradores, estudando a influência do teor de estanho em ligas Ti-Nb-Sn, não observaram diferenças no comportamento de polarização em solução Hanks com pH 7,4 [53]. O mesmo material foi preparado com poros abertos na faixa de 41 a 50% e apresentou excelente resistência à corrosão em solução de Hanks exibindo baixa densidade de corrente (2-9 $\mu A / cm^2$) [54]. Por outro lado, Bobyn e colaboradores relataram que a porosidade acima de 15% no sistema de ligas Ti-Nb promoveu maior suscetibilidade à corrosão e atribuiu a maior concentração de eletrólitos dentro dos poros [37]. Vale ressaltar que neste estudo a resistência à corrosão foi avaliada em solução enriquecida com flúor.

Školáková e colaboradores, estudando a influência do teor de magnésio (1, 3 e 5% em peso) nas propriedades mecânicas, microestruturais e eletroquímicas da liga de TiNi, constataram que a adição de magnésio promoveu maior resistência à corrosão, com maiores valores de potencial de corrosão livre para amostras com maior conteúdo de magnésio [55]. Os autores consideram a porosidade e a precipitação do óxido de magnésio como os principais fatores que influenciaram este resultado.

Em conclusão, a maior resistência à corrosão encontrada no material com magnésio (TNS/M) também pode ser atribuída à capacidade do magnésio em formar óxidos. A camada de óxido em certas regiões, como ao redor dos poros, atua como barreira protetora reduzindo o processo de corrosão por um duplo efeito: diminuição da taxa de transferência de carga e diminuição do fluxo de difusão de massa através da camada superficial [56]. Portanto, os valores encontrados para a densidade de

corrente dos materiais TNS ($3,6 \times 10^{-2} \mu\text{A} / \text{cm}^2$) e TNS/M ($3,5 \times 10^{-2} \mu\text{A}/\text{cm}^2$) foram muito inferiores aos relatados na literatura.

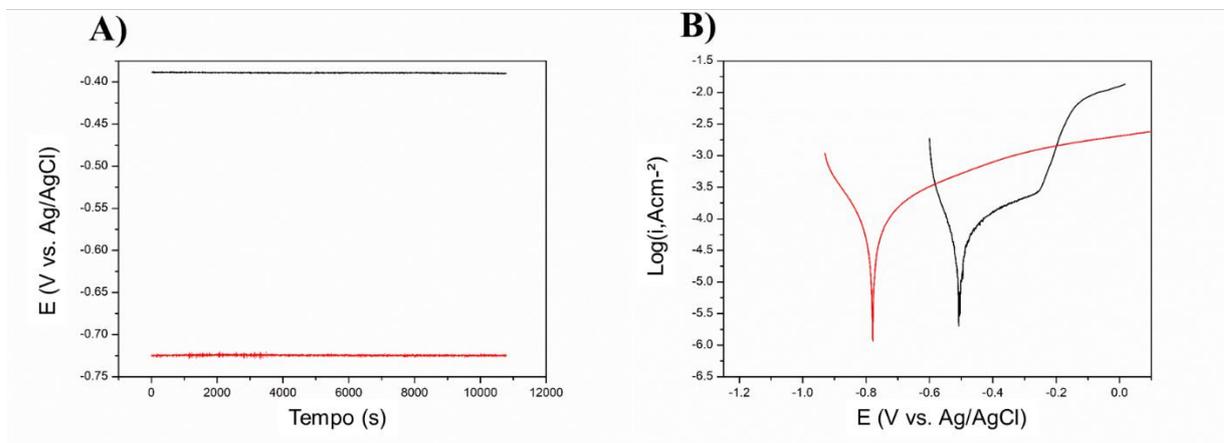


Figura 6. Comportamento de corrosão eletroquímica de TNS (linha vermelha) e TNS/M (linha preta) na solução de Hanks à temperatura ambiente: A) Potencial de circuito aberto (OCP) B) Curva de Polarização Potenciodinâmica (CP).

Tabela 6. Parâmetros cinéticos obtidos a partir da curva potenciodinâmica de TNS e TNS/M na solução Hanks à temperatura ambiente.

Materiais	OCP	E_{corr}	I_{corr}	R_p	b_a	b_c	C_r
	(V)	(V)	(A/cm^2)	(Ω)	(V/dec)	(V/dec)	(cm/ano)
TNS	$-0,72 \pm 0,00$	-0,78	$5,0 \times 10^{-8}$	$2,15 \times 10^6$	0,27	0,25	$3,5 \times 10^{-7}$
TNS/M	$-0,38 \pm 0,00$	0,50	$5,2 \times 10^{-8}$	$1,66 \times 10^6$	0,22	0,14	$3,6 \times 10^{-7}$

3.6 Interação biológica com o sistema TNS e TNS/M.

Micrografias das BMMSCs semeadas na superfície dos materiais e mantidas em crescimento por 72 horas são ilustradas na Figura 7. Há uma alta densidade de células aderidas na superfície do material. É possível perceber as interações célula-célula, estabelecendo conexões citoplasmáticas chamadas de filopódios, projeções

em formas de agulha que levam à formação de pontes celulares. Essas projeções são bem vistas em ambos os materiais (Figura 7A-B). Porém, no material TNS/M a concentração de células é maior, preenchendo todo o interior dos poros, sendo impossível visualizar a superfície do material. As extensões citoplasmáticas fornecem pontes entre as células, levando à adesão celular. Além disso, é possível perceber, observando o mapeamento elementar de EDX (carbono, oxigênio e fósforo), que grande parte do material está coberto por células. Esse fato sugere que este material possui alta biocompatibilidade, sendo que o sistema TNS/M, com maior porosidade, contribui mais intensamente para a colonização de células 3D (Figura 7B). Marino e colaboradores, demonstraram que no material com estrutura 3D promove maior indução osteogênica nas células SAOS-2 do que quando semeado em superfície plana. Além de uma mudança morfológica mais arredondada, indicando uma tridimensionalidade, quando comparada à superfície plana [57]. Em nosso estudo, observamos essas diferenças morfológicas nas células aderidas na superfície plana e na região côncava da estrutura.

São mostrados pontos de adesão focais formados após a adesão celular a essas estruturas porosas. Sabe-se que esses pontos focais de adesão auxiliam na transmissão de tensões mecânicas do ambiente externo para as células (vice-versa) e contribuem para ativar cascatas de sinais bioquímicos intracelulares ligados às funções biológicas celulares, desde diferenciação, migração e morte celular [58]. Essa atração geométrica 3D em um substrato curvo, como um mecanismo de orientação celular, é chamada de “curvotaxia” [59] na qual pode promover mudanças em seus padrões funcionais.

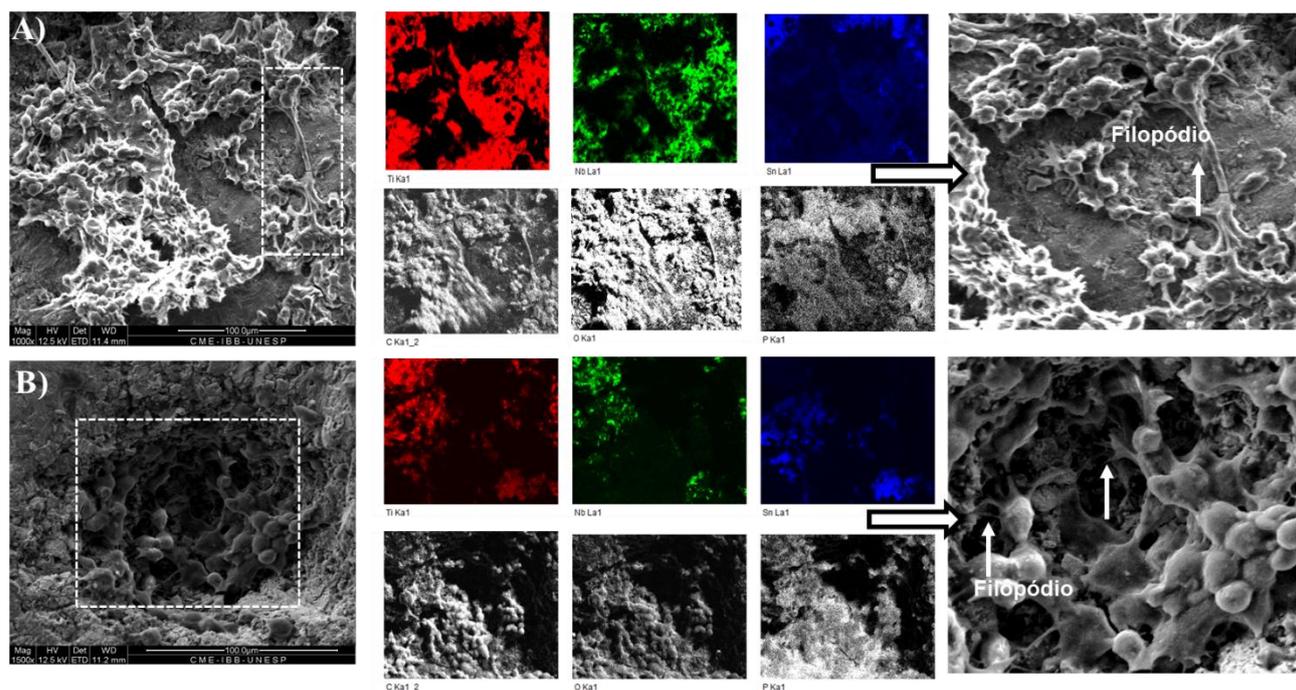


Figura 7. Micrografias das BMMSCs após 72 horas em cultura na superfície de: A) TNS e B) TNS/M.

A Figura 8A-B mostra o processo de migração celular de BMMSCs, pelo método de cicatrização de feridas. Observa-se que o grupo controle apresenta uma taxa de cicatrização significativa durante 48 horas. A taxa de cicatrização do grupo tratado 1 (TNS) foi significativa em relação ao grupo controle até 24 horas ($P < 0,05$). Depois disso, a taxa diminuiu em comparação com o controle. No grupo tratado 2 (TNS/M), a taxa de cicatrização em até 24 horas foi maior do que no grupo controle (Figura 8B). No entanto, após 24 horas as células não progrediram.

A migração das células nos grupos controle e que receberam o meio condicionado com os materiais foi direcional, ou seja, mais células migraram para a região com ranhura na parte central dos poços em até 24 horas. Sobre o comportamento após 24 horas, alguns estudos relatam que as células precisam de tempo para se estabelecer em um novo meio [60].

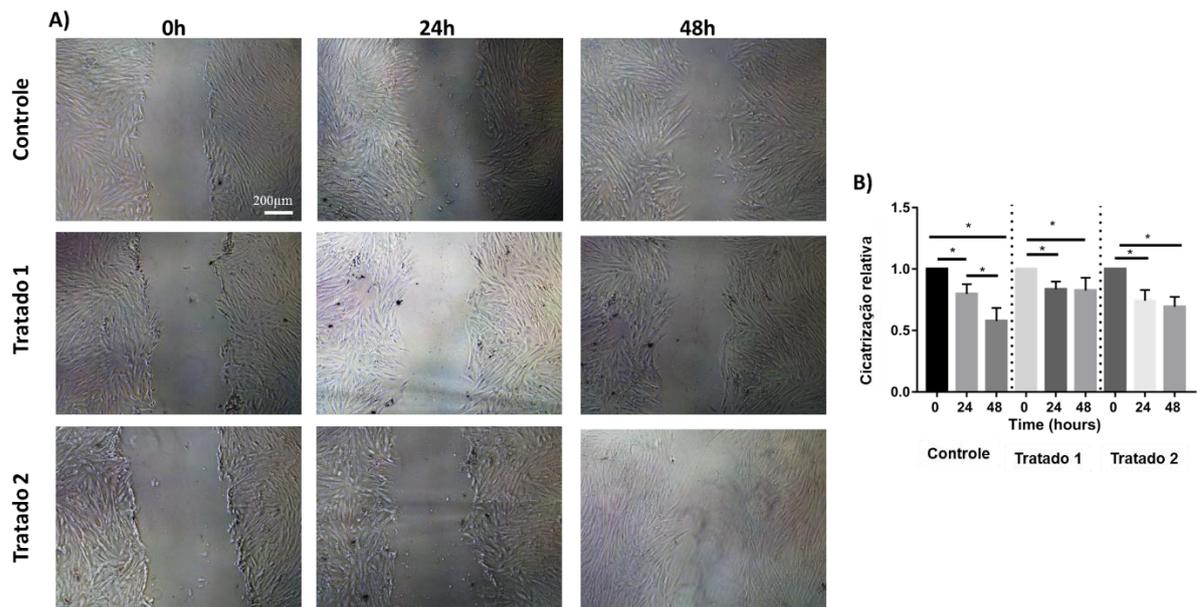


Figura 8. Ensaio de cicatrização de feridas das BMMSCs por tratamento por 0 h, 24 h e 48 h com meio condicionado com TNS e TNS/M: A) MO das BMMSCs até 48 horas de tratamento. B) Comparação do processo de cicatrização dentro dos grupos (normalizado pelo tamanho da ranhura em 0h).

3.7 Diferenciação Osteogênica

A deposição de cálcio ocorre como consequência da diferenciação osteogênica das BMMSCs e foi avaliada pela coloração com vermelho de alizarina (Figura 9). A mineralização das células, cultivadas em meio convencional, com indutores osteogênicos e condicionadas com o biomaterial, foi comparada à do grupo controle para estudar a influência de cada variável na diferenciação. O grupo CTRL*, no 10º dia, apresentou evidências de diferenciação. No grupo que recebeu o meio condicionado com o material sem o espaçador (TT2), as células se diferenciaram, porém, a mineralização foi menos intensa do que no meio condicionado com TNS/M (TT3) em que a diferenciação foi significativamente maior.

O meio condicionado com TNS/M, pode conter íons magnésio e de acordo com o estudo utilizando BMMSCs de coelho [61], a suplementação com íons magnésio no meio promoveu a diferenciação osteogênica, assim como outro estudo em células-tronco demonstrou que alguns íons podem ser bioativos e estimular a diferenciação osteogênica precoce e outros eventos celulares, como adesão e proliferação [62]. O

aumento da atividade osteogênica e mineralização das células do estroma derivadas da medula óssea humana também foram observados pela suplementação com íons de magnésio [63]. No entanto, a quantidade necessária para a diferenciação celular ideal ainda não foi estabelecida. No presente estudo, limitou-se a introduzir uma pequena quantidade de magnésio (2% wt) na liga, condicionar o meio com este e cultivar BMMSCs no meio condicionado mais indutores osteogênicos, porém mostrou que biomateriais (TNS e TNS/M) não apresentam influência negativa para o processo osteogênico, mas induzem maior diferenciação indicada pelos nódulos de mineralização.

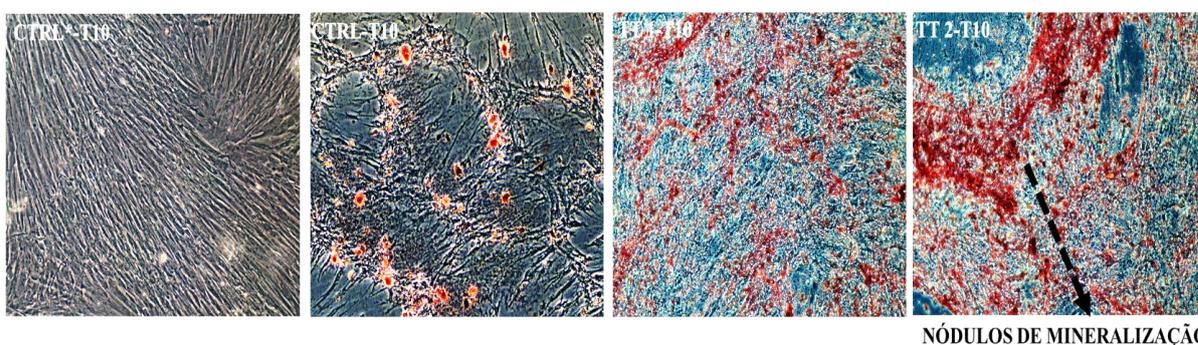


Figura 9. Micrografia das BMMSCs após 10 dias de cultivo e corados com vermelho de alizarina: grupo controle tratado com meio de cultura convencional (CTRL *); grupo controle tratado com meio de cultura osteogênico (CTRL); grupo tratado com meio de cultura osteogênico e condicionado com TNS (TT1) e grupo tratado com meio de cultura osteogênico e condicionado com TNS/M (TT2). Aumento de 10x.

4. Conclusão

Os arcabouços da liga TNS foram fabricados com sucesso pelo método da metalurgia do pó combinado com o espaçador magnésio que promoveu a formação de poros significativos, bons módulos elásticos, bem como uma boa biocompatibilidade. Os seguintes pontos podem ser destacados:

- Os sistemas TNS com uma boa fração da fase de estrutura bcc foram fabricados com sucesso pela metalurgia do pó;
- O tamanho dos poros é maior no sistema TNS/M em relação ao TNS e a maior porosidade é formada pela evaporação parcial do magnésio;

- O sistema TNS apresentou bons valores de dureza e baixos valores de módulo de elasticidade. O espaçador magnésio aumentou o tamanho dos poros e a porosidade, contribuindo para diminuir ainda mais o módulo de elasticidade;
- Ambos os sistemas apresentaram comportamento adequado de molhabilidade e corrosão;
- Tanto o TNS quanto o TNS/M apresentam boa compatibilidade biológica e potencial para promover a diferenciação osteogênica das BMMSCs, sendo que as estruturas porosas fornecidas pelo magnésio promoveram maior taxa de proliferação;

O estudo mostrou que é possível obter materiais com a porosidade desejada utilizando a baixa temperatura de processamento e adicionando um elemento osteoindutor (magnésio), que pode ser útil para a integração com o osso. No entanto, deve-se observar que mais estudos são necessários para estabelecer a quantidade ideal de magnésio.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (número da bolsa: # 2017 / 13876-2) e ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT-SP) pelo desenvolvimento dos materiais.

Referências

- [1] Lewallen E.A., Riester S.M., Bonin C.A., Kremers H.M., Dudakovic A., Kakar S., Cohen R.C., Westendorf J.J., Lewallen D.G., van Wijnen A.J. Biological strategies for improved osseointegration and osteoinduction of porous metal orthopedic implants. *Tissue Eng. Part B Rev.* (2015). 218–230. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0333>.
- [2] Geetha M., Singh A.K., Asokamani R., Gogia A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—A review. *Prog. Mater. Sci.* (2009). 397–425. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2008.06.004>.
- [3] Bania., P.J. Beta titanium alloys and their role in the titanium industry D. Eylon, R.R. Boyer, D.A. Koss (Eds.), *Titanium Alloys in the 1990s*, Metals & Materials Society, Warrendale, PA (1993). 3-14.

