

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a) o texto completo desta Dissertação será disponibilizado somente a partir de 10/07/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
MATERIAIS

João Ícaro Miranda Moraes Garcia

**MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE TITÂNIO COM
TITANATO PARA A ADESÃO DA APATITA**

Botucatu

2024

João Ícaro Miranda Moraes Garcia

MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE TITÂNIO COM TITANATO PARA A ADESÃO DA APATITA

Dissertação apresentada ao Programa Interunidades de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais da UNESP como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Materiais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Margarida Juri Saeki

Botucatu

2024

G216m

Garcia, João Ícaro Miranda Morais

Modificação da superfície de titânio com titanato para a adesão da apatita / João Ícaro Miranda Morais Garcia. -- Bauru, 2024
122 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências, Bauru

Orientadora: Margarida Juri Saeki

1. Titânio. 2. Dip coating. 3. Titanato de cálcio. 4. Sol-gel. 5.
Apatita. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Ciências, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE JOÃO ÍCARO MIRANDA MORAIS GARCIA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 10 dias do mês de janeiro do ano de 2024, às 09:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de JOÃO ÍCARO MIRANDA MORAIS GARCIA, intitulada **Modificação da superfície de titânio com titanato para a adesão da apatita..** A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. MARGARIDA JURI SAEKI (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp, Profa. Dra. ROSEMARY APARECIDA DE CARVALHO (Participação Virtual) do(a) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos / Universidade de São Paulo, Profa. Dra. ELIANA NAVARRO DOS SANTOS MUCCILLO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Ciência e Tecnologia de Materiais / Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. MARGARIDA JURI SAEKI

Documento assinado digitalmente
 MARGARIDA JURI SAEKI
Data: 12/01/2024 00:31:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

“A persistência é o caminho do êxito”

Charlin Chaplin

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por todas as oportunidades e momentos que vivi ao longo da minha jornada de mestrado. Em especial, a minha família, aos meus pais, meus irmãos e minha avó, que sempre estiveram ao meu lado, me incentivando, me dando força e confiando nas minhas capacidades.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à Professora Margarida Juri Saeki, por sua contribuição essencial na execução desta dissertação. Sem a sua orientação, apoio e conhecimentos, a realização deste sonho não seria possível. Sou grato pela amizade e companheirismo que desenvolvemos ao longo deste processo. Sua presença constante e paciência proporcionaram um ambiente de trabalho colaborativo e motivador, o qual foi fundamental para superar os desafios encontrados ao longo da pesquisa.

Ao coorientador Diego pela valiosa contribuição. Sua vasta experiência e conhecimento foram indispensáveis para o planejamento e execução das atividades de pesquisa.

Ao professor Nilson a contribuição como um dos membros da banca da qualificação e a confiança por ter aberto as portas do Laboratório de plasma da Unesp-Sorocaba, possibilitando a realização e caracterização do revestimento PEO.

Ao professor William Fernando Zambuzzi, pela colaboração em todos os ensaios biológicos, discussão de resultados e especialmente pelo carinho e amizade.

Ao professor Vicente Borraz Amigó sou grato pela incrível oportunidade de estadia em seu laboratório na Universidade Politécnica de Valência, na Espanha. Sua dedicação em fornecer um ambiente de aprendizado foi fundamental para o meu crescimento e desenvolvimento como pesquisador.

A equipe do projeto IBBem do Instituto de Biociências da Unesp-Botucatu, demonstrou um cuidado genuíno ao oferecer psicoterapia e aulas de yoga como parte do projeto foi fundamental para o meu bem-estar emocional e físico ao longo dessa jornada.

Aos amigos do laboratório pelos momentos agradáveis de companheirismo e amizade.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

RESUMO

Biomateriais de compósito metal-cerâmica, tem ganhado destaque por oferecer formas de acelerar a regeneração e reabilitação. Neste trabalho estudou-se a modificação de superfície do titânio comercialmente puro (Ti-c.p.) criando-se ou depositando-se filmes de óxido de titânio (TiO_2) contendo titanato de cálcio (CaTiO_3) pelo método sol-gel associado a *dip-coating* ou utilizando-se a técnica de oxidação por plasma eletrolítico (PEO), seguida da deposição de filme de apatita via sol-gel associado a *dip-coating*. As estruturas presentes nos filmes foram caracterizadas por difratometria de raios X (DRX) com refinamento estrutural pelo método de Pawley, microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise composicional por energia dispersiva de raios X (EDX), microscopia de força atômica (AFM), perfilometria, molhabilidade, determinação de ponto de carga zero (pH_{PZC}), ensaios mecânicos por flexão de quatro pontos, ensaios de corrosão e biológicos. Os resultados de DRX mostraram que TiO_2 sob estruturas de rutilo e anatase, bem como CaTiO_3 compõe os filmes intermediários. O pH_{PZC} foram de 7,3 e 6,8 para Ti-c.p. contendo camada de óxido de titânio com cálcio preparada pelo método sol-gel e Ti-c.p. com superfície oxidada por plasma eletrolítico (PEO), respectivamente. Diante disso, escolheu-se um método sol-gel cujo sol do precursor de apatita é estável em pH próximo a 6,0, para a sua deposição em filme sobre o Ti-c.p. modificado. Os resultados de DRX mostraram a obtenção de apatitas sob duas estruturas: hidroxiapatita (HAp) e β -fostato tricálcico (β -TCP). A rugosidade, analisada por AFM, diminuiu após a deposição de filmes de apatita sobre Ti-c.p. com e sem modificação. Em contrapartida, houve um aumento da molhabilidade (superfície mais hidrofílica). As espessuras dos filmes de apatita sobre Ti-c.p. foram de 1,5 μm , mas quando depositado sobre um filme intermediário de CaTiO_3 obtido via sol-gel ou modificado por PEO foram respectivamente de 0,6 μm e 2,5 μm , promovendo um aumento da força de adesão do filme de apatita no substrato de titânio. Ambos os revestimentos diminuíram a taxa de corrosão. Os valores de tensão de flexão para um deslocamento de 1mm e módulo elasticidade não mudaram significativamente com as modificações feitas. O ensaio de toxicidade por contato direto demonstrou menor viabilidade de pré osteoblastos nas superfícies modificadas via PEO, apatita e CaTiO_3 com apatita. Por outro lado, a deposição de filmes de apatita sobre Ti-c.p. modificado via PEO aumentou expressivamente a viabilidade quando comparadas com a do controle. Na viabilidade estudada por contato indireto, as modificações não apresentaram diferenças em relação ao controle. A adesão de pré osteoblastos por contato direto foi maior em todas as amostras quando comparadas com a do controle. Em contrapartida,