- [4] E.J. Evans. Cell damage in vitro following direct contact with fine particles of titanium, titanium alloy and cobalt-chrome-molybdenum alloy. *Biomaterials* (1994). 713–717. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(94\)90170-8](https://doi.org/10.1016/0142-9612(94)90170-8).
- [5] Haynes D. R., Rogers S.D., Hay.S., Pearcy M. J & Howie D.W. The differences in toxicity and release of bone-resorbing mediators induced by titanium and cobalt-chromium-alloy wear particles. *J Bone Joint Surg.* 75-A (1993) 835.
- [6] Okazaki Y., Rao S., Tateishi T., Ito Y. Cytocompatibility of various metal and development of new titanium alloys for medical implants. *Materials Science and Engineering.* (1998). 250–256. [https://doi.org/10.1016/S0921-5093\(97\)00809-5](https://doi.org/10.1016/S0921-5093(97)00809-5)
- [7] Long M., Rack HJ. Titanium alloys in total joint replacement--a materials science perspective. *Biomaterials.* (1998). 1621-39. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(97\)00146-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(97)00146-4)
- [8] Dan D., Germann D., Burki H., Hausner P., Kappeler U., Meyer RP., Klaghofer R., Stoll T. Bone loss after total hip arthroplasty. (2006). *Rheumatol Int.* 792-8. <https://doi.org/10.1007/s00296-005-0077-0>.
- [9] Sumitomo N., Noritake K., Hattori T., Morikawa K., Niwa S., Sato K., Niinomi M J. Experiment study on fracture fixation with low rigidity titanium alloy: plate fixation of tibia fracture model in rabbit. *Mater Sci Mater Med.* (2008). 1581-6. <https://doi.org/10.1007/s10856-008-3372-y>.
- [10] Hao YL., Li SJ., Sun SY., Zheng CY., Yang R. Elastic deformation behaviour of Ti-24Nb-4Zr-7.9Sn for biomedical applications. *Acta Biomater.* (2007). 277-86. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2006.11.002>.
- [11] Niinomi, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Mater. Sci. Eng. A.* (1998). 231-236. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2006.11.002>.
- [12] Saito, T., Furuta, JH., Hwang, S., Kuramoto, K., Nishino, N., Suzuki, R., Chen. Multifunctional alloys obtained via a dislocation-free plastic deformation mechanism. *Science.* (2003). 300-318. <https://doi.org/10.1126/science.1081957>.
- [13] Hao YL., Li SJ., Sun SY., Zheng CY., Hu QM., Yang R. Super-elastic titanium alloy with unstable plastic deformation *Appl. Phys. Lett.* (2005). <http://dx.doi.org/10.1063/1.2037192>.

- [14] Xiong J., Li Y., Wang X., Hodgson P., Wen C. Mechanical properties and bioactive surface modification via alkali-heat treatment of a porous Ti–18Nb–4Sn alloy for biomedical applications. (2008). 4(6), 1963–1968. doi:10.1016/j.actbio.2008.04.022.
- [15] Yan, Y., Kang, Y., Li, D., Yu, K., Xiao, T., Wang, Q., ... Zhang, Y. Microstructure, Mechanical Properties and Corrosion Behavior of Porous Mg-6 wt.% Zn Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Journal of Materials Engineering and Performance*. (2018). 27(3), 970–984
- [16] Tao, S. C., Xu, J. L., Yuan, L., Luo, J. M., & Zheng, Y. F. Microstructure, mechanical properties and antibacterial properties of the microwave sintered porous Ti–3Cu alloys. *Journal of Alloys and Compounds*. (2020). 812, 152142. doi:10.1016/j.jallcom.2019.152142
- [17] Málek, J., Hnilica, F., Bartáková, S., Míka, P., Veselý, J. The Effect Of Different Forms Of Oxygen On Properties Of Beta Titanium Alloys. *Acta Polytechnica*. (2018). 58(3), 179. doi:10.14311/Ap.2018.58.0179.
- [18] Ozaki, T., Matsumoto, H., Watanabe, S., Hanada, S. Beta Ti alloys with low Young's Modulus. *Mater. Trans.* (2004). 2776–2779. <https://doi.org/10.2320/matertrans.46.1070>.
- [19] Cremasco, A., Osório WR., Freire, CMA., Garcia A., Caram, R. Electrochemical corrosion behavior of a Ti–35Nb alloy for medical prostheses. *Electrochimica Acta*. (2008). 4867-4874. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.02.011>.
- [20] Larson AC & Von Dreele RB. General Structure Analysis System (GSAS)", Los Alamos National Laboratory Report LAUR 86-748. (2000). B. H. Toby, EXPGUI, a graphical user interface for GSAS, *J. Appl. Cryst.* 210-213.
- [21] ASTM.E92-82-Standard Test Method for Vickers Hardness of Metallic Materials; ASTM International. (2003). Conshohocken, PA, USA.
- [22] Chen, Y. Scratch Wound Healing Assay. *Bio-protocol*. (2012). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.100>.
- [23] Young, RA. *The Rietveld Method*. Oxford University Press. (1995).
- [24] Inorganic Crystal Structure Database - FIZ Karlsruhe - Leibniz Institute for Information Infrastructure.

- [25] Murray, J.L. Phase Diagram of Binary Titanium Alloys; ASM International: Materials Park, OH, USA. (1987). 294–299.
- [26] Toffolon, C., Servant, C., Gachon, J.C., Sundman, B. Reassessment of the Nb-Sn System. *J. Phase Equilib.* (2002). <https://doi.org/10.1361/1054971023604071>.
- [27] Zhang, Y.L., Liu, H.S., Jin, Z.P. Thermodynamic Assessment of the Nb-Ti System. *Calphad.* (2001).305–317. [https://doi.org/10.1016/S0364-5916\(01\)00051-7](https://doi.org/10.1016/S0364-5916(01)00051-7).
- [28] Aydogmus, T & Bor, S. Processing of porous TiNi alloys using magnesium as space holder. *J.Alloy.Comp.* (2009).705–710. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2008.11.141>.
- [29] Alias, J., Harun, WSW., & Ayu, HM. A Review on the Preparation of Magnesium-Based Alloys Prepared by Powder Metallurgy and the Evolution of Microstructure and Mechanical Properties. *Key Engineering Materials.* (2019). 796, 3–10. doi:10.4028/www.scientific.net/kem.796.3.
- [30] Burke, P., Kipouros, G. J., Fancelli, D., & Laverdiere, V. Sintering Fundamentals of Magnesium Powders. *Canadian Metallurgical Quarterly.* (2009). 48(2), 123–132. doi:10.1179/cm.2009.48.2.123.
- [31] Massalski T.B. Binary Alloy Phase Diagrams, Vol 2, American Society for Metals. 1986. Cleveland, Ohio, USA.
- [32] Salvo C, Aguilar C, Cardoso G R, Medina A, Bejar L, Mangalaraja RV. Study on the Microstructural Evolution of Ti-Nb Based Alloy Obtained by High-Energy Ball Milling, *J. Alloys Compd.* (2017.)720:254–263. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.05.262>.
- [33] Kotan G & Bor AS. Production and characterization of high porosity Ti-6Al-4V foam by space holder technique in powder metallurgy, *Turkish J. Eng. Environ.* (2007). Sci., (31)149.
- [34] Bram M., Stiller C., Buchkremer H.P., Stover D., Baur H. High-Porosity Titanium, Stainless Steel, and Superalloy Parts. *Adv. Eng. Mater.* (2000). 196. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1527-2648\(200004\)2:4<196::AID-ADEM196>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1527-2648(200004)2:4<196::AID-ADEM196>3.0.CO;2-K).

- [35] Orlova, Y., Maekawa, K., & Rack, H. J. Structure Formation during Preparation of Variable Porosity Titanium Foams by Solid State Replication. *Key Engineering Materials*. (2010). 165–170. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.436.165>.
- [36] Mediaswanti K., Wen C., Ivanova EP., Berndt CC., Malherbe F., et al. A Review on Bioactive Porous Metallic Biomaterials. *J Biomim Biomater Tissue Eng*. (2013). 104. <https://doi.org/10.4172/1662-100X.1000104>.
- [37] Bobyn JD., Pilliar RM., Cameron HU., Weatherly GC.. The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone. (1980). *Clin Orthop Relat Res*: 263-270.
- [38] Murray GAW & Semple JC. *J. Bone Joint Sur. Br.* 63-B. (1981).138-141.
- [39] Bathomarco RV., Solorzano G., Elias CN., Prioli R. Atomic force microscopy analysis of different surface treatments of Ti dental implant surfaces. (2004). 233(1-4), 29–34. doi:10.1016/j.apsusc.2004.04.007.
- [40] Yuan Y., Randall Lee T. Contact angle and wetting properties, in *Surface Science Techniques*, Springer. (2013). https://doi.org/10.1007/978-3-642-34243-1_1.
- [41] Kieswetter K., Schwartz Z., Hummert TW., Cochran DL., Simpson J., Dean DD., Boyan B.D. Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells, *J. Biomed. Mater. Res. A* 32 (1996) 55–63. doi:10.1002/(sici)1097-4636(199609)32:1<55::aid-jbm7>3.0.co;2-o.
- [42] Rupp F., Scheideler L., Olshanska N., Wild M., Wieland M., Geis-Gerstorfer J. Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces, *J. Biomed. Mater. Res. A* 76A (2006) 323–334
- [43] Li, Z., Liu, C., Wang, B., Wang, C., Wang, Z., Yang, F., ... Wang, J. Heat treatment effect on the mechanical properties, roughness and bone ingrowth capacity of 3D printing porous titanium alloy. *RSC Advances*. (2018). 8(22), 12471. <https://doi.org/10.1039/C7RA13313H>.
- [44] Gibson, LJ. The mechanical behaviour of cancellous bone. *Journal of Biomechanics*. (1985). 317–328. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(85\)90287-8](https://doi.org/10.1016/0021-9290(85)90287-8).

- [45] Niinomi M., Liu Y., Nakai M., Liu H., Li H. Biomedical titanium alloys with Young's moduli close to that of cortical bone. *Regenerative Biomaterials*. (2016). 173-185. <https://doi.org/10.1093/rb/rbw016>.
- [46] Pilliar RM. Modern metal processing for improved load-bearing surgical implants. *Biomaterials*. (1991). 95-100. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(91\)90185-d](https://doi.org/10.1016/0142-9612(91)90185-d).
- [47] Niinomi, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering A*. (1998). 231-236. [https://doi.org/10.1016/S0921-5093\(97\)00806-X](https://doi.org/10.1016/S0921-5093(97)00806-X).
- [48] Davidson JA., Mishra AK., Kovacs P & Poggie RA. New Surface-Hardened, Low-Modulus, Corrosion-Resistant Ti-13Nb-13Zr Alloy For Total Hip Arthroplasty. *Bio-Medical Materials And Engineering*. (1994).231-243.
- [49] Niinomi M. Recent metallic materials for biomedical applications. *Metall Mater Trans A*. (2002). 477–86. <https://doi.org/10.1007/s11661-002-0109-2>.
- [50] Fleischer RL., Gilmore R.S & Zabala RJ. Elastic moduli of polycrystalline, intermetallic compounds of titanium. *J. Appl. Phys.* (1988). 2964–2967. <http://dx.doi.org/10.1063/1.341558>.
- [51] Dutta J., Majumdar., Ml. Laser surface engineering of titanium and its alloys for improved wear, corrosion and high-temperature oxidation resistance. *Laser Surface Engineering*. (2015). 483-521. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-074-3.00021-0>.
- [52] Salvador, CAF., Lopes, ESN., Ospina, CA., Caram, R. Orthorhombic martensite formation upon aging in a Ti-30Nb-4Sn alloy. *Mater. Chem.* (2016). 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.08.023>.
- [53] D. Sri Maha Vishnu, Jagadeesh Sure, R. Vasant Kumar and Carsten Schwandt. Phase Composition, Microstructure, Corrosion Resistance and Mechanical Properties of Molten Salt Electrochemically Synthesised Ti-Nb-Sn Biomedical Alloys. *Materials Transactions*. (2019). 60, No. 3 pp. 422-428. <https://doi.org/10.2320/matertrans.MA201810>.
- [54] Fojt, J., Joska, L., & Málek, J. Corrosion behaviour of porous Ti–39Nb alloy for biomedical applications. *Corrosion Science*. (2013).78–83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.corsci.2013.03.007>.

- [55] Školáková A., Novák P., Salvetr P., Moravec H., Šefl V., Deduytsche D & Detavernier C. Investigation of the Effect of Magnesium on the Microstructure and Mechanical Properties of NiTi Shape Memory Alloy Prepared by Self-Propagating High-Temperature Synthesis. *Metallurgical and Materials Transactions A*. (2017). 48, pages3559–3569. <https://doi.org/10.1007/s11661-017-4105-y>.
- [56] Barchiche, CE., Rocca, E., Juers, C., Hazan, J., & Steinmetz, J. Corrosion resistance of plasma-anodized AZ91D magnesium alloy by electrochemical methods. *Journal of Electrochimica Acta*. (2007). 53, 417e425.
- [57] Marino A., Filippeschi C., Genchi GG., Mattoli V., Mazzolai B., Ciofani G. The Osteoprint: a bioinspired two-photon polymerized 3-D structure for the enhancement of bone like cell differentiation, *Acta Biomater*. 10 (10) (2014) 4304–4313.
- [58] Guan JL., Chen HC. Signal transduction in cell-matrix interactions. vol. 168. 1996.
- [59] Pieuchot J., Marteau A., Guignandon T., Dos Santos, I., Brigaud, PF., Chauvy T., Cloatre, A., Ponche T., Petithory P., Rougerie M., Vassaux JL., Milan NT., Wakhloo A. Spangenberg, M. Bigerelle, K. Anselme, Curvotaxis directs cell migration through cell-scale curvature landscapes, *Nat. Commun*. 9 (1) (2018) 3995.
- [60] Naddeo P., Lainob L., La Nocea M., Piattellic A., De Rosad A., Iezzic G., Lainod G., Painoa F., Papaccio G., Tirino V. Surface biocompatibility of differently textured titanium implants with mesenchymal stem cells. *Dental materials*. (2015). 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.12.015>.
- [61] Mathieu PS., Lobo EG. Cytoskeletal and focal adhesion influences on mesenchymal stem cell shape, mechanical properties, and differentiation down osteogenic, adipogenic, and chondrogenic pathways. *Tissue Eng Part B Rev*. (2012). 436–444. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0014>.
- [62] Soltanoff CS., Chen W., Yang S., Li YP. Signaling networks that control the lineage commitment and differentiation of bone cells. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. (2009).1–46. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukarGeneExpr.v19.i1.10>.
- [63] Yoshizawa S., Brown A., Barchowsky A., Sfeir C. Magnesium ion stimulation of bone marrow stromal cells enhances osteogenic activity, stimulating the effect of

magnesium alloy degradation. *Acta Biomater.* (2014). 2834–2842.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.02.002>.

Artigo científico submetido ao *Journal of Alloys and Compounds*

(sob as normas vigentes – anexo 3)

Efeito da Pressão de Compactação na Liga Ti-34Nb-6Sn Preparada por Metalurgia do Pó para Aplicações Biomédicas

Effect of Compaction Pressure on Ti-34Nb-6Sn Alloy Prepared by Powder Metallurgy for Biomedical Applications

Mariana Correa Rossi^{1,2}, Daniel Leal Bayerlein³, Francisco Segovia López², Ana Liz Garcia Alves¹, Vicente Amigó Borrás².

¹São Paulo State University, Cell Therapy and Regenerative Medicine Lab, Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, UNESP – Botucatu, SP- Brazil.

²Universitat Politècnica de València, Institut de Tecnologia de Materials, Camí de Vera s/n, 46022 València, Spain.

³Materials Science and Technology Center, Nuclear and Energy Research Institute (IPEN) and Technological Research Institute (IPT) –São Paulo, SP-Brazil.

Resumo

Com o objetivo de investigar a influência da pressão de compactação nas propriedades mecânicas, microestruturais e corrosivas, a liga Ti-34Nb-6Sn para aplicação biomédica foi sintetizada pela técnica da metalurgia do pó. Os pós misturados foram obtidos por moagem a 200 rpm compactados a 100 MPa e 200 MPa.

A sinterização foi realizada a 900 °C/2h sob atmosfera de vácuo de 10⁻² Pa seguida de resfriamento no forno. A quantificação das fases e sua microestrutura foram caracterizadas por um difratômetro de raios X (DRX) e um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (MEV-EC). Os parâmetros geométricos foram obtidos pelo método de Arquimedes e também bidimensionalmente pelo software Image J por Microscopia Óptica (MO). Os ensaios mecânicos foram realizados pelo teste de compressão, sendo calculado o módulo de elasticidade (E), a resistência ao escoamento (Y) e o fator de endurecimento (H). Foi realizado

o teste de susceptibilidade à corrosão. Os ensaios eletroquímicos consistiram na medição do potencial de circuito aberto (OCP) (por 30 min) e polarização abaixo de 2 mV/s, em solução de Fusayama.

A liberação de íons foi avaliada por espectroscopia de absorção atômica de plasma endurecido acoplado também em solução de Fusayama. A porosidade diminuiu 16% na condição B. A% da fase β foi 73 e 80% nas condições A e B. Com a diminuição da porosidade, a microestrutura na condição B é mais homogênea. O E em ambos os materiais foi excelente em relação ao tecido ósseo. Os íons Ti, Nb e Sn liberados foram maiores na condição B em comparação com a condição A. Pelos ensaios eletroquímicos o material na condição A apresentou menor resistência à corrosão, possivelmente pela maior porosidade devido à menor pressão de compactação e homogeneidade microestrutural. Portanto, fica claro que o efeito da pressão de compactação a frio na microestrutura se reflete nas características físicas e eletroquímicas.

Palavras-chave: Ti-34Nb-6Sn; magnésio; módulo de elasticidade; propriedades mecânicas; Ti- β ; biomaterial

1. Introdução

O número de pacientes que necessitam de próteses ortopédicas tem aumentado significativamente devido ao aumento da população mundial e à expectativa de vida [1,2]. Em meio à crise do COVID-19, o mercado global de implantes protéticos ortopédicos estimado em US\$ 17,8 bilhões no ano de 2020, deve atingir aproximadamente US\$ 20,5 bilhões em 2027 [3]. Na reparação ortopédica, os dispositivos mais utilizados são metálicos, cerâmicos e polímeros [4], pois são capazes de recuperar a função do tecido ósseo por um longo período de tempo [5]. Dentre os dispositivos metálicos, os mais utilizados são o aço inoxidável, liga de Co-Cr, titânio e suas ligas como Ti-6Al-4V [6]. Sabe-se que o titânio possui características adequadas como resistência mecânica, módulo de elasticidade, baixa susceptibilidade à corrosão e boa biocompatibilidade [7,8,9]. Por esse motivo, mais de 70% dos dispositivos utilizados possuem titânio em sua composição [10,11]. A liga de titânio mais utilizada (Ti-6Al-4V) contém alumínio e vanádio, componentes conhecidos como citotóxicos e que podem levar a distúrbios neurológicos e respiratórios [12,13].