por contato indireto, não apresentou diferença significativa em comparação com o controle. Na análise de expressão gênica, o RTqPCR (Reação em Cadeia da Polimerase, quantitativa e em tempo real) demonstrou que as diferentes modificações de superfícies influenciaram a capacidade de modular a expressão de genes envolvidos na diferenciação osteoblástica e na síntese de matriz extracelular, expresso pelas diferenças encontradas nas metaloproteinases, assim como pelo estímulo angiogênico representado pela expressão de *Vegf* (fator de crescimento endotelial vascular).

Palavra-chave

titânio; *dip coating*; sol-gel; titanato de cálcio; oxidação eletrolítica assistida por plasma (PEO); apatita; pré-osteoblastos.

ABSTRACT

Biomaterials based on metal-ceramic composite have received attention because they accelerate the regeneration and rehabilitation between the implant and bone. In this work, the surface of commercially pure titanium (c.p.-Ti) was modified by creating or depositing films of titanium oxide (TiO_2) containing calcium titanate (CaTiO_3) using sol-gel method associated with dip-coating technique or by the electrolytic plasma oxidation (PEO), followed by deposition of apatite layer via sol-gel/dip-coating. The films were characterized by X-ray diffractometry (XRD) with structural refinement by Pawley's method, scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), atomic force microscopy (AFM), profilometry, wettability study, determination of zero charge point (pH_{PZC}), four point bending tests (mechanical property), corrosion behavior study and biological assays. The XRD results showed that TiO_2 under rutile and anatase structures as well as CaTiO_3 formed in the sol-gel films. The pH_{PZCS} were 7.3 and 6.8 for c.p.-Ti with calcium containing titanium oxide layer prepared by sol-gel method and c.p.-Ti oxidized by electrolytic plasma (PEO), respectively. Based on this results, a sol-gel method whose apatite precursor sol is stable at $\text{pH}=6.0$ was chosen for depositing it on the modified c.p.-Ti. The XRD results showed that apatites formed on c.p.-Ti are composed by hydroxyapatite (HAp) and β -tricalcium phosphate (β -TCP). The AFM analysis showed that the roughness decreased after the deposition of apatite layer on c.p.-Ti, independently of the modification. In contrast, the wettability increased becoming the surface more hydrophilic. The thicknesses of apatite films on c.p.-Ti were $1.5\text{ }\mu\text{m}$, but when deposited on a CaTiO_3 containing layer prepared via sol-gel and modified by PEO were $0.6\text{ }\mu\text{m}$ and $2.5\text{ }\mu\text{m}$, respectively. Both coatings contributed to increase the corrosion resistance. Flexural stress required for a 1mm displacement and elasticity modulus did not change significantly with modifications. The direct contact toxicity test showed lower viability of pre-osteoblasts on surfaces modified via PEO, apatite and CaTiO_3 with apatite. On the other hand, the deposition of apatite films on PEO-modified Ti-c.p. significantly increased viability when compared to the control. Regarding the viability studied by indirect contact, the modifications showed no differences in relation to the control. The adhesion of preosteoblasts by direct contact was higher in all samples when compared to that of the control. On the other hand, indirect contact showed no significant difference compared to the control. The gene expression analysis by RTqPCR (Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction) showed that the different surface modifications

influenced the ability to modulate the expression of genes involved in osteoblast differentiation and extracellular matrix synthesis, expressed by the differences found in metalloproteinases, as well as angiogenic stimulation represented by *Vegf* expression (Vascular Endothelial Growth Factor).

Keyword

Titanium; Dip coating; Sol-gel; Calcium titanate; Plasma assisted Electrolytic Oxidation (PEO); apatite; Pre-osteoblasts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Montagem utilizada para a oxidação eletrolítica assistida por plasma: (a) sistema completo com fonte de tensão à esquerda e reator, e (b) foto ampliada do reator.	23
Figura 2. Agitador rotativo tipo Wagner.	26
Figura 3. (a) Equipamento, Struers, CitoPress-1. (b) Amostra embutida na resina.	28
Figura 4. Montagem da célula eletroquímica utilizada nos ensaios de corrosão.	32
Figura 5. (a) Montagem esquemática do dispositivo para ensaio de flexão de quatro pontos; (b) Ilustração para a identificação do mapa de calibração do dispositivo.....	34
Figura 6. Imagem do ensaio de flexão de quatro pontos no software Trapezium X.	35
Figura 7. Placa especial de 96 poços para PCR e esquema da montagem experimental para a análise de expressão gênica (RT-qPCR).	44
Figura 8. Ciclos de temperaturas, e respectivos tempos, aos quais os cDNAs foram submetidas para a análise por RT-qPCR.	46
Figura 9. Esquema dos processos que ocorrem num ciclo de uma análise de expressão gênica por RT-q-PCR.	46
Figura 10. Determinação do pH no ponto de carga zero (PZC) pelo método de deslocamento de pH em 24h, das amostras de: (a) Ti-c.p. modificado por deposição de titânia contendo cálcio e (b) Ti-c.p. modificado por PEO.....	53
Figura 11. Padrão de difração de raio X (DRX) do pó de apatita, preparada por processo sol-gel, à partir de nitrato de cálcio e pentóxido de fósforo em etanol à 0,7mol/L, gelatinização à 25 °C, secagem à 80 °C e tratamento térmico entre 500 °C e 700° C por 8 h ao ar.	54
Figura 12. Padrão de difração de raios X (DRX) das amostras: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita. Medidas feitas sob modo 2theta/theta.....	59
Figura 13. Imagens obtidas por MEV-EC das superfícies das amostras de Ti-c.p. sem e com modificações: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO com apatita. Detector de elétrons secundários, com magnificação 1000x.....	60

Figura 14. Análise composicional semi-quantitativa por EC-EDX da superfície de Ti-c.p.: (a) imagem construída por detector de elétrons secundário (SE) da área analisada com magnificação 500x. (b) espectro EC-EDX da área. Voltagem:15KV.....	62
Figura 15. Imagens de MEV-EC acompanhadas por análise composicional semi-quantitativa por EC-EDX da superfície de Ti- c.p com camada de titanato contendo cálcio: (a) imagem construída por detector de elétrons secundário (SE) da área analisada com magnificação 500x. (b) espectro EC-EDX da área. Voltagem:15KV.	63
Figura 16. Imagens de MEV-EC acompanhadas por análise composicional semi-quantitativa por EC-EDX da superfície de Ti-c.p. modificada por PEO: (a) imagem construída por detector de elétrons secundário (SE) da área analisada com magnificação 500x. (b) espectro EC-EDX da área. Voltagem:15KV.	64
Figura 17. Imagens de MEV-EC acompanhadas por análise composicional semi-quantitativa por EC-EDX da superfície de Ti-c.p com apatita: (a) imagem construída por detector de elétrons secundário (SE) da área analisada com magnificação 500x. (b) espectro EC-EDX da área. Voltagem:15KV.	65
Figura 18. Imagens de MEV-EC acompanhadas por análise composicional semi-quantitativa por EC-EDX da superfície de Ti-c.p. com titanato de cálcio (via sol-gel) e apatita: (a) imagem construída por detector de elétrons secundário (SE) da área analisada com magnificação 500x. (b) espectro EC-EDX da área. Voltagem:15KV.	66
Figura 19. Imagens de MEV-EC acompanhadas por análise composicional semi-quantitativa por EC-EDX da superfície de Ti-c.p. modificada por PEO e recoberta por apatita (a) imagem construída por detector de elétrons secundário (SE) da área analisada com magnificação 500x. (b) espectro EC-EDX da área. Voltagem:15KV.	66
Figura 20. Imagens de MEV-EC da seção transversal de Ti-c.p. com filmes modificadores: (a) Ti-c.p. com apatita; (b) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (c) Ti-c.p. com modificação superficial por PEO e apatita. Detector utilizado foi de elétrons secundários com magnificação 5000x (a e b) e 15000x (c).....	67
Figura 21. Estudo da influência das modificações na rugosidade das amostras de Ti-c.p. sem e com modificações: (a) Perfis de rugosidade; (b) quantificação de rugosidade quanto à Ra (barra cheia) e Rq (barra quadriculada). Amostras: (1) Ti-c.p. (preto); (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio (vermelho); (3) Ti-c.p. modificado por PEO (verde); (4) Ti-c.p. com apatita (azul); (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita (azul claro) e (6) Ti-c.p. modificado por PEO com apatita (rosa).....	68

Figura 22. Imagens topográficas em 3D, obtidas por Microscopia de Força Atômica (AFM), de: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita.	70
Figura 23. Quantificação de rugosidade quanto à Ra (barra cheia) e Rq (barra quadriculada) por Microscopia de Força Atômica (AFM) das amostras: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita.	70
Figura 24. Ângulo de contato das gotas de água sobre superfície das amostras de: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO com apatita.	72
Figura 25. Potencial de circuito aberto, versus eletrodo de referência de Ag/AgCl, em 3600 s em solução de Ringer-Hartmann à 37°C sobre superfície das amostras de: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita.	74
Figura 26. Curva de polarização em solução Ringer Hartmann, à 37 °C. Amostras: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita.	75
Figura 27. Gráfico de Tensão versus Deformação, relativo ao ensaio de flexão em 4 pontos. Amostras (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita.	77
Figura 28. Imagens obtida por microscópio óptico das superfícies das amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, após o ensaio de flexão: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita. Resolução 280x1024 px e lente 20x 0,45 10BD..	79
Figura 29. Foto das amostras (2,5x3cm) de Ti-c.p. sem e com modificações: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita e dolies a esquerda e a direita fotomicrografia demonstrando a delimitação das regiões testada e não testada após teste de adesão. Magnificação de 1600 vezes.....	82
Figura 30. Ensaio de viabilidade celular de MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, onde (a) contato direto e (b) contato indireto. Ambos os gráficos apresentam os	

grupos: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. . modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. Os resultados são representados como a média $\pm$ desvio padrão de de três experimentos independentes realizados em sextuplicata. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p=0,0001$ e **** $p < 0,0001$ 84

Figura 31. Ensaio de adesão celular de MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, onde (a) contato direto e (b) contato indireto. Ambos os gráficos apresentam os grupos: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. Os resultados são representados como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em sextuplicata. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p=0,0001$ e **** $p < 0,0001$ 85

Figura 32. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de células MC3T3-E1 cultivados em contato direto por 7 dias com as seguintes superfícies: (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p. com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p. modificado por PEO e apatita. Detector de elétrons secundários, com magnificação 1000x..... 86

Figura 33. Expressão de genes envolvidos no processo de adesão celular de células MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, onde (a) Integrina- $\alpha 1$; (b) Integrina- $\beta 1$; (c) Fak; (d) Cofilina; (e) Col3a1. Todos os gráficos apresentam os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. Os resultados são representados como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata em comparação com Ctrl. * $p < 0,05$ e **** $p < 0,0001$ 89