Portanto, torna-se imprescindível a busca de novos componentes para que os dispositivos possam ser utilizados por longos períodos sem causar danos à saúde. Íons metálicos são liberados desses biomateriais metálicos, como articulações artificiais, placas ósseas e parafusos, etc., no corpo. Os íons metálicos liberados podem apresentar várias funções como: transportador, agir no metabolismo, se acumular nos órgãos, carcinogênicos e alergênicos. Se uma grande quantidade de íons metálicos for liberada, geralmente pode ser prejudicial à saúde humana. As concentrações de íon cloreto no soro e fluido intersticial são 113 e 117 mEqL⁻¹, respectivamente, o que é um ambiente gravemente corrosivo para materiais metálicos. O fluido corporal contém vários aminoácidos e proteínas que também influenciam a corrosão metálica [14,15] e são chamados de eletrólitos. Além disso, a concentração de oxigênio dissolvido no fluido corporal é um quarto da presente no ar [16], retardando a regeneração de filme de óxido superficial, uma vez que, grande quantidade de íons metálicos são liberados quando o filme é rompido.

A mudança no pH do fluido corporal é pequena porque o fluido é uma solução tamponada e o pH geralmente permanece entre 7,0 e 7,35 [16]. O pH do tecido duro no qual o material é implantado diminui para aproximadamente 5,2 e então se recupera para 7,4 em 2 semanas [17]. No entanto, o pH pode mudar de acordo com a dissociação de proteínas no fluido corporal e seu ponto isoelétrico (geralmente 5-7, mas às vezes maior ou menor). A célula também é um tipo de corpo de carga que pode influenciar a corrosão de materiais metálicos.

Por serem atóxicos, o nióbio (Nb) e o estanho (Sn) são bons candidatos para a síntese de ligas de Ti, em condições adequadas, combinando boa rigidez e aumentando a osteointegração [18,19,20]. A toxicidade é uma característica importante, pois esses materiais estarão constantemente em contato com os fluidos corporais que podem estimular o processo de liberação dessas partículas em formas iônicas e serem direcionadas para a corrente sanguínea. No que diz respeito à fabricação de ligas metálicas, existem essencialmente duas abordagens clássicas de MP: pré-ligado (PL) e mistura elementar (ME). A combinação da rota de sinterização e prensagem uniaxial à frio convencional com a abordagem elementar de mistura resulta na maneira mais econômica de obter componentes de titânio por MP, além de ser uma técnica rápida e requerer temperaturas inferiores às da fusão dos metais componentes. Parâmetros como pressão de

compactação por prensagem uniaxial a frio, temperatura de sinterização, velocidade e tempo de moagem dos pós são alguns parâmetros que podem ser variados e estudados para se obter o material desejado com esta técnica. Neste trabalho, o objeto de estudo foi variar a pressão de compactação da liga Ti-34Nb-6Sn a fim de avaliar se o aumento da pressão auxilia na sinterabilidade da liga e, assim, promover melhores respostas químicas. É importante ressaltar que não existem estudos que demonstrem qualquer relação com a melhoria da capacidade eletroquímica dos biomateriais, variando a pressão de compactação.

2. Material e Métodos

2.1 Preparação dos materiais

Pós elementares de Ti (ASTM F67), Nb (99,99%) e Sn (99,50%) foram adquiridos da Acnis do Brasil (Sorocaba-SP-Brasil), CBMM (Araxá-MG-Brasil) e Metalpó (São Paulo-Brasil) e pesado de acordo com a composição estequiométrica pré determinada da liga Ti-34Nb-6Sn (% em massa). Os pós foram moídos à temperatura ambiente em um moinho planetário de alta energia (FRITZCH-Pulverisette 5) em aço cromo por 40 min a 200 rpm. Após a moagem, os pós foram secos sob vácuo e compactados uniaxialmente em uma matriz (1cm²) com 100 MPa (Condição A) e 200 MPa (Condição B). A sinterização foi realizada em forno resistivo de alto vácuo (COMBUSTOL-Tubular furnace) acoplado a bomba mecânica (Edwards) e difusora (Edwards), que fornecia pressão inferior a 10⁻² Pa. Antes da sinterização, a câmara do forno era preenchida com argônio e evacuado duas vezes. O processo consistiu em duas etapas. O primeiro foi aquecido a uma taxa de 15°C/min até 450 °C por 2 h e o segundo a uma taxa de 15 °C/min até 900 °C por 2h. Para a incorporação utilizou-se uma resina transparente (TransOptic, Bhuler) a 180 °C por 3,5 minutos de aquecimento, com 350 bar de pressão e 6 minutos para resfriamento com água. Um processo metalográfico foi realizado para eliminar irregularidades e óxidos superficiais formados durante o processo de sinterização. Esse processo foi realizado a 150 rpm em lixadeira metalográfica (Struers-Labopol-25), utilizando uma seqüência de lâminas de SiC de 80, 220, 500 e 1000 mesh, sempre em água para evitar superaquecimento e otimizar o tempo do procedimento. Em seguida, foram polidos (Struers-Labopol-5) com solução de 9 µm (DiaMaxx) a 200 rpm, seguido de solução final de OPS (Struers) e peróxido de hidrogênio (Derra) (10: 2). Por fim, as

amostras foram limpas com água destilada (18,2 MΩ cm) e álcool etílico / acetona por 60 min em ultrassom (Elma S30 H).

2.2 Caracterização microestrutural e física

Para a caracterização da quantificação das fases formadas, bem como dos parâmetros de rede das estruturas, foi utilizada a difração de raios X (DRX) (Bruker/D2Phaser). Foi utilizada uma radiação Cu K α que funciona a 30 kV e 10 mA. A medição foi feita na faixa de ângulos entre 20 e 90 graus, com um passo de 0,02° a cada 10 s. O refinamento da estrutura e a análise quantitativa da fase foram realizados no software MAUD livre (versão 2.94). A microestrutura como porosidade e % de fase por diferença de contraste foi caracterizada por Microscopia Óptica (MO) (Nikon-ECLIPSE LV100DA-U). A densidade e porosidade estudadas pelo método de Arquimedes de acordo com a norma ASTM B328.

2.3 Propriedades mecânicas por ensaio de compressão

Os ensaios de compressão foram realizados em amostras cilíndricas com diâmetro e altura de 10 e 6 mm, à temperatura ambiente e velocidade constante de 0,5 mm/min, empregando-se uma máquina de ensaio universal SHIMADZU-AG-X plus, 100 kN. O módulo de elasticidade (E), a resistência de escoamento (Y) e o fator de endurecimento (H) foram calculados a partir das curvas de tensão x deformação. Para o E, a curva ajustada foi calculada para as regiões elásticas (lineares). Para o H, a curva ajustada foi calculada para a segunda região linear. A resistência à compressão média para cada espécie foi determinada. Este cálculo foi feito usando o software OriginPro 8.5.

2.4 Avaliação da susceptibilidade à corrosão e liberação de íons

As amostras, depois de embebidas em metacrilato, foram pintadas em suas extremidades com esmalte transparente para delimitar a região de ataque da solução iônica e para que o líquido não entrasse nas extremidades. Em seguida, as dimensões de todas as amostras foram medidas. Foram feitas 3 medições de um lado e 3 medições do outro lado e foi feita a média, calculando suas áreas. Posteriormente, 5 mL da solução de Fusayama foram adicionados em frascos estéreis e todas as amostras (n = 3) foram adicionadas aos frascos. Todos eles foram mantidos por 730h a 37 °C. Em seguida, os líquidos foram levados para análise por Espectroscopia de

Absorção Atômica de Plasma Endurecido (ICP-OES) (Varian 715-S), a fim de avaliar e quantificar a liberação dos íons constituintes da liga (Ti, Nb e Sn). Os comprimentos de onda aplicados para determinar o conteúdo de íons liberados na solução foram: 336,0 nm (Ti), 313,1 nm (Nb) e 189,9 nm (Sn).

O teste de susceptibilidade à corrosão foi realizado por um potenciostato/galvanostato (Metrohm potenciostato-PGSTAT204), em uma superfície de 0,785 cm², utilizando uma célula de três eletrodos convencional em solução de Fusayama, (NaCl 0,4g /L, KCl 0,4g /L , CaCl₂ 0,8g /L, H₂PO₄ 0,7g/L, NaF 2,5g/L, Na₂S 0,005g/L e Ureia 1g/L) a 37 °C. O eletrodo Ag /AgCl foi usado como eletrodo de referência e Pt como eletrodo auxiliar. Os testes eletroquímicos consistiram na medição do potencial de circuito aberto (OCP) (por 30 min) e polarização abaixo de 2 mV/s. Os parâmetros de corrosão foram determinados pelos métodos de extrapolação de Tafel usando o software Wolfram Mathematica 12.1. As curvas também foram feitas no software OriginPro 8.5.

2. Resultados e discussão

A confirmação das fases constituintes nos materiais após a sinterização está presente nos padrões de DRX da Figura 1. Em ambos os padrões, não foi encontrada a presença de elementos de liga. Picos foram encontrados referentes apenas às fases α (hcp) e β (ccc). Porém, sabe-se que os parâmetros de rede de β_{Nb} são muito semelhantes aos de β_{Ti} [21,22]. Desta forma, não se pode afirmar sobre a difusão total desse elemento. Picos de Sn também não foram detectados e nem a presença de óxidos ou intermetálicos. Também se observa a presença de um pico referente à fase α no padrão de DRX do material na condição A, e que o pico referente ao plano $\{200\}_{\beta}$, aumentou sua intensidade na condição B, e houve diminuição dos picos relacionados aos planos $\{002\}_{\alpha}$ e $\{101\}_{\alpha}$ demonstrando que houve maior retenção e transformação da fase β . A percentagem da fase β com um ligeiro aumento da pressão de compactação aumentou 8,5% (A \rightarrow B) (ver tabela 1).

Observou-se uma nítida redução dos picos da fase α pelo aumento da pressão de compactação, conforme confirmado pela quantificação pelo refinamento de Rietveld. O mesmo foi encontrado no trabalho de Zhang e colaboradores [23], variando a pressão de compactação de 200 a 1200 MPa da liga Ti-Al-8V-5Fe. Sabe-se que a fase α apresenta menor resistência à deformação em ligas de Ti [24]. Assim,

com o aumento da pressão de compactação, é a fase que apresenta as maiores deformações plásticas em sua estrutura.

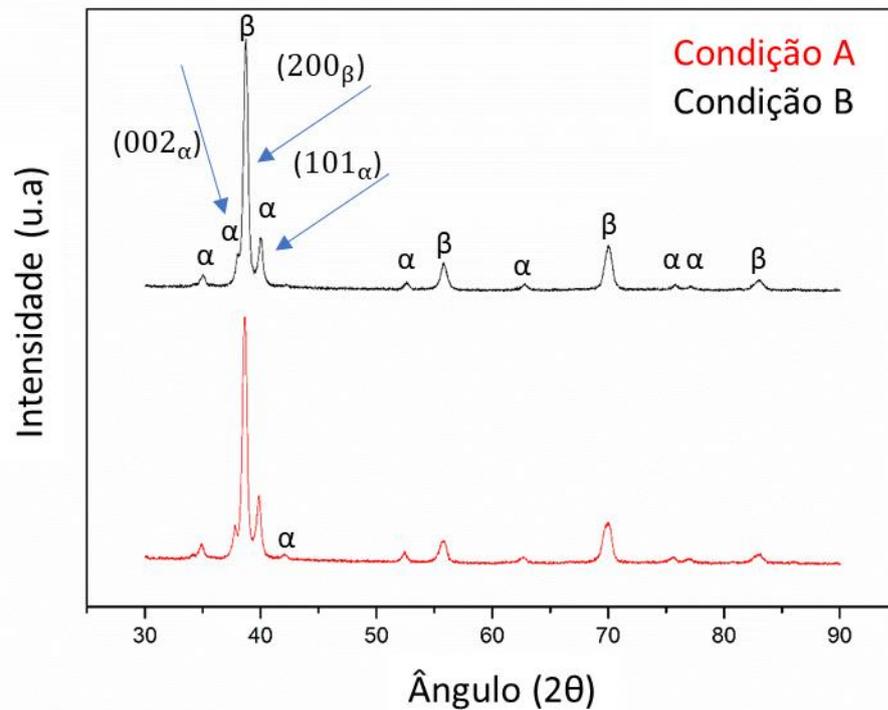


Figura 1. Padrão de DRX de materiais nas diferentes condições.

Tabela 1. Porcentagem de fases obtidas e fator de qualidade do refinamento estrutural de Rietveld.

Pressão de Compactação	Rwp (%)	fase α (%)	fase β (%)
Condição A	7,0	26,9 \pm 0,0	73,1 \pm 1,2
Condição B	3,9	20,1 \pm 0,3	79,9 \pm 0,0

A Figura 2 mostra a distribuição da porosidade dos materiais nas condições A e B. Há uma maior porosidade distribuída pela superfície do material na condição A (Figura 2A). Com o aumento da pressão de compactação, a porosidade diminuiu visivelmente (Figura 2B). A porosidade total foi de 25% e 22% (visto na tabela 2) para as condições A e B, com uma diminuição de 12% na condição B. As imagens de MEV-EC mostram a microestrutura das ligas sinterizadas em ambas as condições estudadas na Figura 3A e B. A microestrutura de ambas as condições foi formada por regiões contendo partículas α -Ti, β -Ti e Nb que não se difundiram. A fase α é visivelmente menor do que a fase β . Observou-se que as partículas maiores que não se difundiram tiveram um tamanho médio de $9,5 \pm 1,8 \mu\text{m}$. Estas partículas não foram difundidas na microestrutura β -Ti formada. Possivelmente, a temperatura não foi suficientemente alta para a difusão total das partículas.

De acordo com os dados obtidos no DRX, houve aumento da % de fase β e diminuição da porosidade, aumentando a pressão de compactação (Condição B). Como visto em trabalhos anteriores, a porosidade pode afetar o processo de difusão, pois promove uma barreira mecânica e, portanto, diminui o transporte de massa [25]. No trabalho de Peng e colaboradores, foi observada a evolução microestrutural e diminuição da porosidade em Ti e TiH_2 compactados a 100 MPa, em 3 diferentes temperaturas de sinterização (800, 900 e 1000 °C) [26]. Conforme a temperatura de sinterização aumenta, uma taxa de difusão e poros mais fechados são formados. Em nosso trabalho, ao aumentar a pressão de compactação, mantendo a mesma temperatura de sinterização (acima da β -*transus*), o processo de difusão não aumentou significativamente mesmo com a diminuição da porosidade. Porém, observou-se um efeito na microestrutura e maior facilidade de transformação da fase, com o aumento da pressão de compactação. Claramente, esse efeito foi notado pelo aumento da pressão de compactação de 100 para 200 MPa. Ao visibilizar os materiais após ataque, sob a MO (Figuras 4A e B), foi possível observar que os materiais sinterizados são do tipo $\alpha + \beta$ pela distribuição de fases por diferença de contraste. Essa diferença de contraste foi obtida pelas diferentes composições químicas dos elementos presentes nas ligas. Regiões com alto conteúdo de elementos mais pesados apresentaram um contraste mais claro do que áreas com menos conteúdo. Como o elemento Nb possui massa atômica superior (92,90 amu) do que Ti (47,86 amu), então a fase β (rica em Nb) corresponde às áreas de contraste mais claras,

enquanto as regiões mais escuras (fase α) apresentaram contraste mais escuro. Confirmando os resultados do DRX, as regiões de contraste mais claras apresentam 53,4% e 57,1% nas condições A e B, com aumento de 7% conforme a análise da imagem. A diminuição da porosidade observada com o aumento da densificação ocorreu em função do aumento da pressão de compactação, que promove maior contato entre as partículas dos pós, devido às forças de compressibilidade. Além disso, segundo Robertson e colaboradores e Zheng e colaboradores, a presença de hidretos, além de melhorar o processo de difusão dos elementos de liga presentes [27,28], no nosso caso, Nb e Sn, mas também devido à liberação de hidrogênio, as vacâncias formadas podem ter contribuído para o processo de densificação.

Tabela 2. Parâmetros geométricos obtidos por Arquimedes dos materiais nas diferentes condições estudadas.

Pressão de Compactação	Densidade Experimental (g/cm ³)	Densidade Relativa, ρ / ρ_s	Porosidade total (%)
Condição A	4,02	0,73	25
Condição B	4,24	0,77	22

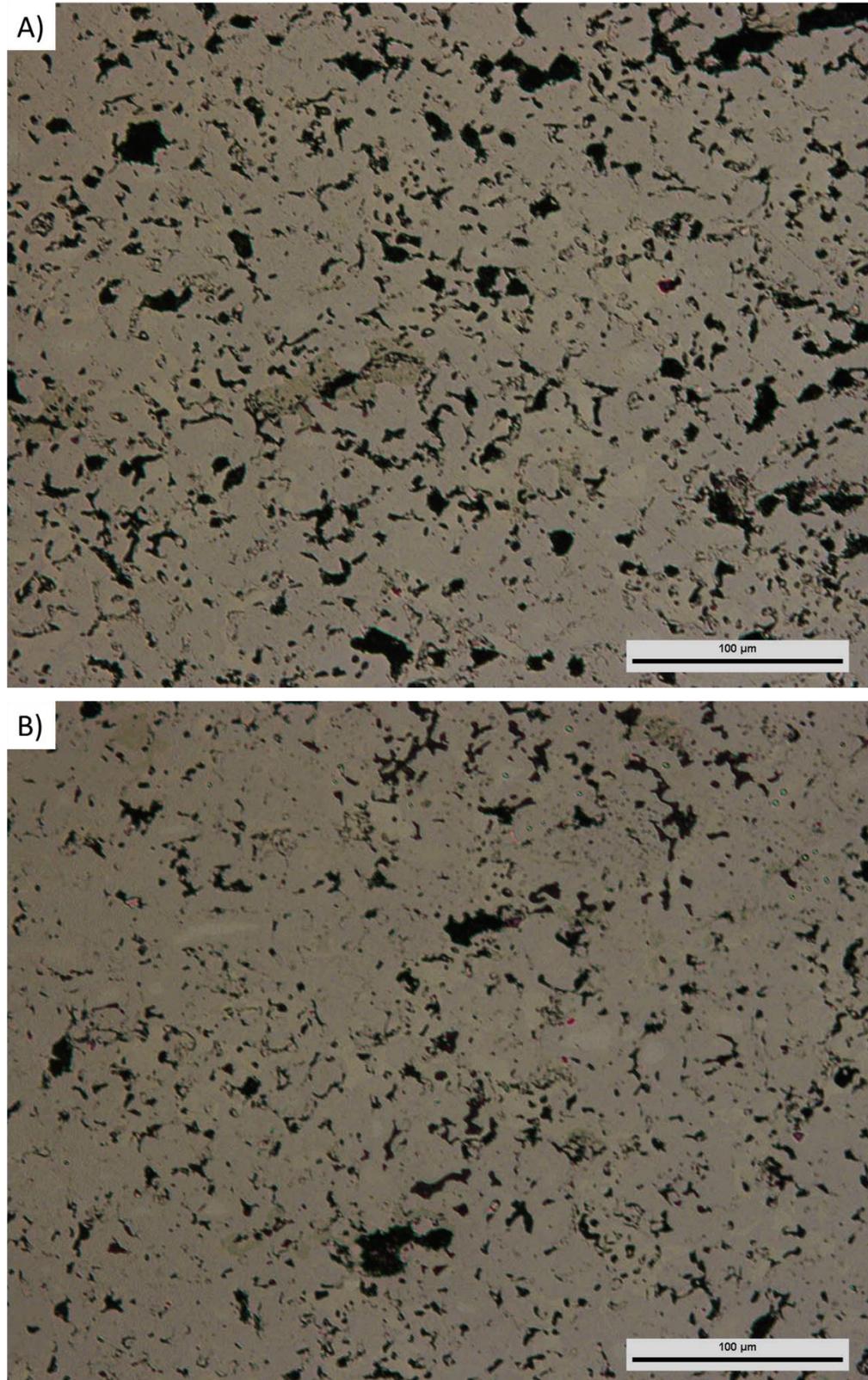


Figura 2. Distribuição dos poros por MO. A) em relação ao material da condição A.
B) em relação ao material da condição B.