Figura 34. Expressão de genes marcadores ósseos de células MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, onde (a) Bsp; (b) Runx-2; (c) Otc. Todos os gráficos apresentam os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. Os resultados são representados como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata em comparação com Ctrl. * $p < 0,05$ e **** $p < 0,0001$ 91

Figura 35. Expressão do gene Vegf em células MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações. Todos os gráficos apresentam os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. Os resultados são representados como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata em comparação com Ctrl. * $p < 0,05$ e **** $p < 0,0001$ 92

Figura 36. Expressão de genes de remodelamento de matriz extracelular e zimografia de células MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, onde (a) Timp 1; (b) Timp 2; (c) Mmp2; (d) Mmp9; (e) Zimografia de Mmp2; (f) Zimografia de Mmp9; (g) Gel de Zimografia. Todos os gráficos apresentam os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. Os resultados são representados como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes realizados em triplicata em comparação com Ctrl. * $p < 0,05$ e **** $p < 0,0001$ 94

Figura 37. Ensaio de ALP em células MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações. A figura apresenta os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. 95

Figura 38. Ensaio de vermelho de alizarina em células MC3T3-E1, com as amostras de Ti-c.p. sem e com modificações, sendo (a) imagem das células e (b) identificação da cor vermelha pelo ImageJ. A figura apresenta os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. 96

Figura 39. Gráfico da quantificação da coloração vermelho de alizarina das imagens óticas pelo ImageJ. A figura apresenta os grupos: Controle (CTRL); Meio osteogênico (M.O.); (1) Ti-c.p.; (2) Ti-c.p. com titanato de cálcio; (3) Ti-c.p. modificado por PEO; (4) Ti-c.p com apatita; (5) Ti-c.p. com titanato de cálcio e apatita e (6) Ti-c.p modificado por PEO e apatita. 96

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Componentes da tensão de superfície dos líquidos indicadas pelo software ADVANCE.....	31
Tabela 2. Composição da solução Ringer-Hartman.	32
Tabela 3. Sequência do pares de primers e detalhes técnicos para ensaios de RT-qPCR em função dos genes.....	45
Tabela 4. Resultados obtidos por refinamento estrutural (Método de Pawley) dos padrões de difração das amostras de apatitas preparadas com o precursor à 0,7 mol/L e tratadas a 500 °C, 600 °C e 700 °C por 8 h.....	54
Tabela 5. Ângulo de contato da água e diiodometano com as amostras de Ti-c.p. com e sem modificações de superfícies.....	72
Tabela 6. Componentes dispersivos e polares da tensão superficial e energia de superfície dos sólidos calculados.	73
Tabela 7. Parâmetros cinéticos obtidos das curvas de polarização, obtidos em solução Ringer Hartmann, a 37° C, para as amostras de Ti-c.p. com diferentes modificações de superfícies..	76
Tabela 8. Força de adesão (normalizada por área) dos revestimentos nos substratos metálicos de Ti c.p.	80
Tabela 9. Componentes da tensão de superfície dos líquidos indicadas pelo software ADVANCE.....	118

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

λ - comprimento de onda

Å - angstrom

a - massa atômica

AFM - microscópio de força atômica

Alp - fosfatase alcalina

APS - persulfato de amônio

ASTM - *American Society for Testing and Materials*

ATCC - *American Type Culture Collection*

b_a - inclinações de Tafel do processo anódico

b_c - inclinações de Tafel do processo catódico

BCP - cerâmica bifásica de fosfato de cálcio

BSE - elétrons retroespalhados

Bsp - sialoproteína óssea

C - ciclo

CDHA - hidroxiapatita deficiente em cálcio

Col3 α - colágeno tipo III

C_r - taxa de corrosão

C_t - *cycle threshold*;

D - densidade

D - deslocamento para a deformação da amostra

DNA - ácido desoxiribonucleico genômico

DRX - difração de Raios X

DTA - análise térmica diferencial

E - potencial

EC-EDX - detector de Energia Dispersiva de Raios X acoplado a um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo

E_{corr} - potencial de corrosão

F - força

Fak - Quinase de Adesão Focal

FBS - soro fetal bovino

GAPDH - Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

h - espessura do corpo de prova

HAp - hidroxiapatita

HGNC - Comitê da Nomenclatura de Gene

HUGO - Organização do Genoma Humano

i - densidade de corrente

ICDD - *International Center for Diffraction Data*

i_{corr} - densidade de corrente de corrosão

K_{β} - decaimento do elétron da camada M para camada K

K_{α} - decaimento do elétron da camada L para camada K

L - distância entre os apoios inferiores

LM - linha média

MEV-EC - microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo

Mmp-2 - metaloproteinases de matriz tipo 2

Mmp-9 - metaloproteinases de matriz tipo 9

MO – indutores osteogênicos

mRNAs - ácidos ribonucleicos mensageiros

n - número de elétrons envolvidos na mudança na valência

NBR - norma brasileira

OCP - potencial de circuito aberto

Otc - Osteocalcina

PAD - fosfato ácido dissódico

PBS - tampão fosfato

PCZ - ponto de carga zero

PDF - *Powder Diffraction File*

PEO - oxidação eletrolítica assistida por plasma

Q_0 - quantidade inicial desse cDNA

Q_{Ct} - quantidade total de cDNAs

Ra - rugosidade média aritmética

RFU- unidade relativa de fluorescência

RFU_{Ct} - intensidade limiar de detecção

RMS - *Root Mean Square*

RNA - ácidos ribonucleicos

R_p - resistência de polarização

R_q - rugosidade média quadrática

RT-qPCR - *Real Time quantitative Polymerase Chain Reaction*

RunX2 - fator de transcrição 2 relacionado a runt

SDS - dodecil sulfato sódico

SE - elétrons secundários

TG - análise termogravimétrica

Ti-c.p - titânio comercialmente puro

Timp 1 - membro da família dos inibidores teciduais das Mmps 1

Timp 2 - membro da família dos inibidores teciduais das Mmps 2

TRIS - tampão de tris(hidroximetil)aminometano

UPV - Universidade Politécnica de Valencia

Vegf - fator de crescimento endotelial vascular

β -TCP - β -Fosfato Tricálcico

ε - deformação

σ - tensão

γ_L - tensão superficial do líquido

γ_L^D - tensão superficial dispersiva do líquido

γ_L^P - tensão superficial polar do líquido

γ_S - tensão dispersiva do sólido

γ_S - tensão polar do sólido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVO	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	21
3.1.1	Tratamento Mecânico	21
3.1.2	Tratamento Químico	21
3.1.3	Preparação da camada intermediária.....	21
3.1.4	Preparação do sol de óxido de titânio contendo titanato de cálcio e deposição na forma de filme (Sol-gel/imersão).....	21
3.1.5	Oxidação eletrolítica assistida por plasma (PEO)	22
3.1.6	Preparação do sol de apatita e deposição na forma de filme.....	23
3.2	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS.....	24
3.2.1	Determinação do Ponto de Carga Zero (PZC ou pH_{PZC})	24
3.2.2	Difratometria de Raios X	26
3.2.3	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	27
3.2.4	Quantificação da espessura do filme	27
3.2.5	Perfilometria de contato	28
3.2.6	Microscopia de Força Atômica	29
3.2.7	Molhabilidade, ângulo de contato e energia de superfície	30
3.2.8	Ensaio de corrosão	32
3.2.9	Ensaio Mecânico.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1	Determinação do ponto de carga zero	52
4.2	Otimização das condições para a preparação de apatita	53
4.3	Difratometria de raios X (DRX) dos filmes modificadores de Ti-c.p.	58
4.4	Análise morfológica e composicional das superfícies modificadas de Ti-c.p. por MEV-EC e EC-EDX60	
4.5	Determinação da espessura dos filmes modificadores	67
4.6	Perfilometria de contato	68
4.7	Microscopia de Força Atômica (AFM).....	69
4.8	Molhabilidade (ângulo de contato) e energia de superfície	71
4.9	Ensaio de corrosão	74
4.10	Ensaio Flexão de quatro pontos.....	77

4.11	Força de Adesão	79
4.12	Ensaio Biológico.....	83
5	CONCLUSÃO	97
6	REFERÊNCIA	99
7	APÊNDICE	112
A1.	Difratometria de Raios X	112
A2.	Refinamento de Pawley	112
A3.	Microscopia Eletrônica de Varredura	114
A4.	Perfilometria de contato.....	115
A5.	Microscopia de Força Atômica.....	117
A6.	Molhabilidade, ângulo de contato e energia de superfície	118
A7.	Ensaio de corrosão	119
A8.	Ensaio Mecânico	121

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento na demanda pelos implantes biomédicos de longa duração (HEIMANN, 2013), estudos técnico-científicos alertam para a importância do aprimoramento dos materiais já disponíveis para melhorar a qualidade de vida dos pacientes a um custo e tempo aceitável (CHOI; KARACAN; BEN-NISSAN, 2020). Geralmente, os insucessos dos implantes são associados a sua fixação biológica não adequada ao osso (OSHIDA et al., 2010). É também de vital importância para qualquer sistema de implante que não promova respostas inflamatórias (PONGNARISORN et al., 2007).

O interesse em melhorar implantes metálicos como titânio comercialmente puro (Ti-c.p.) e suas ligas tem crescido (ELIAS et al., 2015; MOREJÓN-ALONSO et al., 2022). Embora estes materiais apresentem boas propriedades mecânicas, químicas (boa resistência à corrosão em ambientes biológicos) e de biocompatibilidade (SCHENK; BUSER, 1998), requerem revisão cirúrgica, devido ao longo tempo requerido para a cicatrização óssea e à baixa longevidade dos materiais (CECCHINATO et al., 2012).

Novos processos industriais podem interferir na microestrutura e na morfologia do material base (LIU; CHU; DING, 2004). Processamentos térmicos e/ou mecânicos, geram formação de diferentes fases, que afetam a dureza, resistência mecânica (ZHU, KIM, JEONG, 2001) e química (LETIĆ-GAVRILOVIĆ, SCANDURRA, ABE, 2000).

A fabricação de ligas metálicas à base de titânio e/ou modificação química da superfície (CHOI; KARACAN; BEN-NISSAN, 2020), para criar interfaces à base de materiais ósseo-integráveis, promovem melhor ancoragem do implante ao osso e podem garantir excelentes propriedades mecânicas, físicas e biológicas (BENENTI; CASATI; STRINI, 2004). Nenhum metal é considerado inteiramente inerte, sendo passível à oxidação (OLIVEIRA et al., 2015a), causando efeitos adversos, devido à degradação do material e liberação de íons metálicos nocivos ao organismo (ELIAZ, 2019).

A modificação superficial com materiais bioativos pode auxiliar na integração com o osso, além de servir de barreira para a difusão de íons (ROESSLER et al., 2001). Dentre os materiais bioativos, a cerâmica sintética à base de fosfato de cálcio (apatitas) apresenta propriedades de osteocondutibilidade e osteoindutibilidade intrínseca, fundamental para um material biocompatível (FARZADI et al., 2011). Apesar das semelhanças químicas com o osso, a deposição de hidroxiapatita tem apresentado falhas (PYLYPCHUK et al., 2016), evidenciadas pela baixa adesão na superfície do titânio, material mais utilizado em implantes. Apresenta

menor resistência mecânica comparada à do tecido ósseo e baixa tenacidade à ruptura (SALVADOR et al., 2018). Em contrapartida, favorece a proliferação celular, sendo considerado um material promissor (DEHGHANI FIROOZABADI; RAMAZANI SAADATABADI; ASEFNEJAD, 2024) .