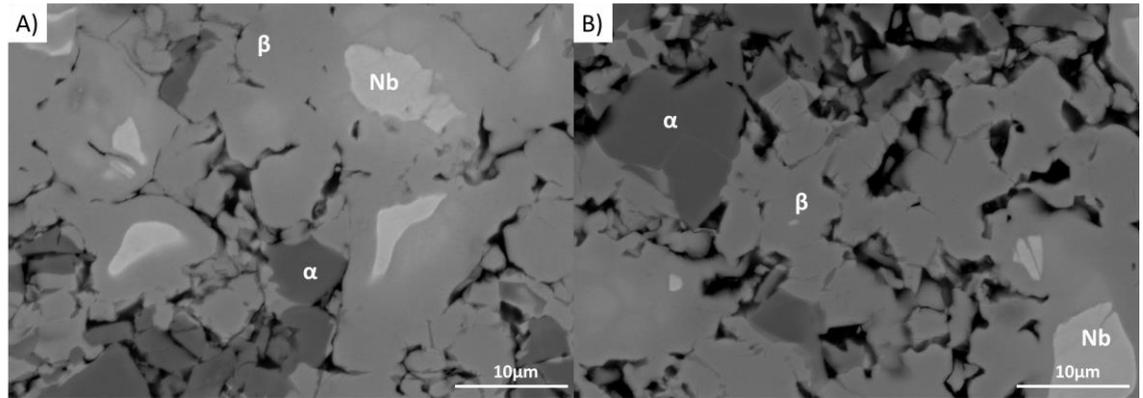


Figura 3. MEV-EC dos materiais sinterizados utilizando detector de BSE. A) em relação ao material na condição A. B) em relação ao material na condição B.

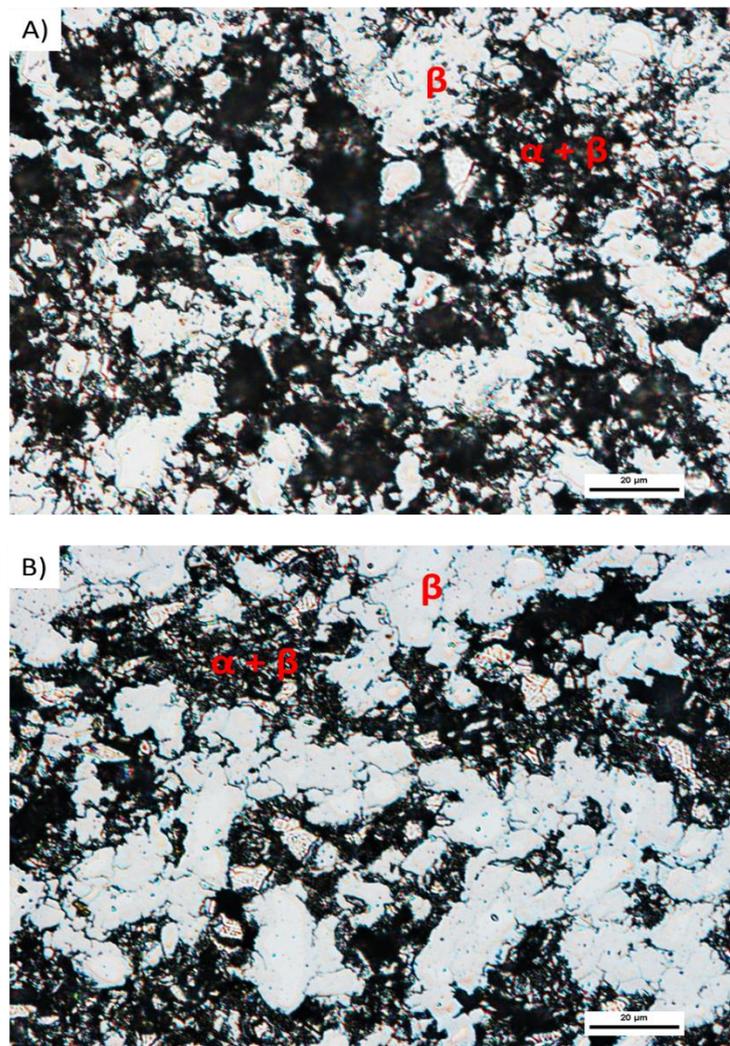


Figura 4. Distribuição de fase de MO por diferença de contraste após ataque químico. A) com relação ao material na condição A. B) Com relação ao material na condição B.

Nas Figuras 5A e B estão representadas as curvas de deformação-tensão compressiva de materiais sinterizados nas condições A e B, que apresentavam 9 mm de altura e 6 mm de diâmetro. Os materiais foram ensaiados até 2 mm de deslocamento, a fim de avaliar os parâmetros da região linear e da zona plástica, com o limite plástico, denominado fator de endurecimento (H). Portanto, as curvas foram traçadas até 0,30 mm/mm, o que corresponde a aproximadamente 2% da deformação.

Os valores de tensão aumentaram para uma tensão máxima (resistência à compressão) de acordo com as indicações nos gráficos da figura 5A. Ambos os materiais falham devido à separação de partículas nos planos de 45° ao longo do eixo x. As falhas foram avaliadas por MEV e estão representadas nas figuras 6A e B. A falha das amostras continua com a separação e/ou rompimento das zonas de contato principalmente entre as partículas marcadas com as setas.

Os materiais exibiram comportamentos de tensão-deformação compressivos semelhantes, com valores de Y na faixa de 244 a 318 MPa (Tabela 3). As deformações correspondentes às tensões máximas na Figura 5A e B foram consideradas falhas por deformação. Os valores do módulo de elasticidade foram determinados pelo método dos dois pontos, na região linear inicial das curvas tensão-deformação (vista na Figura 5B), que obedeceram ao princípio de proporcionalidade. A tensão de escoamento foi considerada como o valor limite de proporcionalidade, conforme apresentado também na Figura 6B, com seus respectivos ajustes.

É claro que os valores de E, Y e H são menores no material A (Tabela 3). Há diminuição desses parâmetros, enquanto que o material na condição B aumenta a densidade (de 3,57 para 4,43 g/cm²), e melhora todas essas características devido à maior pressão de compactação e redução da porosidade de 12%. Além disso, o percentual da fase β aumentou com o aumento da pressão de compactação. Este aumento foi devido a maior retenção e solubilização de partículas de Nb em comparação a 100MPa. Assim, os parâmetros mecânicos aumentam conseqüentemente.

O E em ambas as condições apresentou compatibilidade mecânica. Já o E do tecido ósseo está na faixa de 0,3-20 GPa [29]. Este baixo valor alcançado pode ser devido à baixa pressão de compactação utilizada (condições A e B) que promove

menor densificação das peças. Outra possibilidade foi a presença de alto teor de Nb, que é um elemento estabilizador β nas ligas de Ti. A relação entre E e o aumento da pressão de compactação foi claramente observada. Esse aumento proporcionou maior densificação e maior valor de E. No entanto, houve aumento percentual da fase β na condição B, que conseqüentemente pode ter diminuído o E. Curiosamente, o efeito da densificação é maior do que a transformação alotrópica. Assim, a pressão de compactação tem um efeito significativo nas propriedades mecânicas. Em relação ao CP Ti com porosidade na faixa de 50% [30], o Y foi menor do que ambos os materiais sinterizados no presente trabalho, e o E é semelhante. No trabalho de Bolzoni e colaboradores, a liga Ti-6Al-4V sob diferentes condições experimentais de temperatura de sinterização apresentou o E na faixa de 104 a 116 GPa, significativamente superior ao tecido ósseo [31]. Vale ressaltar que se trata de um material que possui elementos nocivos já comprovados experimental e clinicamente.

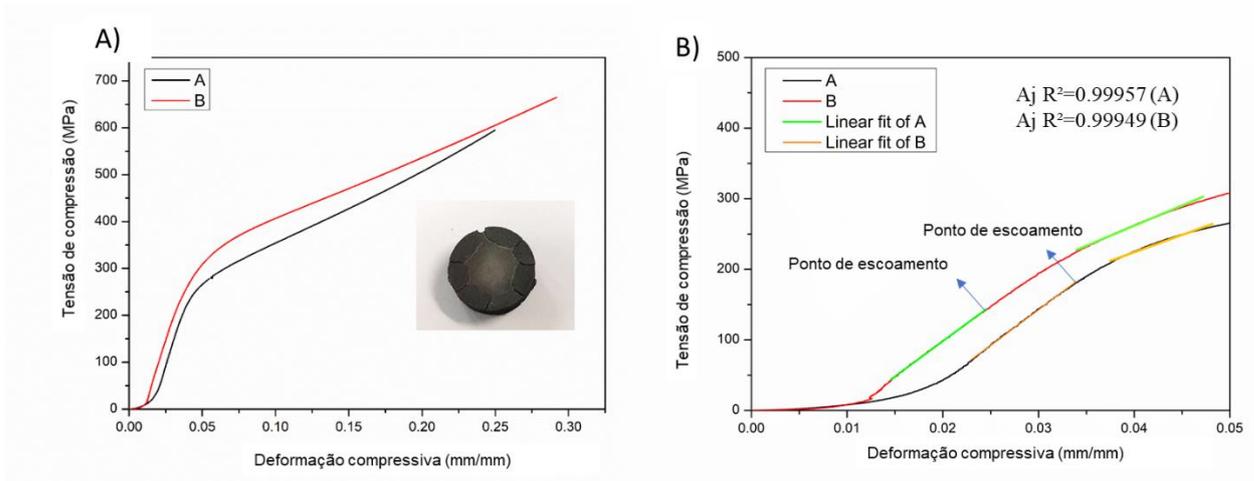


Figura 5. Tensão compressiva versus deformação da liga Ti-34Nb-6Sn nas condições A e B. A) Curvas compressivas dos materiais em diferentes condições e uma imagem típica pós-teste da superfície com as fraturas. B) Indicação dos ajustes das regiões lineares para o cálculo do módulo elástico e do fator de endurecimento.

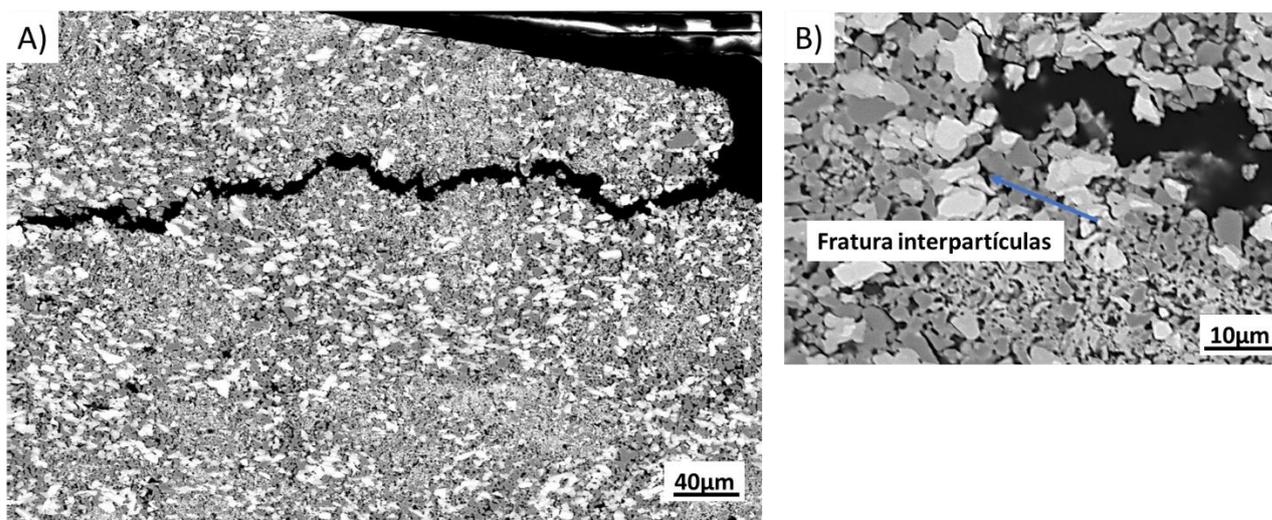


Figura 6. MEV-EC típica da fratura do material sinterizado por teste de compressão

Tabela 3. Parâmetros mecânicos obtidos das curvas compressivas.

Pressão de Compactação	Módulo Elástico (E)	Yield strength _(0.2%) (Y) (MPa)	Hardening fator (H) (MPa)	Módulo elástico específico E/ρ_s
Condição A	14,06±3,70	244,94±33,71	2,70±0,23	3,57
Condição B	18,82±7,16	318,56±45,52	4,80±0,95	4,43

A liberação de íons Ti, Nb e Sn nas condições A e B são mostradas na Figura 7. Todos os elementos quando imersos aumentaram sua velocidade de liberação de íons na condição A. Ti tem uma liberação menos significativa do que Nb e Sn na condição B. Em relação a velocidade de liberação de íon da liga, também foi maior na condição B do que em A. Isso pode ser visto na tabela 4 onde os valores em µg/L de cada íon liberado são encontrados nas duas diferentes condições.

O íon Ti liberado no meio analisado, foi superior à composição nominal presente na liga. Por outro lado, o Nb apresenta menor liberação em ambas as condições que a sua composição nominal (<34% em massa). O Sn em ambas as

condições apresentou liberação superior à sua composição nominal (> 6% em peso). Em mais detalhes, nota-se que a taxa de corrosão da liga Ti-34Nb-6Sn com maior pressão de compactação promoveu uma maior taxa de dissolução dos três elementos que compõem o material. Curiosamente, esse material tem menos porosidade e maior % de fase β , o que pode ter contribuído para esse achado. Sabe-se que o Ti é mais reativo e se difunde mais do que o Nb e o Sn, que são elementos mais nobres, ou seja, sua atividade é maior do que os óxidos de Nb e Sn formados.

À medida que o percentual de fase β aumentou, com o aumento da pressão de compactação (condição B), possivelmente devido à maior difusão dos elementos de liga, que é influenciada pela diminuição da porosidade [32], os grãos β sofreram maior ataque por imersão, devido à menor densidade e mais desordem na escala atômica [33,34]. Segundo Schroeder & Balassa [35], uma dieta contendo 100 g de proteína, 250 g de carboidrato e ou 100 g de gordura contém cerca de 620 μg de Nb. De acordo com nossos resultados, os valores encontrados estiveram abaixo desses. O Sn de acordo com os regulamentos sobre níveis máximos [36] indica que pode estar entre 50-200 mg/kg de refeição. Nossos valores também foram muito mais baixos do que o recomendado pelo padrão. Para Ti, de acordo com as regras da FDA, ele não pode exceder mais de 1% da massa de um alimento [37]. Ou seja, para 1 kg de alimento, não deve haver mais que 106 μg de TiO_2 . Na solução de Fusayama, (em 1L), os valores liberados de Ti em ambas as condições foram 0,018% (Condição A) e 0,021% (Condição B) em relação à massa total da solução.

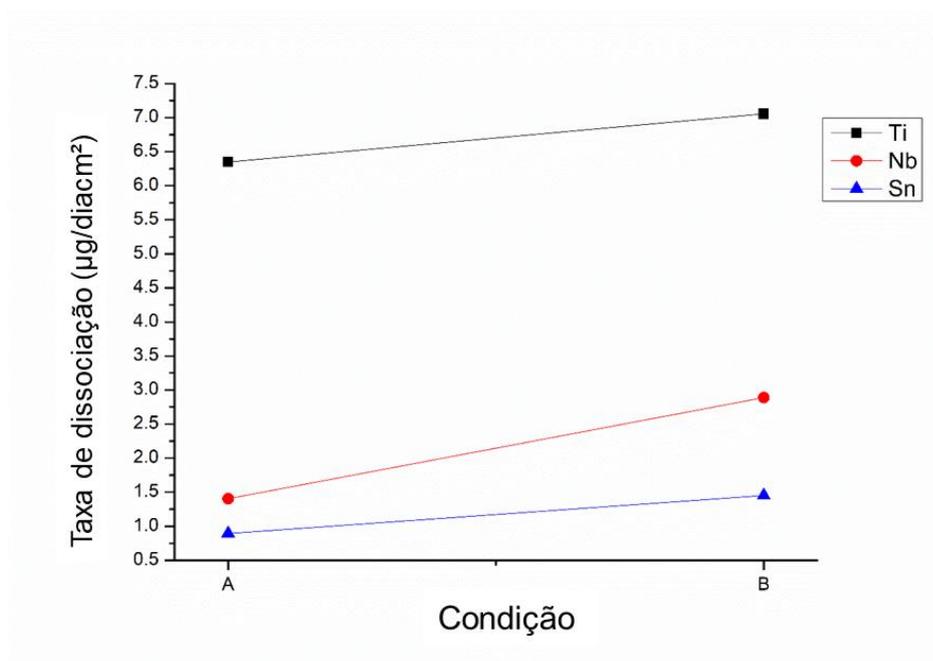


Figura 7. Comportamento da liberação dos íons Ti, Nb e Sn dos materiais nas Condições A e B quando imersos em solução de Fusayama por 30 dias.

Tabela 4. Íons Ti, Nb e Sn liberados contrastados com a composição nominal da liga.