Uma alternativa promissora para minimizar a baixa adesão direta da apatita é a busca de novas técnicas de funcionalização de superfícies, na interface titânio/apatita (ARDHY et al., 2023). No entanto, há aqueles que demonstram incertezas sobre a existência de camadas intermediárias bioativas (FAIS et al., 2021). A modificação química da superfície pode interferir na ligação intermateriais, fortalecer reatividade do fosfato de cálcio e melhorar a adsorção por meio de força atrativa, devido à interação entre o modificador e superfície (HACIOGLU et al., 2020).

Pesquisadores buscam alternativas que visam a minimizar os riscos e as possíveis carências de propriedades acima mencionadas frente ao uso direto de apatitas sobre o titânio (HSU et al., 2023). Há evidências de que a formação de camada de óxido, sobre o titânio antes da deposição de hidroxiapatita (HAp), aumenta a força de união entre as camadas (ARDHY ARDHY et al., 2023) e diminui a progressão da dissolução da camada de HAp em ambiente ácido, proporcionada durante a reabsorção osteoclástica no corpo (GONÇALVES, 2021).

Alguns autores demonstram efeitos benéficos na implantação iônica de cálcio durante o tratamento de oxidação do titânio. Esse modificador age como ativador da osteogênese e leva ao crescimento celular (INOUE et al., 2010) . Com a adição do cálcio, há indícios de formação da fase de titanato de cálcio (CaTiO_3) que, além de aumentar a estabilidade química, evita a dissolução do revestimento (PIRES, 2023). Leva também à maior adesão entre o titânio e HAp (CHEN et al., 2023).

As formas convencionais de síntese para depositar CaTiO_3 na superfície, tais como coprecipitação (ZHANG et al., 2008), tratamento hidrotérmico (ZHANG et al., 2009), solução orgânico-inorgânica (EVANS et al., 2003), combustão (FALSETTI; MELO, 2019) e sol-gel (RAKNGARM; MIYASHITA; MUTOH, 2008a), são métodos químicos já estudados, que proporcionam pouca força de adesão ao metal, levando à esfoliação e à ruptura da camada. Isso faz com que, na maioria das vezes, a modificação se torne inviável.

Em contrapartida, outros pesquisadores qualificam os processos acima como promissores, de fácil comercialização e de baixo custo (SULTANA; YANG; HU, 2012). Isso se deve ao fato dos precursores serem líquidos e organo solúveis, possibilitando preparar sóis com diferentes viscosidades e que facilitam o controle da espessura dos filmes depositados sobre as superfícies. Fu e colaboradores (2011) não descartaram a síntese por método sol-gel:

a fraca adesão do filme foi por eles fortalecida através de banho químico em soluções de NaOH e HCl (FU et al., 2011). Rakngarm (2008) e colaboradores observaram que liga Ti6Al4V tratada quimicamente com NaOH a 5 mol/L antes da deposição de HAp pelo método biomimético apresentou boa adesão para HAp e atribuíram o fato para a interação entre Na_2TiO_3 com TiO_2 (RAKNGARM; MIYASHITA; MUTOH, 2008b).

Esses esforços fazem com que o processo sol-gel seja considerado como alternativa. Nesse processo, as partículas coloidais de sol condensam-se como um gel sob uma estrutura desordenada que, ao serem submetidas ao tratamento térmico, transformam-se em filmes com estrutura cristalina, definida e homogênea (LIU et al., 2002), importantes no controle das propriedades estruturais, texturais e morfológicas da superfície (BALAMURUGAN et al., 2009a).

Todavia, processos de revestimentos físicos, como *sputtering* por *RF-Magnetron* (OHTSU et al., 2007a), deposição assistida por feixe de íons (OHTSU et al., 2008) e deposição por laser pulsado (OHTSU et al., 2007b), apesar de apresentarem vantagens na preparação de filmes homogêneos com espessura controlada, necessitam maquinários sofisticados e complexos, equipados ainda a sistema de ultra-alto vácuo, com altos investimentos.

Esforços para elaborar novas formas de processamento, a custo aceitável, para a adesão das camadas bioativas com estabilidade estrutural e uso clínico em longo prazo são ainda empregados (AKIN et al., 2001) pois, embora os revestimentos já citados forneçam camadas bem sucedidas quanto à composição, geometria dos implantes e morfologia da superfície com boa resistência adesiva, ainda não estão exploradas suficientemente (HAN et al., 2008).

Nas últimas décadas, o método de oxidação eletrolítica por plasma (PEO) que proporciona superfícies de grande dureza (KOSTELAC et al., 2023) e resistência mecânica (ERFANIFAR et al., 2017), com porosidade, tem se destacado. É um método empregado em uma variedade de metais como, titânio, alumínio, magnésio, nióbio, ligas, tântalo e aço (JÚNIOR, 2014). A formação do filme de óxido ocorre durante as descargas elétricas e geração de plasma associados à polarização anódica sob alta voltagem e corrente em contato com uma solução eletrolítica (WHEELER et al., 2010). Ligada à superfície do material, cresce uma camada de óxido, que em altas voltagens experimenta descargas de plasma ou micro-arcs de alta potência e temperatura acompanhada por uma emissão acústica de baixa frequência (CURRAN; CLYNE, 2006). Isso causa a oxidação do metal e sua fusão localizada, que solidifica rapidamente, ocasionando a formação de uma camada rígida, espessa, com poros em formato de vulcões, permitindo também a incorporação das substâncias originadas do eletrólito (OLIVEIRA et al., 2015b).

Essa técnica de oxidação eletrolítica já foi estudada por Ishizawa e Ogino (1995) que demonstraram sucesso na obtenção de um filme de óxido de titânio anódico, contendo espécies bioativas de Ca e P incorporadas na camada de óxido. Apesar da baixa incorporação das espécies, após imersão em um fluido corpóreo simulado, o filme de apatita formado apresentou alta resistência adesiva na superfície (ISHIZAWA; OGINO, 1995). Anos depois, os trabalhos de Hang (2003) e Song (2004) relataram excelente incorporação de Ca e P a partir das substâncias contidas no eletrólito, ajustando a corrente aplicada, tempo de tratamento, ciclo de trabalho, frequência, densidade de corrente e polarização. Estas variáveis também afetam diretamente as estruturas da camada de óxido formadas (HAN; HONG; XU, 2003) (SONG et al., 2004c).