Condições	Ti	Nb	Sn	Ti34Nb6Sn
A (µg/L)	556 ± 386	123 ± 137	72 ± 27	751
A (%)	74	16	10	100
B (µg/L)	618 ± 144	253 ± 150	117 ± 89	988
B (%)	62	26	12	100
Taxa de liberação de íons (µg/cm²/dia)				
Condição A	6,35	1,40	0,89	8,64
Condição B	7,05	2,88	1,45	11,44

As análises eletroquímicas foram realizadas avaliando o potencial de circuito aberto (OCP) e as curvas de polarização potênciodinâmica (PPC) presentes nas Figuras 8A e B e seus parâmetros cinéticos (vistos na tabela 5), em solução de Fusayama a 37 °C.

A Figura 8A representa as curvas do potencial de circuito aberto (OCP) das duas condições estudadas. A condição A, apresentou menor potencial de corrosão, sendo estabilizado em um valor inferior ao da condição B. No momento estudado (2250s) o material referente à condição B demonstrou maior estabilidade do potencial de corrosão. A Figura 8B compara as curvas de polarização potenciodinâmica das duas condições. Ambas as curvas mostraram regiões típicas de um metal, referindo-se à região catódica da curva de polarização, que são: ativa e tendência de zona de passivação.

O potencial médio de corrosão para a condição A foi menor do que a condição B, um aumento de cerca de 36% no material B (conforme visto na tabela 5). Esses potenciais obtidos pelas curvas de polarização foram significativamente menores do que aqueles obtidos pelas medidas de OCP. Este achado é esperado porque o teste de polarização foi iniciado em um potencial catódico e, dessa forma, o filme de óxido passivo na superfície foi parcialmente removido devido aos potenciais iniciais altamente redutores. Além disso, a R_p aumentou 1,5 vezes na condição B. Assim, o fenômeno de polarização para o processo de corrosão foi mais intenso, conseqüentemente com maior resistência à corrosão.

Na figura 8B, o material A teve um potencial passivo na faixa de -0,720 a -0,563 V (Ag / AgCl) e o material B na faixa de -0,508 a -0,276 V (Ag / AgCl). Os dois materiais apresentaram valores de densidade de corrente baixos que não excedem o $\log | 5 |$ (A/cm²). Em ambos os materiais houve tendência de passivação, pois a densidade de corrente diminuiu e logo começou a aumentar significativamente, com maior intensidade no material da condição A.

Ambos os materiais neste trabalho apresentam excelentes taxas de corrosão, uma vez que uma liga ou um metal encontra-se na faixa de 25-100 $\mu\text{m}/\text{ano}$ [38]. Os materiais nesta faixa são considerados resistentes à corrosão. Porém, o material na condição B, apresentou maior resistência à corrosão com menor taxa de corrosão. Conforme a porosidade diminuiu em 12%, o processo de difusão dos elementos de liga (Nb e Sn) aumentou, devido à maior pressão de compactação do material. No trabalho de Fotj e colaboradores, a liga Ti-39Nb, sintetizada com diferentes níveis de porosidade, mostrou que acima de 15% de porosidade, o processo de corrosão localizada foi muito significativo em um ambiente rico em íons fluoreto [39]. No

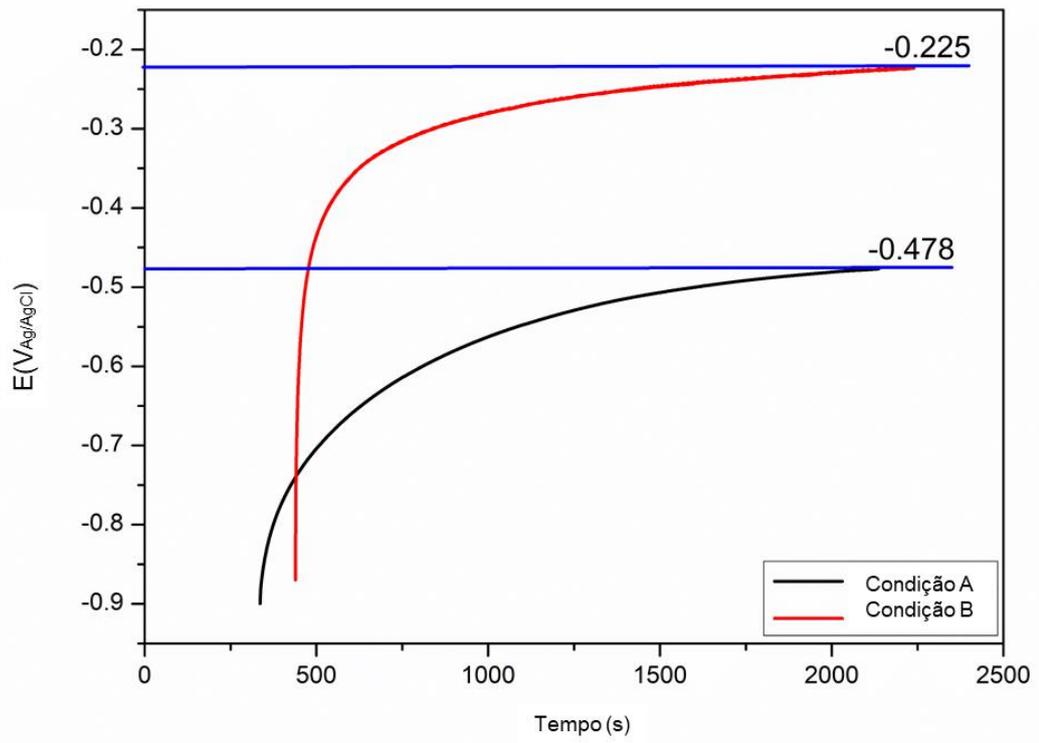
presente estudo, 25% da porosidade, encontrada na condição A, promoveu um maior aumento na densidade de corrente (Figura 8B). Porém, nas condições A e B, a ruptura ocorreu próximo a 980 mV/Ag/AgCl. O corpo humano tem um potencial de redução/oxidação de 500 mV/SSCE [40], portanto, essas duas condições se encaixam muito bem.

O processo corrosivo de um metal também é influenciado pelo ambiente ao qual está exposto. Meio rico em íons flúor, promove corrosão por pite e por fissuras devido à agressividade desses íons [41]. No trabalho de Huang com a liga Ti-6Al-4V observou-se que as propriedades eletroquímicas são significativamente influenciadas pela concentração de NaF [42], como pelo comportamento da camada passiva formada. Nas ligas Ti-13Nb-13Zr, Ti-5Nb-13Zr, Ti-20Nb-13Zr e no material CPTi [43] os parâmetros de resistência à corrosão diminuíram com o aumento dos íons fluoreto no meio. Em nosso trabalho, podemos ver claramente a variação da resistência à corrosão em relação à porosidade formada, em um meio agressivo rico em íons fluoreto.

Tabela 5. Parâmetros cinéticos obtidos da curva potenciodinâmica.

Pressão de Compactação	i_{corr} (A/cm ²)	E_{corr} (V)	R_p (Ω)	Cr (μ m/ano)
Condição A	1,62029E-05	-0,7216	1559.0873	1,14
Condição B	1,05648E-05	-0,5084	2391.1296	0,745

a)



b)

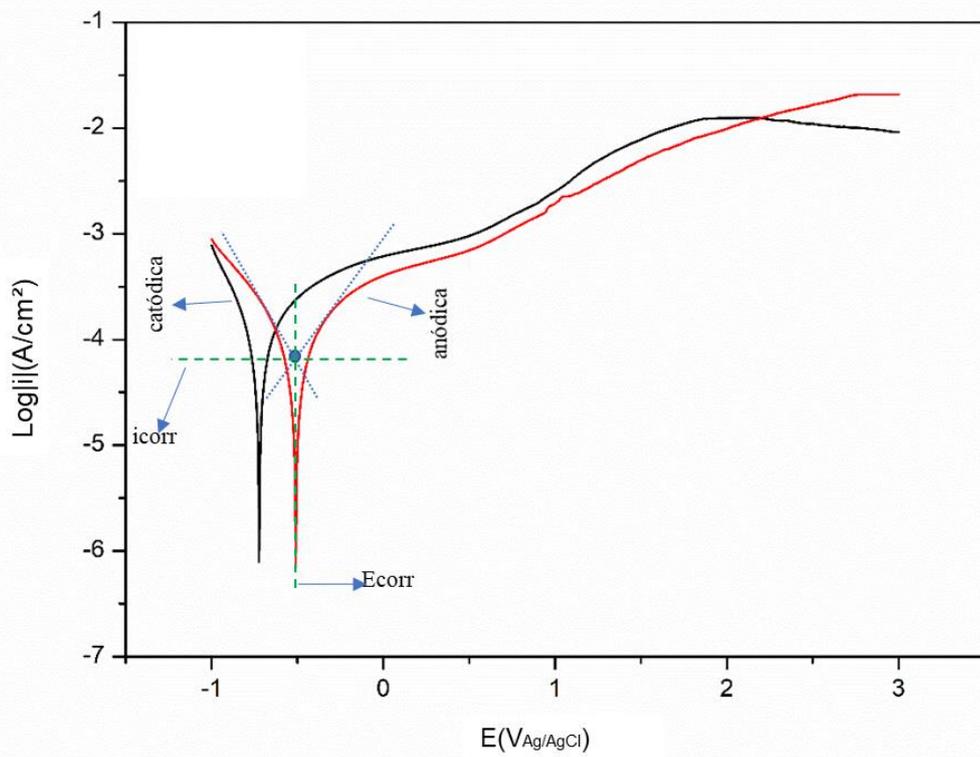


Figura 8. Comportamento da corrosão eletroquímica das diferentes amostras na solução de Fusayama a 37°C: A) Potencial de circuito aberto (OCP) B) Curva de Polarização Potenciodinâmica (PPC).

Conclusão

A liga Ti-34Nb-6Sn produzida por metalurgia do pó em duas condições de baixa pressão de compactação (100 MPa (Condição A) e 200 MPa (Condição B) foi investigada quanto às suas propriedades mecânicas, microestruturais e eletroquímicas, a fim de avaliar os efeitos da porosidade sobre estes diferentes parâmetros estudados. As principais conclusões obtidas são destacadas a seguir:

- A porosidade obtida diminuiu 12% com o aumento da condição estudada;
- A condição B promoveu maior % de fase β formada, com maior homogeneidade da microestrutura;
- Ambos os materiais apresentaram em suas regiões microestruturais do tipo $\alpha + \beta$ e β -Nb, sendo que na condição B houve maior difusão dos elementos, possivelmente devido ao decréscimo na porosidade formada;
- Os E em ambos os materiais foram excelentes em relação ao tecido ósseo, com o material na condição B que apresentou melhores características mecânicas no caso de Y e H;
- A liberação de íons Ti, Nb e Sn foi maior na condição B, devido ao aumento da % da fase β , que possui maior desordem atômica que a fase α , além de uma densidade menor;
- O material da condição A apresentou menor resistência à corrosão em relação ao material da condição B, devido à diferença de porosidade obtida e também pela menor homogeneidade microestrutural presente na condição A;

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [bolsa: 2019/24237-6], pelo Ministério Espanhol de Ciência, Innovación y Universidades com Bolsa RTI2018-097810-B-I00 e pelo Instituto de Pesquisa Tecnológica do Estado de São Paulo (IPT-SP), no desenvolvimento de materiais, aos quais os autores agradecem.

Referências

- [1] E.A. Lewallen, S.M. Riestler, C.A. Bonin, H.M. Kremers, A. Dudakovic, S. Kakar, R.C. Cohen, J.J. Westendorf, D.G. Lewallen, A.J. van Wijnen, Biological strategies for improved osseointegration and osteoinduction of porous metal orthopedic implants. *Tissue Eng. Part B Rev.* (2015) 21:218–230. <https://doi:10.1089/ten.teb.2014.0333>
- [2] M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A.K. Gogia, Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—A review. *Prog. Mater. Sci.* (2009) 54:397–425. <https://doi:10.1016/j.pmatsci.2008.06.004>.
- [3] M. Kulkarni, A. Mazare, P. Schmuki, A. Iglic, Biomaterial surface modification of titanium and titanium alloys for medical applications, *Nanomedicine.* (2014).
- [4] J.R. Davis, *Handbook of Materials for Medical Devices.* 4th ed. ASM International; Novelt, OH, USA: 2006.
- [5] M. Niinomi, T. Narushima, M. Nakai, *Advances in Metallic Biomaterials*, third ed., Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, 2015.
- [6] A. Churakova, D. Gunderov, A. Lukyanov, N. Nollmann, Transformation of the TiNi Alloy Microstructure and the Mechanical Properties Caused by Repeated B2-B19' Martensitic Transformations. *Acta Metallurgica Sinica (English Letters)*, (2015) 28(10), 1230–1237. <https://doi:10.1007/s40195-015-0317-6>.
- [7] Y.C. Lin, H.M. Chen, Y.C. Chen, *Mater. Des.* 54, 222 (2014).
- [8] G.J. Feng, Z.R. Li, R.H. Liu, S.C. Feng, Effects of Joining Conditions on Microstructure and Mechanical Properties of Cf/Al Composites and TiAl Alloy Combustion Synthesis Joints. *Acta Metall. Sin. (Engl. Lett.)* 28, 405–413 (2015). <https://doi.org/10.1007/s40195-015-0209-9>.
- [9] L.M.R. De Vasconcellos, Y. Rodarte, R.F. do Prado, L.G.O. de Vasconcellos, M.L.D. Alencastro Graa, C.A. Alves Cairo. Porous titanium by powder metallurgy for biomedical application: Characterization, cell cytotoxicity and in vivo tests of osseointegration. In: Hudak R, *Technical Applications in Medicine*, 2012.
- [10] A. Cremasco, A.D. Messias, A.R. Esposito, D. Eliana Aparecida de Rezende D, R. Caram, Effects of alloying elements on the cytotoxic response of titanium

alloys. *Mater. Sci. Eng. C* 31(2011)833–839. [https://doi:10.1016/j.msec.2010.12.013](https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.12.013).

[11] D.G. Barceloux, Vanadium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol*, New York, 37(1999) 265–278.

[12] J.K. Marquis, Aluminum neurotoxicity: an experimental perspective. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, New York, 29(1982) 43–49. <https://doi.org/10.1007/BF01606087>.

[13] K. Merritt, S.A. Brown, (1988). Effect of proteins and pH on fretting corrosion and metal ion release, *Journal of Biomedical Materials Research*. 22(2) (1988) 111–120. <https://doi.org/10.1002/jbm.820220204>.

[14] R.L. Williams, S.A. Brown, K. Merritt, Electrochemical studies on the influence of proteins on the corrosion of implant alloys. *Biomaterials*, 9(2)(1988)181–186. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(88\)90119-6](https://doi.org/10.1016/0142-9612(88)90119-6).

[15] J. Black, *Biological Performance of Materials*, Plenum, New York (1984).

[16] L.L. Hench, E.C. Ethridge, *Biomaterials-The Interfacial Problem*, *Adv. Biomed. Eng.* 5 (1975), 35. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-004905-9.50007-4>.

[17] A. Biesiekierski, J. Wang, M. Abdel-Hady Gepreel, C. Wen, A new look at biomedical Ti-based shape memory alloys, *Acta Biomater.* 8(5) (2012) 1661.

[18] K. Miura, N. Yamada, S. Hanada, T-K. Jung, E. Itoi, The bone tissue compatibility of a new Ti–Nb–Sn alloy with a low Young’s modulus, *Acta Biomater.* 7(2011) 2320–2326.

[19] H. Matsumoto, S. Watanabe, S. Hanada, Beta TiNbSn alloys with low Young’s modulus and high strength, *Mater Trans.* 46(2005) 1070–1078. <https://doi.org/10.2320/matertrans.46.1070>.

[20] T.B. Massalski., *Binary Alloy Phase Diagrams*, Vol 2, American Society for Metals, Cleveland, Ohio, USA, 1986.

[21] C. Salvo, C. Aguilar, R. Cardoso-Gil, A. Medina, L. Bejar, R.V Mangalaraja, Study on the Microstructural Evolution of Ti-Nb Based Alloy Obtained by High-

Energy Ball Milling, *J. Alloys Compd.* 720(2017)254–263. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.05.262>.

[22] Y. Zhang, X. Guo, Y. Chen, Q. Li, *Micro & Nano Letters*. Effect of compaction pressure on the densification, microstructure, and mechanical properties of Ti-1Al-8V-5Fe alloy based on TiH₂ and HDH-Ti powders, 14(2019) 906 – 910 <http://doi:10.1049/mnl.2018.5736>.

[23] A. Nouri, X. Chen, Y. Li, Y. Yamada, P.D. Hodgson, C. Wen, Synthesis of Ti–Sn–Nb alloy by powder metallurgy, *Mater Sci Eng A.* 485(1-2)(2008)562–570. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msea.2007.10.010>.

[24] P. Burke P, G.J. Kipouros, D. Fancelli, V. Laverdiere, Sintering fundamentals of Mg powders, *Can Metall Q.* 48(2)(2009)123–132. <https://doi.org/10.1179/cmqr.2009.48.2.123>.

[25] Q. Peng, B. Yang, B. Friedrich, Porous Titanium Parts Fabricated by Sintering of TiH₂ and Ti Powder Mixtures, *Journal of Materials Engineering and Performance.* (2017)27(1) 228–242. doi:10.1007/s11665-017-3099-3.

[26] I.M. Robertson, G.B. Schaffer, Comparison of sintering of titanium and titanium hydride powders, *Powder Metall.* 53(2010) 12–19. <https://doi:10.1179/003258909x12450768327063>.

[27] Y.F. Zheng, X. Yao, J.M. Liang, Microstructures and tensile mechanical properties of titanium rods made by powder compact extrusion of a titanium hydride powder, *Metall. Mater. Trans. A*, 47(4)(2016) 1842–1853. <https://doi:10.1007/s11661-016-3333-x>.

[28] L.J. Gibson, The mechanical behaviour of cancellous bone. *J Biomech.* 18(5)(1985)317–328. [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9290\(85\)90287-8](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9290(85)90287-8).

[29] W. Xu, X. Lu, B. Zhang, C. Liu, S. Lv, S. Yang, X. Qu, Effects of Porosity on Mechanical Properties and Corrosion Resistances of PM-Fabricated Porous Ti-10Mo Alloy. *Metals.* 8(3)(2018) 188. <http://doi:10.3390/met8030188>.

[30] L. Bolzoni, E.M. Ruiz-Navas, E.M, E. Gordo, Feasibility study of the production of biomedical Ti–6Al–4V alloy by powder metallurgy, *Materials Science and Engineering: C.* 49(2015) 400–407. <http://doi:10.1016/j.msec.2015.01.043>.