Sendo assim, neste trabalho propõe-se modificar a superfície do titânio pela deposição de filmes intermediários ricos em CaTiO_3 , por duas vias distintas: sol-gel e PEO, e posteriormente recobrir com apatita, via sol-gel. Propõe-se também estudar a morfologia e a estrutura da superfície modificada, as propriedades eletroquímicas (susceptibilidade à corrosão), bem como as características mecânicas. Por fim, as características morfológicas das células após a interação com os materiais são estudadas. Essas são metas para trazer melhores benefícios aos materiais para implante à base de titânio.

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho teve por objetivo modificar a superfície do Ti-c.p. pela deposição de filmes finos intermediários de titanato de cálcio pelo método sol-gel e por oxidação eletrolítica assistida por plasma (PEO), seguida da deposição de apatita para melhorar a integração com o osso. Diante disso, pode se concluir que:

- A caracterização feita por DRX mostraram que os filmes intermediários se estruturaram como titanato de cálcio e óxido de titânio anatásio quando depositado pelo método sol-gel e mistura de óxido de titânio rutilo e anatásio e titanato de cálcio, quando oxidado por PEO;
- O refinamento estrutural do difratograma do pó de apatita confirmou que com o método sol-gel seguido de tratamento à 700°C obtêm-se apatitas compostas por uma mistura de 59,6% em hidroxiapatita e 40,4% em β -TCP e que a composição deve ser similar ao ser sintetizar na forma de filmes sobre o substrato de Ti-c.p. contendo ou não camadas intermediárias;
- As imagens de MEV-EC mostraram que a superfície modificada com filmes de titanato de cálcio com método sol-gel apresenta morfologia com trincas e rachaduras. Já o processamento PEO produz uma superfície porosa;
- A deposição do filme de apatita sobre Ti-c.p. contendo ou não camada de CaTiO_3 proporcionou recobrimentos com rugosidade na superfícies;
- A perfilometria de contato revelou que a rugosidade (em escala micrométrica) diminuiu com a deposição de camadas intermediárias, mas aumentou com a deposição de apatitas, entretanto, quando analisadas por AFM (escala nanométrica), a tendência observada foi oposta. A deposição de filmes intermediários aumentou substancialmente a rugosidade e a deposição de apatita a diminuiu;
- Os filmes modificadores proporcionaram uma superfície mais resistente à corrosão, bem como não alteraram significativamente as propriedades mecânicas do Ti-c.p.;
- As modificações proporcionaram uma superfície mais hidrofílica com maior energia de superfície, com exceção da modificação por PEO;
- Os filmes intermediários, juntamente com o tratamento térmico ao qual o conjunto foi submetido, fortaleceu tanto a camada de apatita quanto a camada oxidada por PEO, promovendo um aumento na força de adesão do filme de apatita ao substrato de titânio;

- O ensaio biológico por contato direto mostrou que em comparação ao controle, as amostras apresentaram viabilidade e adesão celular maior na presença Ti-c.p. e maior ainda quando recoberto com a camada intermediária de filmes contendo CaTiO_3 preparado pelo método sol-gel ou processado por PEO. Em contrapartida, a amostra de contato indireto não demonstrou diferenças significativas em relação ao controle;
- Na análise RT-qPCR, foi demonstrado que as diferentes modificações da superfícies influenciaram a capacidade de modular a expressão de genes envolvidos na diferenciação osteoblastica, na síntese de matriz extracelular, expresso pelas diferenças encontradas nas metaloproteinases, assim como o estímulo angiogênico caracterizado pela expressão *Vegf*;
- O ensaio de fosfatase alcalina por coloração e mineralização por vermelho de alizarina e coloração de Alp indicam que os meios condicionados pelos materiais induziram o aumento da mineralização das células quando comparado ao controle, mostrando assim, potencial para novas aplicação de regeneração óssea.

6 REFERÊNCIA

- ADWAN, H.; BÄUERLE, T. J.; BERGER, M. R. Downregulation of osteopontin and bone sialoprotein II is related to reduced colony formation and metastasis formation of MDA-MB-231 human breast cancer cells. **Cancer Gene Therapy**, v. 11, n. 2, p. 109–120, fev. 2004.
- AIYELABEGAN, H. T.; SADRODDINY, E. Fundamentals of protein and cell interactions in biomaterials. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 88, p. 956–970, 1 abr. 2017.
- AKIN, F. A. et al. Preparation and analysis of macroporous TiO₂ films on Ti surfaces for bone-tissue implants. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 57, n. 4, p. 588–596, 2001.
- ALBREKTSSON, T.; JOHANSSON, C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. **European Spine Journal**, v. 10, n. 2, p. S96–S101, 1 out. 2001.
- ALLOISIO, G. et al. Effects of Extracellular Osteoanabolic Agents on the Endogenous Response of Osteoblastic Cells. **Cells**, v. 10, n. 9, p. 2383, set. 2021.
- ALVES, A. C. et al. Corrosion mechanisms in titanium oxide-based films produced by anodic treatment. **Electrochimica Acta**, v. 234, p. 16–27, 20 abr. 2017.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS ASTM E855-08. **E855-90 (2000): Standard test methods for bend testing of metallic flat materials for spring applications involving static loading.** Disponível em: <https://webstore.ansi.org/Standards/ASTM/astme85508?gclid=CjwKCAjw7eSZBhB8EiwA60kCWxaYv1m6G8xLVvFg-3-I7y6qQ5nbMalv08DFITYrCdHVLNwWGVImdRoCXYcQAvD_BwE>. Acesso em: 2 out. 2022.
- ARDHY, S. et al. Improvement in Bioactivity Properties of Hydroxyapatite Coated Ti-6Al-4V ELI with Addition of Zirconium Oxide for Orthopaedic Implant. **Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering**, v. 59, p. 81–89, 2023.
- ASTM INTERNATIONAL ASTM F 2129-01. **Standard Test Method for Conducting Cyclic Potentiodynamic Polarization Measurements to Determine the Corrosion Susceptibility of Small Implant Devices.** Disponível em: <<https://www.scribd.com/document/470844533/ASTM-F-2129-2008-Standard-Test-Method-for-Conducting-Cyclic-Potentiodynamic-Polarization-Measurements-to-Determine-the-Corrosion-Susceptibility-of-Sma>>. Acesso em: 11 ago. 2022.
- AVÉS, E. P. et al. Hydroxyapatite coating by sol-gel on Ti-6Al-4V alloy as drug carrier. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, n. 2, p. 543–547, 1 fev. 2009.
- BAIL, A. L. Whole powder pattern decomposition methods and applications: A retrospection. **Powder Diffraction**, v. 20, n. 4, p. 316–326, dez. 2005.
- BALAMURUGAN, A. et al. Electrochemical and structural evaluation of functionally graded bioglass-apatite composites electrophoretically deposited onto Ti6Al4V alloy. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 4, p. 1192–1198, 30 jan. 2009a.