- [31] O.M. Ivasishin, D. Eylon, V.I Bondarchuk, D.G. Savvakin, Diffusion during Powder Metallurgy Synthesis of Titanium Alloys. Defect and Diffusion Forum. 277(2008) 177–185. <https://doi:10.4028/www.scientific.net/DDF.277.177>.
- [32] K. Prashanth, K. Zhuravleva, I. Okulov, M. Calin, J. Eckert, A. Gebert, Mechanical and corrosion behavior of new generation Ti-45Nb porous alloys implant devices, Technologies. 4(2016) 33. <https://doi:10.3390/technologies4040033>.
- [33] Afzali, Ghomashchi, Oskouei, On the Corrosion Behaviour of Low Modulus Titanium Alloys for Medical Implant Applications: A Review, Metals. 9(8)(2019) 878. <https://doi:10.3390/met9080878>.
- [34] H.A Schroeder, J.J. Balassa, (1965). Abnormal trace metals in man: Niobium, Journal of Chronic Diseases. 18(3)(1965) 229–241. [https://doi:10.1016/0021-9681\(65\)90150-5](https://doi:10.1016/0021-9681(65)90150-5).
- [35] S.I. No. 389. (Tin in Food) Regulations. <http://www.irishstatutebook.ie/eli/1993/si/389/made/en/print>. (accessed 23 December 2020).
- [36] U.S. Food and Drug Administration. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=73.575>. (accessed 23 December 2020).
- [37] M.G. Fontana, Corrosion Engineering, third ed., McGraw-Hill Book Company, New York, 1986.
- [38] J. Fojt, L. Joska, J. Málek, Corrosion behaviour of porous Ti–39Nb alloy for biomedical applications, Corrosion Science. 71(2013) 78–83. <https://doi:10.1016/j.corsci.2013.03.007>.
- [39] E. Eisenbarth, D. Velten, M. Muller, R. Thull, J. Breme, Biocompatibility of beta-stabilizing elements of titanium alloys, Biomaterials. 25(2004) 5705–5713. <https://doi:10.1016/j.biomaterials.2004.01.021>
- [40] L. Reclaru, J.M. Meyer. Effects of fluorides on titanium and other dental alloys in dentistry, Biomaterials. 19(1998) 85–92. [https://doi:10.1016/s0142-9612\(97\)00179-8](https://doi:10.1016/s0142-9612(97)00179-8).

[41] H.H. Huang, Effect of fluoride and albumin concentration on the corrosion behavior of Ti-6Al-4V alloy, *Biomaterials*. 24(2003) 275–282. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00315-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00315-0).

[42] A. Robin, O.A.S. Carvalho, Influence of pH and fluoride species on the corrosion behavior of ti-xnb-13zr alloys in ringer's solution, *Adv. Mater. Sci. Eng.* (2013). <https://doi.org/10.1155/2013/434975>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como objetivo principal obter uma liga de titânio porosa com módulo elástico próximo ao tecido ósseo e livre de elementos tóxicos. Estes materiais foram produzidos pela técnica da metalurgia do pó e pelo suporte de espaço, usando o magnésio como espaçador, a fim de aumentar a porosidade. Foram usados elementos de liga (Nb e Sn) nas proporções mássicas de 34 % em peso para o elemento Nb e 6% em peso para o elemento Sn. Estas proporções foram usadas de acordo com o sistema binário Ti-Nb e Ti-Sn a fim de se obter um material estruturado sob significativa porcentagem de fase β para se obter um material com baixo módulo de elasticidade e baixa porcentagem de fase alfa a fim de conferir maior resistência mecânica. As sinterizações foram realizadas à 700, 800 e 900°C a fim de estudar o efeito da porosidade formada na microestrutura e nas propriedades mecânicas, corrosivas e biológicas nestas diferentes temperaturas.

Após realizada a moagem e mistura dos pós elementares, os mesmos foram compactados e sinterizados. As sinterizações a 800 e 900°C promoveram melhor consolidação da liga, com maior número de macroporos e diminuição dos microporos. A microporosidade diminuiu pelo aumento da temperatura de sinterização e conseqüente maior transformação de fase $\alpha \rightarrow \beta$ tanto nos corpos de prova com e sem espaçador. Foi observado, maior resistência a transformação de fase nos materiais com espaçador, ou seja, a porosidade promoveu uma barreira mecânica que influencia a interdifusão de Nb em Ti. Também foi observado que o aumento da pressão de compactação na sinterização à 900°C, diminui a porosidade e promoveu menos resistência ao processo de difusão e maior homogeneidade microestrutural da liga. No entanto, nas três temperaturas de sinterização foi observado regiões do tipo $\alpha + \beta$ e partículas de Nb que não foram difundidas, sendo as regiões β -Nb encontradas em maior quantidade em menores temperaturas (700 e 800°C) e menor pressão de compactação (100MPa). O módulo de elasticidade para os corpos de prova sem espaçador foi de 22GPa enquanto que os materiais com espaçador foi de 18GPa.

A resistência a corrosão foi avaliada em dois fluidos, sendo um deles simulador do fluido corporal (solução HANK) e o outro, um simulador da saliva.

O corpo de prova sem espaçador apresentou um potencial mais anódico do que o corpo de prova sem espaçador (-0,70V e -0,40V vs Ag / AgCl). O maior valor de potencial de circuito aberto para o corpo de prova com espaçador está relacionado com a presença de magnésio ou com o aumento da porosidade que pode ter tornado este material mais resistente à corrosão. Pela curva de polarização, foi observado que o E_{corr} para o corpo de prova com magnésio apresenta-se mais anódico, sendo 0,28 V mais anódico. No entanto a taxa de corrosão (i_{corr}) de ambos os materiais não variou significativamente. Essa diferença do potencial pode ser causada por condições de superfícies, como as composições de fase, componentes de liga, tamanho do cristalito e porosidade e distribuição que podem conferir atividade eletroquímica distinta. A resistência a corrosão em solução Fusayama foi testada apenas para os materiais sem espaçador obtidos à 900°C em duas pressões de compactação distintas. Foi observado menor taxa de corrosão quando os corpos de prova foram compactados a 200MPa. Tanto o OCP como o E_{corr} foram mais anódicos para os materiais obtidos a 200MPa.

Tanto os cps com e sem espaçador apresentaram boa biocompatibilidade, sendo que os cps com espaçador promoveram diferenciação osteogênica mais acentuada.

Sendo assim, a fim de estudar a obtenção de ligas porosas do sistema Ti-Nb-Sn com magnésio com baixo módulo de elasticidade foram preparadas em diferentes condições, variando baixas pressões de compactação e temperatura de sinterização. De maneira geral, os resultados indicaram que as ligas preparadas com maior temperatura de sinterização apresentam maior homogeneidade microestrutural. No entanto, a porosidade diminuiu significativamente. Porém, o módulo elástico não foi drasticamente afetado, estando ainda na faixa do tecido ósseo. Os materiais obtidos a 800 e 900°C apresentaram bons valores de dureza comparado com o Ticp e ligas com composições semelhantes.

SUGESTÕES PARA POSSÍVEIS TRABALHOS FUTUROS

Este presente trabalho foi desenvolvido inicialmente a fim de se obter uma liga porosa, livre de elementos tóxicos e com baixo módulo elástico para servir como implante ortopédico. A porosidade e o baixo módulo de elasticidade foram obtidos com sucesso. No entanto, não foi obtido um material com uma microestrutura totalmente homogênea, o que pode influenciar em sua resistência mecânica. Dessa maneira, sugere-se que:

- Seja avaliado em temperaturas mais elevadas com o mesmo teor de magnésio, mesma pressão de compactação a influencia na homogeneidade microestrutural, formação da porosidade e o o módulo elástico;
- Para os mesmos parâmetros de processamento utilizados neste trabalho, que seja analisado a presença de fases metaestáveis, como a fase ω , que pode fragilizar o material diminuindo a sua ductilidade;
- Analisar o efeito da porosidade, da temperatura e da pressão de compactação na resistência a tribo-corrosão a superfície destes materiais, utilizando as mesmas soluções simuladoras de fluidos corporais usadas neste presente trabalho para os testes de resistência a corrosão;

REFERÊNCIAS

- AHMED T et al. A new low modulus, biocompatible titanium alloy, Titanium 95. **Science and Technology**, n.10, p. 760–1767, 1995.
- ALBREKTSSON T.; JOHANSSON C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. **European Spine Journal**, n. 2, p. 96-101, 2001.
- ANSELME K.; BIGERELLE M. Statistical demonstration of the relative effect of surface chemistry and roughness on human osteoblast short-term adhesion. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, n.17, p. 471-479, 2006.
- ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. **Biomaterials**, n.7, p. 667-681, 2000.
- AŞIK, E. E.; BOR, Ş. Fatigue behavior of Ti–6Al–4V foams processed by magnesium space holder technique. **Materials Science and Engineering: A**, p. 157–165, 2015.
- ASTM International. Standard Test Method for Conducting Cyclic Potentiodynamic Polarization Measurements to Determine the Corrosion Susceptibility of Small Implant Devices**. West Conshohocken, PA, USA. ASTM F2129–17b 2017.
- ARIFVIANTO, B., J. ZHOU. Fabrication of Metallic Biomedical Scaffolds with the Space Holder Method: A Review. **Materials**, p. 3588-3622, 2014.
- ATAPOUR, M et al. Corrosion behavior of titanium alloys for biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, p. 885–891, 2011.
- AYDOĞMUŞ, T., BOR, Ş. Processing of porous TiNi alloys using magnesium as space holder, **Journal of Alloys and Compounds**, p. 705-710, 2009.
- BAHNEY C.S et al. Stem cell-derived endochondral cartilage stimulates bone healing by tissue transformation. **Journal of bone and mineral research**, p.1269-1282, 2014.
- BANDYOPADHYAY A. et al. In vivo response of laser processed porous titanium implants for load-bearing implants. **Annals of Biomedical Engineering**, p. 249–260, 2017.
- BANSIDDHI, A.; DUNAND, D.C. Shape-memory NiTi foams produced by solid-state replication with NaF. **Intermetallics**, p. 1612-1622, 2007.
- BANSIDDHI, A.; DUNAND, D.C. Shape-memory NiTi foams produced by replication of NaCl space-holders. **Acta Biomaterialia**, p. 1996-2007, 2008.
- BELTRÁN-PARTIDA, E. et al. Improved in vitro angiogenic behavior on anodized titanium dioxide nanotubes. **Journal of Nanobiotechnology**, 2017.
- BERTHIAUME, F. et al. Effect of extracellular matrix topology on cell structure, function, and physiological responsiveness: hepatocytes cultured in a sandwich configuration. n. 13, p. 1471-84, 1996.
- BARIL, E.; LEFEBVRE, L.P.; THOMAS, Y. Interstitial sources and control in titanium P/M processes. **Powder Metallurgy**, p. 183–7, 2011.

BLACKWOOD D.J. Biomaterials: Past successes and future problems. **Corrosion Reviews**, 97–124, 2003.

BLANCO, L. et al. Quantitative Evaluation of Porosity Effects in Sintered and Heat Treated High Performance Steels. **Powder Metallurgy**, p. 315–322, 2005.

BOBYN, J.D. et al. The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, p. 263-270, 1980.

BOWERMAN, J.E.; CONROY, B. A universal kit in titanium for immediate replacement of the resected mandible. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, n.6, p. 223–228, 1969.

BOYER, R.; WELSCH, G.; COLLINGS, E. Materials Properties Handbook: Titanium Alloys. Ed. by, **ASM International**, Materials Park, OH, USA, 1994.

BRAMMER, K.S et al. Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO₂ nanotube surface. **Acta Biomaterialia**, p. 3215–3223, 2009

BRAM, M. et al. High-porosity titanium, stainless steel and superalloy parts. **Advanced Engineering Materials**, p. 196–9, 2000.

BREBELS, A.; BOLLEN, B. Non-destructive evaluation of material properties as function of temperature by the Impulse Excitation Technique. **The e-Journal of Nondestructive Testing**, n. 6, 2015.

CALLISTER, J.R, WILLIAM D. Ciência e engenharia de materiais: uma introdução. Rio de Janeiro, LTC, 2012.

CAPLAN, A.I. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. **The Journal of Pathology**, p. 318-324, 2009.

CARVALHO, A.C.C. Bioengenharia tecidual: uso de células-tronco na prática médica.2009. Disponível em<<http://www.cgee.org.br/atividades/redirect.php?idProduto=2162>>. Acesso em: 20 nov.

CIOLAC, S. et al. Long-term in vitro study of titanium and some titanium alloys used in surgical implants. **Revista De Chimie**, p.36–41, 2000.

CIOFFI, M. et al. Electrochemical release testing of nickel-titanium orthodontic wires in artificial saliva using thin layer activation. **Acta Biomaterialia**, n. 6, p. 717–724, 2005.

CHEN, X.B, et al. The importance of particle size in porous titanium and nonporous counterparts for surface energy and its impact on apatite formation. **Acta Biomaterialia**, p. 2290-2302, 2009.

CLAES, L.; RECKNAGEL, S.; IGNATIUS A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. **Nature Reviews Rheumatology**, n. 3, p.133-43, 2012.

CONSERVA, E.; LANUTI, A.; MENINI, M. Cell behavior related to implant surfaces with different microstructure and chemical composition: an in vitro analysis. **International Journal Oral Maxillofac Implants**, p. 1099-1107, 2010.

- GAO, C et al. Bone biomaterials and interactions with stem cells. **Bone Research**, p. 17059, 2017.
- DANNINGER, H.; SPOLJARIC, D.; WEISS, B. Microstructural Features Limiting the Performance of P/M Steels. **International Journal of Powder Metallurgy**, p. 43–53, 1997.
- DAMSKY, C.H. Extracellular matrix-integrin interactions in osteoblast function and tissue remodeling. **Bone**, p. 95- 96, 1999.
- DAVIES, J. In vitro modeling of the bone/implant interface. **The Anatomical Record**, n. 2, p. 426-45, 1996.
- DAVIDSON, J. A. et al. New Surface-Hardened, Low-Modulus, Corrosion-Resistant Ti-13Nb-13Zr Alloy For Total Hip Arthroplasty. **BioMedical Materials and Engineering**, n.3, p. 231-243, 1994.
- DIMITRIOU, R.; TSIRIDIS, E.; GIANNOUDIS, P.V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. **Injury**, n. 12, 1392-404, 2005.
- DUVVURU, M.K et al. Bone marrow stromal cells interaction with titanium; Effects of composition and surface modification. **PLoS ONE**, n. 5, 2019.
- EBEL, T et al. MIM fabrication of porous Ti-6Al-4V components for biomedical applications. **Proceedings of EURO-PM**, p. 797–804, 2010.
- EL-WASSEFY, N.A. et al. Assessment of anodized titanium implants bioactivity. **Clinical Oral Implants Research**, p. 1–9, 2014.
- ELISSEEFF, J. et al. The role of biomaterials in stem cell differentiation: applications in the musculoskeletal system. **Stem Cells and Development**, n. 3, p. 295-303, 2006.
- ELISSEEFF, J. et al. Controlled-release of IGF-I and TGF-beta1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering. **Journal of Orthopaedic Research**, n. 6, p. 1098-104, 2001.
- European Powder Metallurgy Association, (2014).
http://www.epma.com/New_non_members/economic_advantages.htm.
- EYRE, D. Collagen of articular cartilage. Type II collagen degradation and its regulation in articular cartilage in osteoarthritis. **Arthritis Research & Therapy**, n. 1 p. 30-5, 2002.
- EISENBARTH, E. et al. des Vanadiumgehaltes von Ti–Al–V-Legierungen auf die Zell adhasion und Biokompatibilit. **Biomaterialien**, n.4, 2001.
- ERCAN, B, et al. Diameter of titanium nanotubes influences anti-bacterial efficacy. **Nanotechnology**, p.295102, 2011.
- ELIAZ, N. Biomaterials and corrosion. Corrosion Science and Technology: Mechanism, Mitigation and Monitoring. Narosa **Publishing House; New Delhi, India**, p. 356–397, 2008.
- FOJT, J.; JOSKA, L.; MÁLEK, J. Corrosion. behaviour of porous Ti–39Nb alloy for biomedical applications. **Corrosion Science**, p. 78–83, 2013.

GIBSON, L.J. The mechanical behaviour of cancellous bone. **Journal of Biomechanics**, n. 5, p. 317-28, 1985.

GASTALDI, G. et al. Human adipose-derived stem cells (hASCs) proliferate and differentiate in osteoblast-like cells on trabecular titanium scaffolds. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, p. 790–799, 2010.

Global orthopedic devices market to grow to \$45.0 billion by 2020.

Global Market 2014 study on orthopedic trauma devices: plate and screw external fixator system to witness highest CAGR of 7.1% (2014).

GUILHERME, S.; HUMMEL. Brazil e Health – Overview, Trends & Opportunities” Consulate General of the Kingdom of the Netherlands. **EMI –eHealth Mentor Institute**. São Paulo-SP Brazil, 2016.

GEETHA, M. et al. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants-a review. **Progress in Materials Science**, p. 397–425, 2009.

GILBERT, J.L.; MALI, S. Medical implant corrosion: Electrochemistry at metallic biomaterial surfaces. Degradation of Implant Materials. **Springer**, p. 1–28, 2012.

KOTAN, G.; BOR A.S.A. Production and Characterization of High Porosity Ti-6Al-4V Foamy Space Holder Technique in Powder Metallurgy. Turkish. **Journal of Environmental Engineering**, p. 149 – 156, 2007.

HANSEN, A.W. et al. The electrochemical behavior of the NiTi alloy in different simulated body fluids. **Materials Research**, p. 184–190, 2015.

HERITAGE, K.; FRISBY, C.; WOLFENDEN, A. Impulse excitation technique for dynamic flexural measurements at moderate temperature. **Review of Scientific Instruments**, n. 6, p. 973-974, 1988.

HICKMAN, B.S. The Formation of Omega Phase in Titanium and Zirconium Alloys: A Review. **Journal of Material Science**, p. 554–563, 1969.

HONG, T.F.; GUO, Z.X.; YANG, R. Fabrication of porous titanium scaffold materials by a fugitive filler method. **J Materials Science: Materials in Medicine**, p. 3489–95, 2008.

HUANG, H.H. Effect of fluoride and albumin concentration on the corrosion behavior of Ti-6Al-4V alloy. **Biomaterials**, p. 275–282, 2003.

HOCHBERG, M.C. et al. Preferences in the management of osteoarthritis of the hip and knee: results of a survey of community-based rheumatologists in the United States. **Arthritis Care & Research**, n. 3 p. 170-6, 1996.

HEO, Y.Y et al. Responses of periodontal ligament stem cells on various titanium surfaces. **Oral Diseases**, p. 320-327, 2010.

HSU, H-C. et al. Fabrication and characterization of porous Ti–7.5Mo alloy scaffolds for biomedical applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, n. 3, p. 645–657, 2013.

HIROSE-PASTOR, E.; FULLER, R.; ROCHA, O.M. Rheumatology to the general clinical. Lesson 2: Disease degenerative joint: osteoarthritis. **Jornal brasileiro de medicina**, n. 6, p. 189-96. 1994.

ICROWD NEWSWIRE. Mercado De Dispositivos Ortopédicos 2020 | Análise Global Do Setor Por Tendências, Tamanho, Compartilhamento, Visão Geral Da Empresa, Crescimento E Previsão Até 2022 | Último Relatório De Pesquisa Por 360researchreports.com. Icrowd newswire, 2020. Disponível em: <https://icrowdpt.com/2020/01/17/mercado-de-dispositivos-ortopedicos-2020-analise-global-do-setor-por-tendencias-tamanho-compartilhamento-visao-geral-da-empresa-crescimento-e-previsao-ate-2022-ultimo-relatorio-de-pesquisa-por/>. Acesso em: 16. fev. 2021.

INSALL, J.N. et al. Total knee arthroplasty. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, p. 13-22, 1985.

JANG, J.H. et al. Surface adsorption of DNA to tissue engineering scaffolds for efficient gene delivery. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, n.1, p. 50-58, 2006.

JAYAKUMAR, P, DI SILVIO, L. Osteoblasts in bone tissue engineering. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H**, n. 12 p. 1415-40, 2010.

JAYARAMAN, M et al. Influence of titanium surfaces on attachment of osteoblastlike cells in vitro. **Biomaterials**, p. 625-631, 2004.

JHA, N. et al. Highly porous open cell Tifoam using NaCl as temporary space holder through powder metallurgy route. **Materials & Design**, p. 810-819, 2013.

JIN, L. et al. Effects of surface nanocrystallization on corrosion resistance of β -type titanium alloy. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, p. 2529–2535, 2014.

JONES, A.C. et al. The correlation of pore morphology, interconnectivity and physical properties of 3D ceramic scaffolds with bone ingrowth. **Biomaterials**, p. 1440–51, 2009.

BLANCO, J.F et al. Titanium and tantalum as mesenchymal stem cell scaffolds for spinal fusion: an in vitro comparative study. **European Spine Journal**, n. 3, p. 353–S360, 2011.

KADOYA, Y.;KOBAYASHI, A.; H. OHASHI, H. **Acta Orthopaedica**, p. 1–16, 1998.

LONGA, E.G et al. Human mesenchymal stem cell morphology, migration, and differentiation on micro and nano-textured titanium. **Bioactive Materials**, p. 249–255, 2019.

KAMACHI MUDALI, U. et al. Failures of stainless steel orthopaedic devices—causes and remedies. **Corrosion Reviews**, p. 231–267, 2003.

KARAGIANES, K.R.; M.T. & SUMP, K.R. (1983). Porous Titanium Alloy for Prosthesis Attachment. Titanium alloys in surgical implants, p. 241, Philadelphia, **ASTM**.

KURODA, D. et al. Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials. **Materials Science and Engineering**, p. 244-249, 1998.

- KIM, M.H. et al. Influence of surface topography on the human epithelial cell response to micropatterned substrates with convex and concave architectures. **Journal of Biological Engineering**, n. 13, 2014.
- KROGER, H. et al. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, p. 66–74, 1998.
- KURELLA, A.; DAHOTRE, N.B. Review paper: surface modification for bioimplants: the role of laser surface engineering. **Journal of Biomaterials Applications**, p. 5–50, 2005.
- KIESWETTER, K. et al. Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells. **Journal of Biomedical Materials Research**, p. 55–63, 1996.
- LAING, P.G. Compatibility of biomaterials. **Orthopedic Clinics of North America**, n. 2, p. 249–73, 1973.
- LAVENUS, S.; LOUARN, G.; LAYROLLE, P. Nanotechnology and dental implants. **International Journal of Biomaterials**, 2010.
- LAPTEV, A. et al. Study of production route for Ti parts combining very high porosity and complex shape. **Powder Metallurgy**, p. 85–92, 2004.
- LAURENCIN, C.T. et al. Tissue engineering: orthopedic applications. **Annual Review of Biomedical Engineering**, p. 19–46, 1999.
- LEYENS, C.; PETERS, M. Titanium and Titanium Alloys, **Wiley-VCH**, Weinheim, Germany, 2003.
- LEGEROS, R.Z, CRAIG, R.G. Strategies to affect bone remodeling: osteointegration. **Journal of Bone and Mineral Research**, p. 583–596, 1993.
- LEWIS, J.L. et al. The influence of prosthetic stems stiffness and of a calcar collar on stresses in the proximal end of the femur with a cemented femoral component. **Journal of Bone and Joint Surgery**, p. 280–286, 1984.
- LI, J. et al. Effect of fluoride on the corrosion behavior of nanostructured Ti-24Nb-4Zr-8Sn alloy in acidulated artificial saliva. **Journal of Materials Science & Technology**, p. 1660–1670, 2018.
- LI, X. et al. Influence of fluoride and chloride on corrosion behavior of NiTi orthodontic wires. **Acta Biomaterialia**, p. 807–815, 2007.
- LIEBSCHNER, M.A. et al. Testing two predictions for fracture load using computer models of trabecular bone. **Biophysical Journal**, n. 2, p. 759–67, 2005.
- LIANG, C.; MOU, Z. Effect of different simulated body fluids on anti-corrosion bimetallic materials. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, p. 579–582, 2011.
- LI, B.E. et al. Synergistic effects of hierarchical hybrid micro/nanostructures on the biological properties of titanium orthopaedic implants. **RSC Advances**, p. 49552–49558, 2015.
- LI, Y. et al. **Materials**, 1709, 2014.

LI, Y. et al. Cytotoxicity of titanium and titanium alloying elements. **Journal of Dental Research**, p. 493-497, 2010.

LIMA, PEDRO CUNHA de. 2014. "Obtenção e determinação da capacidade de amortecimento da liga Cu-14Al-4Ni pelo método de excitação por impulso". **Dissertação de Mestrado**, Faculdade do Gama, Universidade de Brasília.

LIU, X.; CHU, P.K.; DING, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. **Materials Science and Engineering R: Reports**, p. 49–121, 2004.

LIU, C.K. et al. Using three-dimensional porous internal titanium scaffold or allogenic bone scaffold for tissue-engineering condyles: a novel reconstruction of mandibular condylar defects. **Journal of Medical Hypotheses and Ideas**, p. 69–73, 2014.

LIDE, D.R. Handbook of Chemistry and Physics. In: (Ed.). 87 ed. CRC Press: New York (USA), 2007.

LOPES, M.A et al. Microstructural dependence of Young's and shear moduli of P 2 O 5 glass reinforced hydroxyapatite for biomedical applications. **Biomaterials**, n. 7, p. 749-754, 2000.

LOPEZ-HEREDIA, M.A. et al. Rapid prototyped porous titanium coated with calcium phosphate as a scaffold for bone tissue engineering. **Biomaterials**, p. 2608-2615, 2008.

LONG, M.; RACK, H.J. Review Titanium alloys in total joint replacement – a materials science perspective. **Biomaterials**, p.1621-1639, 1998.

LU, R. et al. Effects of hydrogenated TiO₂ nanotube arrays on protein adsorption and compatibility with osteoblast-like cells. **International Journal of Nanomedicine**, p. 2037– 2049, 2018.

MANIVASAGAM, G.; DHINASEKARAN, D.; RAJAMANICKAM, A. Biomedical implants: Corrosion and its prevention. **Recent Patents on Corrosion Science**, p. 40–54, 2010.

MARINUCCI, L. et al. Effects of Hydroxyapatite and Biostite on Osteogenic Induction of hMSC. **Annals of Biomedical Engineering**, p. 640-648, 2010.

MARTIN, J.Y. et al. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). **Journal of Biomedical Materials Research**, p. 389-401, 1995.

MATSUMOTO, H.; WATANABE, S.; HANADA, S. **Materials Transactions**, p. 1070–1078, 2005.

MATSUMOTO, H.; WATANABE, S.; HANADA, S. **Journal of Alloys and Compounds**, p. 146–155, 2007.

MCCRACKEN, C.G.; BARBIS, D.P.; DEETER, R.C (2010), 'Key titanium powder characteristics manufactured using the hydride-dehydride (HDH) process', in: **Proceedings of EUROPM2010, EPMA**, Shrewsbury, UK, Volume 1, 71–7.

- METIKOS-HUKOVIC, M.; KWOKAL, A.; PILJAC, J. The influence of niobium and vanadium on passivity of titanium in physiological solutions. **Biomaterials**, p. 3765–75, 2003.
- MEGUID, E.A.; KE, Y.; Ji, J.; El-Hashash, A.H.K. Stem cells applications in bone and tooth repair and regeneration: New insights, tools, and hopes. **J Cell Physiol**, v. 233, n. 3, p. 1825-1835, 2018.
- MI-KYUNG, HAN. et al. Effect of Nb on the Microstructure, Mechanical Properties, Corrosion Behavior, and Cytotoxicity of Ti-Nb Alloys. **Materials**, n. 9, p. 5986-6003, 2015.
- MOUNTZIARIS, P.M. et al. Harnessing and modulating inflammation in strategies for bone regeneration. **Tissue Engineering, Part B**, n. 6, 393-402, 2011.
- MARSELL, R.; EINHORN, T.A. The biology of fracture healing. **Injury**, n. 6, p. 551-5, 2011.
- MARTÍNEZ, E. et al. Effects of artificial micro- and nano-structured surfaces on cell behaviour. **Annals of Anatomy**, p. 126–35, 2009.
- MANGANO, C et al. The osteoblastic differentiation of dental pulp stem cells and bone formation on different titanium surface textures. **Biomaterials**, p. 3543-3551, 2010.
- MANSOURIGHASRI, A.; MUHAMAD, N.; SULONG, A. Processing titanium foams using tapioca starch as a space holder. **Journal of Materials Processing Technology**, p. 83–89, 2012.
- MAROLI, B. et al. Sinter-Hardening and Heat Treatments of Materials Based on Alstloy CrM. **Proceedings of the PM2TEC 2003 International Conference on Powder Metallurgy & Particulate Materials**, Las Vegas, USA. 5, p. 149–161, 2003.
- MEDIASWANTI, K. et al. **Key Engineering Materials**, p. 214-219, 2012.
- MISHRA A.K. et al. Ti-13Nb-13Zr: A new low modulus, high strength, corrosion resistant near-beta alloy for orthopaedic implants, Beta Titanium in the 1990's, **The Minerals, Metals & Materials Society**, pp. 61–72, 1993.
- MOLINARI, A. et al. A simplified model for the impact resistance of porous sintered steels. **Powder Metallurgy Progress**, p. 12–20, 2011.
- MÜNSTERMANN, S.; FENG, Y.; BLECK, W. Influencing parameters on elastic modulus of steels. **Canadian Metallurgical Quarterly**, n. 3, p. 264–273, 2014.
- MURRAY, J.L. The Nb–Ti (niobium–titanium) system. Phase diagrams of binary titanium alloys. **ASM International**, 1987.
- NIINOMI, M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, n.1, p. 30–42, 2008.
- NIINOMI, M.; KURODA, D.; FUKUNAGA, K. Corrosion wear fracture of new beta-type biomedical titanium alloys. **Materials Science and Engineering: A**, p.193–9, 1999.

NIINOMI, M. et al. Biomedical titanium alloys with Young's moduli close to that of cortical bone. **Regenerative Biomaterials**, n. 3, 173-185, 2016.

NIINOMI, M. Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. **Science and Technology of Advanced Materials**, p.445–54, 2003.

NIINOMI, M. Recent metallic materials for biomedical applications. **Metallurgical and Materials Transactions A**, p. 477–86, 2002.

NIINOMI, M.; NAKAI, M.; HIEDA, J. **Acta Biomaterialia**, p. 3888, 2012.

ELIAZ, N. Corrosion of Metallic Biomaterials: A Review.

NAKAGAWA, M. et al. The effect of Pt and Pd alloying additions on the corrosion behavior of titanium in fluoride-containing environments. **Biomaterials**, p. 2239–2246, 2005.

NADIM JAMES, HALLAB AND JOSHUA JAMES JACOBS. CHAPTER II.5.6 ORTHOPEDIC APPLICATIONS. **Department of Orthopedic Surgery, Rush University Medical Center**, 2012.

NIINOMI, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. **Materials Science and Engineering A**, p.231-236, 1998.

NIINOMI, M et al. Fracture characteristics, microstructure, and tissue reaction of Ti–5Al–2.5Fe for orthopedic surgery. **Metallurgical and Materials Transactions**, p. 3925–3935, 1996.

OH, I-H. et al. Mechanical properties of porous titanium compacts prepared by powder sintering. **Scripta Materialia**, p. 1197–202, 2003.

OH, S, JIN, S. Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth. **Materials Science and Engineering C**, p. 1301–1306, 2006.

OSHIDA, Y. Bioscience and Bioengineering of Titanium Materials, **Oxford, Elsevier**, 2007.

OCHOA, I. et al. Retraction: In vitro osteoinduction of human mesenchymal stem cells in biomimetic surface modified titanium alloy implants. **Dental Materials Journal**, n. 5, p. 843–850, 2012.

OBBARD, E.G. et al. Mechanical of Superelasticity in Ti-30Nb-(8-10) Ta-Zr Alloy. **Acta Materialia**, p. 3557-3567, 2010.

OKULOV, I.V. et al. Composition optimization of low modulus and high-strength TiNb-based alloys for biomedical applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 2017.

OKAZAKI, Y. et al. Corrosion resistance, mechanical properties, corrosion fatigue strength and cytocompatibility of new Ti alloys without Al and V. **Biomaterials**, p. 1197–1215, 1998.

OZAKI, T. et al. **Materials Transactions**, p. 2776-2779, 2004.

OKAMOTO, H. Sn-Ti (Tin-Titanium). **Journal of Phase Equilibria and Diffusion**, n. 2, p. 202–203, 2010.

- NADDEOA, P. et al. Surface biocompatibility of differently textured titanium implants with mesenchymal stem cells. **Dental materials**, p. 235–243, 2015.
- PILLIAR, R.M. Modern metal processing for improved load-bearing surgical implants. **Biomaterials**, n. 2, p. 95-100, 1991.
- PLENK, H. Prosthesis–bone interface. **Journal of Biomedical Materials Research**, 350–5, 1998.
- POLMEAR, I.J. Overview: Recent Developments in Light Alloys. **Materials Transactions**, n. 1, p. 12–31, 1996.
- PRASHANTH, K. et al. Mechanical and corrosion behavior of new generation Ti-45Nb porous alloys implant devices. **Technologies**, p. 33, 2016.
- PSIUK, B. et al. Impulse excitation technique IET as a non-destructive method for determining changes during the gelcasting process. **Ceramics International**, n. 3, p. 3989-3996, 2016.
- PULEO, D.A.; NANCI, A. Understanding and controlling the bone implant interface. **Biomaterials**, p. 2311-2321, 1999.
- PULEO, D.A. et al. Osteoblast responses to orthopedic implant materials in vitro. **Journal of Biomedical Materials Research**, p. 711-723, 1991.
- RAUSCH, G.; BANHART, J. Em Handbook of Cellular Metals; Degischer, H. P.; Kriszt, B., eds.; **Wiley: Weinheim**, p.21, 2002.
- RAHN, B.A. Bone healing: histologic and physiologic concepts. **Bone in clinical orthopedics**, p. 287–326, 2002.
- ROBIN, A.; CARVALHO, O.A.S. Influence of pH and fluoride species on the corrosion behavior of ti-xnb-13zralloys in ringer’s solution. **Advances in Materials Science and Engineering**, p. 434975, 2013.
- ROGERS, D. et al. In vitro human monocyte response to wear particles of titanium alloy containing vanadium or niobium. **Journal of Bone and Joint Surgery**, p. 311–5, 1997.
- REYES, K.M. et al. Electrochemical stability of binary TiNb for biomedical applications. **Materials Research Express**, p. 075402, 2017.
- ROCHEFORT, G.Y.; PALLU, S.; BENHAMOU, C.L. Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. **Osteoporosis International**, n. 9, p. 1457-69, 2010.
- SAMUEL, S. et al. Corrosion resistance and in vitro response of laser-deposited Ti-Nb-Zr-Ta alloys for orthopedic implant applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, p. 1251–1256, 2010.
- SANTOS, R.R.; SOARES, M.B.P.A.; CARVALHO, A.C.C. Transplante de células da medula óssea no tratamento da cardiopatia chagásica crônica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. n.6, p. 490-495, 2004.
- SANTANDER, S. et al. The biocompatibility of dense and porous Nickel–Titanium produced by selective laser melting. **Materials Science and Engineering**, p. 419–426, 2013.

- SCHINDELER, A. et al. Bone remodeling during fracture repair: the cellular picture. Paper presented at the **seminars in cell and developmental biology**, 2008.
- KALANTARIA, S.M. et al. Biocompatibility and compressive properties of Ti-6Al-4V scaffolds having Mg element. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, p. 183 – 191, 2015.
- SEMLITSCH, M.; STAUB, F.; WEBBER, H. Titanium alloys for hip joint replacements. **Biomedical technology**, p. 334–9, 1985.
- SHAHRABI, T et al. Extremely high pitting resistance of NiTi shape memory alloy thin film in simulated body fluids. **Materials Letter**, p. 2791–2794, 2008.
- STOYANOVA, V. (2005). Mechanical Properties of High Density Low Alloyed PM Steels: Effect of Sintering and Second-ary Heat Treatments. **Thesis Doctoral. University of Trento**.
- SMORYGO, O. et al. High-porosity titanium foams by powder coated space holder compaction method. **Materials Letters**, p. 17-19, 2012.
- STOYANOVA, V. et al. Influence of microstructure and porosity on static and dynamic mechanical properties of High Performance PM steels. **Proceedings of the Euro PM**, p. 47–62, 2004.
- SCHWARTZ, Z. et al. Implant surface characteristics modulate differentiation behavior of cells in the osteoblastic lineage. **Advances in Dental Research**, p. 38-48, 1999.
- JUNG, T-K. Mechanical properties and microstructures of β Ti–25Nb–11Sn ternary alloy for biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**. p.1629–1635, 2013.
- TENZELIUS, J. Advances in steel powders for high performance PM parts. **PMAsia**, Shanghai, 2005.
- TENGVALL, P.; LUNDSTRÖM, I. Physico-chemical considerations of titanium as a biomaterial. **Clinical Materials**, n. 2, p. 115-34, 1992.
- THIBODEAU, G.A.; PATTON, K.T. Anatomy and Physiology. **4th ed. Mosby; MO, USA**, p. 851–887, 1999.
- THIEME, M. et al. Titanium powder sintering for preparation of a porous functionally graded material destined for orthopaedic implants. **Journal of Materials Science**, p. 225–31, 2001.
- TRÉPANIÉ, C.; PELTON, A.R. Effect of temperature and pH on the corrosion resistance of nitinol. In medical device materials. **Proceedings of the Materials and Processes for Medical Devices Conference**, p. 3–7, 2004.
- THOMSEN, P.; ERICSON, L.E. Inflammatory cell response to bone implant surfaces. In: Davis J.E., editor. **The Bone-Biomaterial Interface**. University of Toronto Press; Toronto, ON, Canada: 1991. pp. 153–164.
- TUNCER, N.; ARSLAN, G. Designing compressive properties of titanium foams, **Journal of Materials Science**, p. 1477–84, 2009.

- TUNCER, N. et al. Investigation of PM parameters' effect on architecture of titanium foams using X-ray microtomography. **Materials Science and Engineering: A**, p. 633–42, 2011.
- TUNCER, N. et al. Influence of cell aspect ratio on architecture and compressive strength of titanium foams. **Materials Science and Engineering: A**, p. 7368–74, 2011.
- VIRTANEN S. Corrosion of biomedical implant materials. **Corrosion Review**, p. 147–171, 2008.
- VENABLE, C.S.; W.G, STUCK. A general consideration of metals for buried appliances insurgency. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, p. 297–306, 1943.
- ZAREIDOOST, A. et al. The relationship of surface roughness and cell response of chemical surface modification of titanium. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, p. 1479– 1488, 2012.
- WHO Global Burden of Disease project, 2002, Version 1.
- WINKLER T. et al. Julius Wolff Institut, Charité –Universitätsmedizin Berlin, Germany. **Bone Joint**, p. 232–243, 2018.
- WEN, C.E. et al. Processing and mechanical properties of autogenous titanium implant materials. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, p. 397-401, 2002.
- WANG, X. et al. Porous TiNbZr alloy scaffolds for biomedical applications. **Acta Biomaterialia**, p. 3616-3624, 2009.
- WANG, X et al. Biomimetic modification of porous TiNbZr alloy scaffold for bone tissue engineering. **Tissue Engineering Part A**, p. 309-316, 2010.
- WEN, C.E. et al. Processing of Biocompatible Porous Ti and Mg. **Scripta Materialia**, p. 1147-1153, 2001.
- WITTE, F. et al. In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. **Biomaterials**, p. 3557-3563, 2005.
- WOLFF, M.; DAHMS, M.; EBEL, T. Sintering of magnesium. **Advanced Engineering Materials**, p. 829–36, 2010.
- WINTERMANTEL, E.; HA, S.W. (2002), Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren, **Springer-Verlag**, Berlin, Heidelberg, New York.
- WHANG, K. et al. Engineering bone regeneration with bioabsorbable scaffolds with novel microarchitecture. **Tissue Engineering**, p. 35–51, 1999.
- WEN, C.E. et al. Processing and mechanical properties of autogenous titanium implant materials. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, p. 397–401, 2002.
- WEN, C.E. et al. Novel titanium foam for bone tissue engineering. **Journal of Materials Research and Technology**, n. 10, p. 2633–2639, 2002.

- WEI, XU. et al. Fabrication and properties of newly developed Ti₃₅Zr₂₈Nb scaffolds fabricated by powder metallurgy for bone-tissue engineering. **Journal of Materials Research and Technology**, n. 5, p. 3696–3704, 2019.
- WAPNER, K.L. Implications of metallic corrosion in total knee arthroplasty. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, p. 12–20, 1991.
- WANG, Y. et al. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. **Nature Immunology**, p. 1009-1016, 2014.
- WALL, I. et al. Modified titanium surfaces promote accelerated osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in vitro. **Bone**, p. 17-26, 2009.
- WINTER, G.D. Tissue reactions to metallic wear and corrosion products in human patients. **Journal of Biomedical Materials Research**, n. 3, p. 11-26, 1974.
- YAHAYA. et al. Microstructures and Mechanical Properties of Ti-Nb Alloy at Different Composition of Nb Produced via Powder Metallurgy Route. **Materials Science Forum**, p. 14–18, 2016.
- YAMAZOE, J. et al. The development of Ti alloys for dental implant with high corrosion resistance and mechanical strength. **Dental Materials Journal**, p. 260–267, 2007.
- YANG, L. et al. Hypertrophic chondrocytes can become osteoblasts and osteocytes in endochondral bone formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 33, p. 111-102, 2014.
- YOLUN, A. et al. Fabrication, characterization, and in vivo biocompatibility evaluation of titanium-niobium implants. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine**, 2020.
- ZHU L, et al. Measurement of interdiffusion and impurity diffusion coefficients in the bcc phase of the Ti–X (X = Cr, Hf, Mo, Nb, V, Zr) binary systems using diffusion multiples. **Journal of Materials Science**, n. 6, p. 3255–3268, 2017.
- ZHUANG, H.; HAN, Y.; FENG A. Preparation, mechanical properties and in vitro biodegradation of porous magnesium scaffolds. **Materials Science and Engineering C**, p. 1462-1466, 2008.
- ZOU, X. et al. Bone ingrowth characteristics of porous tantalum and carbon fiber interbody devices: an experimental study in pigs. **Spine Journal**, p. 99-105, 2004.
- ZHOU, X. et al. Chondrocytes transdifferentiate into osteoblasts in endochondral bone during development, postnatal growth and fracture healing in mice. **PLoS Genetic**, n. 12, p. 1004820., 2014.
- Zwicker, U. et al. Mechanical properties and tissue reactions of a titanium alloy for implant material Titanium '80, Science and Technology. **Proc 4th Int Conf on Titanium, Kyoto, The Met. Soc. AIME**, pp. 505-514, 1980.
- ZWICKER U., Z. **Metallkd**, p. 714, 1986.

International Journal of Materials Research

Conditions for submission of papers to International Journal of Materials Research

1. Manuscript preparation

1.1. Language

All manuscripts should be written in good English. Poorly written papers will be automatically returned for rewriting before review. Both British and U.S. English are acceptable but authors should be consistent in their usage.

1.2. Style

Manuscripts must be prepared according to the IJMR Style Guide, available at www.ijmr.de; simply click on "submit a paper" and then download the guide in pdf format or download from the submission website <https://www.editorialmanager.com/ijmr/>.

The layout is designed to speed up the publication of your paper. What we need from you the authors is a document that we can review and edit easily. Please do not try to emulate the final journal lay-out style. Follow the Style Guide carefully in order to save yourself subsequent time-consuming corrections after your paper has been reviewed and edited. After reviewing and editing, papers will be returned to authors for final revision when the authors should be make all recommended content and editorial changes. It is the authors' responsibility to ensure their paper is in the "house style" before it can finally be accepted for publication.

1.3. Paper length

Generally, the length of the manuscript (without figures) of a regular paper should not exceed around 6500 words and may be shorter. A manuscript longer than 25 doublespaced typescript pages may be returned by the editor to the authors, without it having been refereed, with the remark that it must be shortened before being reconsidered. The maximum number of figures is about 8.

Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials

https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/711005?generatepdf=true

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- Title.

Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords from the keyword list at the bottom of this page, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and," "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements: Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa]. It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y . In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

SÚMULA CURRÍCULAR

Nome: Mariana Correa Rossi

1) Formação

Ano	Título ou atividade	Instituição
2015	Bacharelado em Física Médica	Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP-IBB)
2016	Mestrado Acadêmico em Biotecnologia	Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP-IBB), Departamento de Química e Bioquímica
2018	Licenciatura em Física	Universidade Cruzeiro do Sul, UNICSUL, Brasil.
2021	Doutorado Acadêmico em Biotecnologia Animal	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (UNESP-FMVZ-Botucatu), Departamento de cirurgia/Laboratório de Terapia Celular e Medicina Regenerativa
2021	Estágio de Pesquisa no Exterior	Universidade Politécnica de Valência (UPV-ES)-Instituto de Tecnologia de Materiais, Departamento de Engenharia Mecânica e Materiais

2) Histórico profissional

Estágio docência 1: Estágio Docência na disciplina de Cálculo I. Curso de Graduação: Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Perfazendo um total de 60 horas. (2018)

Estágio docência 2: Estágio Docência na disciplina de Engenharia de Biomateriais. Curso de Graduação: Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Perfazendo um total de 60 horas. (2019)

Professora de Química, para os alunos da escola técnica Maria Vitória, Botucatu-SP
Enquadramento Funcional: Professora de Química Inorgânica I e II, Carga horária: 4. Perfazendo um total de 67 horas. (2015)

3) **Produções científicas mais relevantes**

- Capítulos de livros publicados

Carreira, Ana Claudia Oliveira ; ZAMBUZZI, Willian Fernando ; **Rossi, Mariana Correa** ; Filho, Renato Astorino ; Sogayar, Mari Cleide ; Granjeiro, José Mauro . **Bone Morphogenetic Proteins. Vitamins & Hormones**. 1 eded.: Elsevier, 2015, v. 99, p. 293-322.

- Artigos Científicos

Bezerra, Fabio; **Rossi, M. C.** ; Fernandes, C. J. C. ; Nascimento, A. S. ; Ferreira, M. R. ; Zambuzzi, Willian Fernando . **Implantes Dentários A Base De Titânio Favorecem Via De Sinalização Celular Envolvidas Com Sobrevivência E Proliferação De Osteoblastos**. Innovations Implant Journal: Biomaterials And Esthetics (Online), V. 9, P. 8-12, 2014.

Rossi, Mc; Bezerra, Fjb ; Silva, Ra ; Crulhas, Bp ; Fernandes, Cjc ; Nascimento, As ; Pedrosa, Va ; Padilha, P ; Zambuzzi, Wf . **Titanium-Released From Dental Implant Enhances Pre-Osteoblast Adhesion By Ros Modulating Crucial Intracellular Pathways**. Journal Of Biomedical Materials Research Part A, V. Xx, P. Yy, 2017.

Fernandes, Célio J. C. ; Bezerra, Fabio ; Do Carmo, Maiara Das D. ; Feltran, Georgia ; **Rossi, Mariana C.** ; Da Silva, Rodrigo A. ; Padilha, Pedro De M. ; Zambuzzi, Willian F. . **Cocr Enriched Medium Modulates Integrin-Based Downstream Signaling And Requires A Set Of Inflammatory Genes Reprograming In Vitro.** Journal Of Biomedical Materials Research Part A, V. Xx, P. Xx, 2017.

Mc Rossi; DI Bayerlein ; Js Brandão ; Jph Pfeifer ; Fc Stievani ; Ca Hussni ; Mj Watanabe ; Mj Saeki ; Alg Alves . **In Vitro Study Of Ti-34nb-6sn Alloy In Mesenchymal Stem Cell Culture For Biomedical Applications.** Ecm Periodical And Conferences, Science With Open Discussion, V. 3, P. 1-1175, 2019.

Alex Ferreira Mendes; Mário Aigner Ribeiro; Rossi Carvalho Ribeiro; Gabriel Barbosa De Melo Neto; Iago Smaili Santos; Thais Cristina Dias De Macedo; **Mariana Correa Rossi;** Vânia Maria De Vasconcelos Machado. Abstracts Of The European Veterinary Diagnostic Imaging (Evdí) Congress, Basel, Switzerland, August 21-August 24, 2019. Veterinary Radiology & Ultrasound (Online), P. Vru.12818, 2019.

Mariana C Rossi, Daniel L Bayerlein, Jaqueline De S Brandão, João Ph Pfeifer, Gustavo Dos S Rosa, Andre Mt Kriek, Luis G Martinez, Margarida J Saeki, Ana Lg Alves. **Preparation Of Porous Ternary Alloy Ti-34-Nb-6sn/Mg For The Implant. 2020.**

Mariana Correa Rossi, Daniel Leal Bayerlein, Eber de Santi Gouvêa, Montserrat Vicenta Haro Rodríguez, Angel Vicente Escuder, Vicente Amigó Borrás. **Evaluation of the influence of low Mg content on the mechanical and microstructural properties of β titanium alloy.** Journal of Materials Research and Technology, 2020.

Mariana Correa Rossi, Daniel Leal Bayerlein, Jaqueline de Souza Brandão, João Pedro Hübbe Pfeifer, Gustavo dos Santos Rosa, William de Melo Silva, Luis Gallego Martinez, Margarida Juri Saeki, Ana Liz Garcia Alves. **Physical and biological characterizations of TiNbSn/(Mg) system produced by powder metallurgy for use as prostheses material.** Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2021.

I Tendero, **MC Rossi,** M Viera, JM Amado, MJ Tobar, Á Vicente, A Yañez, V Amigó. **Laser Surface Modification in Ti-xNb-yMo Alloys Prepared by Powder Metallurgy.** Metals 2021.

4) **Financiamentos à pesquisa**

FAPESP: Bolsa no Brasil- Treinamento técnico, vinculado ao auxílio- Processo: 16/08857-6 - Sinalização parácrina mediada por microvesículas e proteínas entre células ósseas e endoteliais durante o desenvolvimento e regeneração do tecido ósseo. Vigência (Início): 01 de agosto de 2016 até 30 de junho de 2017.

FAPESP: Bolsa no Brasil – Doutorado- Processo:17/13876-2 - Caracterização da liga Ti-Sn-Nb com Mg e seu potencial biotecnológico na reparação de fraturas ósseas. Vigência (Início): 01 de março de 2018 até 01 de março de 2021.

FAPESP: Bolsa no Exterior - Estágio de Pesquisa – Doutorado- 19/24237-6- Influência dos elementos de liga Nb, Sn e Mg nas propriedades mecânicas do arcabouço Ti-34Nb-6Sn/Mg para aplicação biomédica. Vigência (Início):04 de março de 2020 até 30 de janeiro de 2021.

5) **Lista de orientações em andamento, com bolsas.**

Nada a declarar

6) **Indicadores quantitativos**

- 1) Livros publicados - 0
- 2) Publicações em periódicos com seletiva política editorial - 7
- 3) Capítulos de livros - 1
- 4) Dissertações de mestrado orientadas e já defendidas - 0
- 5) Teses de doutorado orientadas e já defendidas - 0

- 6) Quantidades de citações recebidas na literatura internacional - 83
- 7) Patentes solicitadas, concedidas e licenciadas - 0
- 8) Produtos desenvolvidos e lançados no mercado - 0
- 9) Processos otimizados implementados em empresas ou organizações sociais - 0

7) **Link para ORCID e MyCitations**

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K8184038U6>

<https://orcid.org/0000-0002-1476-5990>

<https://scholar.google.com.br/citations?user=JvEU2-oAAAAJ&hl=es&hl=pt-BR>

8) **Outras informações**

Durante os anos de 2018 e 2019 auxiliei na co-orientação de dois alunos de iniciação científica, a aluna Carolina da Silva Dias, a qual desenvolveu o projeto intitulado “ Avaliação do potencial de diferenciação osteogênica e do estresse oxidativo de células tronco mesenquimais derivadas da medula óssea em contato com liga de titânio porosa” (19/09752-1), sob responsabilidade da Prof^a Dr.^a Ana Liz Garcia Alves (Orientadora da tese de doutorado). Seu trabalho foi avaliar os efeitos biológicos da liga de Ti-34Nb-6Sn, desenvolvida durante os anos de doutorado, referente ao processo 17/13876-2. Outra co-orientação foi do aluno João Ícaro Miranda Moraes Garcia, aluno bolsista PIBIC o qual desenvolveu o projeto intitulado “Modificação da superfície de Titânio-cp com Titanato de Cálcio para aplicação biomédica”, sob responsabilidade da Prof^a Dr.^a Margarida Juri Saeki.

Durante os anos de doutorado, além dos trabalhos publicados já descritos neste documento, 4 trabalhos que estão submetidos e alguns em processo de revisão (descritos abaixo) e 26 resumos publicados em anais de eventos foram desenvolvidos. Muitos destes trabalhos foram realizados em sua maioria pela parceria firmada com a Universidade Politécnica de Valência, aonde foi realizado o estágio de pesquisa no exterior, de março de 2019 a janeiro de 2021, bem como em parceria com o Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT-SP). Durante o estágio no exterior foi possível participar no desenvolvimento de projetos paralelos, envolvendo tratamentos superficiais a laser de ligas de Ti para aplicação biomédica, obtenção de ligas metálicas por metalurgia do pó, por fusão e *Electrical resistance Sintering* (ERS), além de aprofundar a experiência nos estudos e treinamento de ensaios mecânicos de materiais metálicos (ensaios de flexão em quatro pontos, ensaios de tração, microdureza e compressão, além da determinação de sua dureza por diferentes métodos (Vickers e Rockwel), ensaios de nanoindentação com penetrador Berkovich. Também foi possível aprofundar os conhecimentos de ensaios eletroquímicos e estudos de eletrólitos, bem como a sua preparação e análise para uso nos ensaios potenciodinâmicos e de Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Durante o curso de doutorado, os conhecimentos das técnicas de caracterização de materiais por difração de raios X foi adquirido no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares de São Paulo (IPEN-SP) e durante o estágio no exterior, bem como a determinação de orientações cristalinas por difração de elétrons retroespalhados (EBSD).

Abaixo estão descritos os trabalhos científicos submetidos a revistas científicas e em processo de revisão.

Trabalho submetido ao periódico: Journal of alloys and compounds “Effect of alloying elements on laser surface modification of powder metallurgy beta titanium alloys” **Mariana Correa Rossi**, José Manuel Paz Amado, Maria José Vidal Tobar, Angel Vicente, Armando José Casal Yañez, Vicente Borrás Amigó.

Trabalho submetido ao periódico: **International Journal of Materials Research**, “Evaluation of The Physical and Biological Properties in Ti-34Nb-6Sn/Mg Alloy at Different Times ff Milling and Sintering By Powder Metallurgy”. **Mariana Correa Rossi**, Fernanda de Castro Stievani,

João Pedro Hübbe Pfeifer, Luis Gallego Martinez, Vicente Amigó Borrás, Margarida Juri Saeki, Ana Liz Garcia Alves* (trabalho vinculado aos processos FAPESP: 17/13876-2 e 19/ 24237-6).

Trabalho submetido ao periódico: **Journal of Alloys and Compounds** “Effect of Compaction Pressure on Ti-34Nb-6Sn Alloy Prepared by Powder Metallurgy for Biomedical Applications”.

Mariana Correa Rossi, Daniel Leal Bayerlein, Francisco Segovia López, Ana Liz Garcia Alves, Vicente Amigó Borrás (trabalho vinculado aos processos FAPESP: 17/13876-2 e 19/ 24237-6).

Trabalho submetido e em processo de revisão, enviado ao periódico: **Journal of Materials Science:Materials in Medicine**, Low Mg content on Ti-Nb-Sn alloy when in contact with bmmscs promotes improvement of its biological functions. Carolina da Silva Dias, **Mariana Correa Rossi**, Emanuel V. P. Apolonio, Gustavo dos Santos Rosa, João Pedro Hübbe Pfeifer, Carlos Alberto Hussni, Marcos Jun Watanabe, Ana Liz Garcia Alves. (trabalho vinculado aos processos FAPESP: 19/09752-1 e 17/13876-2).