BALAMURUGAN, A. et al. Electrochemical and structural evaluation of functionally graded bioglass-apatite composites electrophoretically deposited onto Ti6Al4V alloy. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 4, p. 1192–1198, 30 jan. 2009b.

BAPTISTA, A. M. **Correlação entre a expressão de VEGF e a sobrevida no osteossarcoma**. Doutorado em Ortopedia e Traumatologia—São Paulo: Universidade de São Paulo, 25 ago. 2010.

BARBOSA, W. A. Estudo experimental e simulado de eletrodeposição da Liga Ni-W. 28 mar. 2008.

BEERTSEN, W. et al. On the role of MT1-MMP, a matrix metalloproteinase essential to collagen remodeling, in murine molar eruption and root growth. **European Journal of Oral Sciences**, v. 110, n. 6, p. 445–451, dez. 2002.

BENENTI, G.; CASATI, G.; STRINI, G. **Principles of Quantum Computation and Information: Volume I: Basic Concepts**. [s.l.] WORLD SCIENTIFIC, 2004.

BUSALMEN, J. P.; DE SÁNCHEZ, S. R. Influence of pH and ionic strength on adhesion of a wild strain of *Pseudomonas* sp. to titanium. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 5, p. 303–308, 1 maio 2001.

CAMARGO, J.; MACHADO, A. USINABILIDADE DE VÁRIOS MATERIAIS COM CARACTERÍSTICAS DIFERENTES, TENDO COMO PARÂMETRO A RUGOSIDADE. 3 abr. 2015.

CASALETTO, M. P. et al. Surface studies of in vitro biocompatibility of titanium oxide coatings. **Applied Surface Science**, v. 172, n. 1, p. 167–177, 1 mar. 2001.

CECCHINATO, D. et al. Osseointegration in periodontitis susceptible individuals. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, n. 1, p. 1–4, 2012.

CHAVES, J. M. et al. Characterization of the structure, thermal stability and wettability of the TiO₂ nanotubes growth on the Ti–7.5Mo alloy surface. **Applied Surface Science**, v. 370, p. 76–82, 1 maio 2016.

CHEN, K.-T. et al. Effects of Micro-Arc Oxidation Discharge Parameters on Formation and Biomedical Properties of Hydroxyapatite-Containing Flower-like Structure Coatings. **Materials**, v. 16, n. 1, p. 57, jan. 2023.

CHEN, W. et al. Surface functionalization of titanium implants with chitosan-catechol conjugate for suppression of ROS-induced cells damage and improvement of osteogenesis. **Biomaterials**, v. 114, p. 82–96, 1 jan. 2017.

CHETTY, A. et al. Synthesis, properties, and applications of hydroxyapatite. Em: [s.l.] Nova Science Publishers, 2012.

CHO, K. S. et al. A novel etchant for revealing the prior austenite grain boundaries and matrix information in high alloy steels. **Materials Characterization**, v. 59, n. 6, p. 786–793, 1 jun. 2008.

CHOI, A. H.; KARACAN, I.; BEN-NISSAN, B. Surface modifications of titanium alloy using nanobioceramic-based coatings to improve osseointegration: a review. **Materials Technology**, v. 35, n. 11–12, p. 742–751, 14 out. 2020.

COELHO, P. G. et al. Argon-based atmospheric pressure plasma enhances early bone response to rough titanium surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 100A, n. 7, p. 1901–1906, 2012.

CONDEELIS, J. How is actin polymerization nucleated in vivo? **Trends in Cell Biology**, v. 11, n. 7, p. 288–293, 1 jul. 2001.

CORDEIRO, J. M.; BARÃO, V. A. R. Is there scientific evidence favoring the substitution of commercially pure titanium with titanium alloys for the manufacture of dental implants? **Materials Science and Engineering: C**, v. 71, p. 1201–1215, 1 fev. 2017.

COTRIM, P. et al. Expressão e atividade da metaloproteinase de matriz-2 (MMP-2) durante o desenvolvimento do germe dental do primeiro molar de ratos. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, p. 97–102, 2002.

COUSSENS, L. M.; FINGLETON, B.; MATRISIAN, L. M. Matrix Metalloproteinase Inhibitors and Cancer—Trials and Tribulations. **Science**, v. 295, n. 5564, p. 2387–2392, 29 mar. 2002.

CUNHA, V. S. et al. Estudo histomorfométrico comparativo de implantes hidrofóbicos e hidrofílicos. **Brazilian Oral Research**, v. 29, p. 483, 2015.

CURRAN, J. A.; CLYNE, T. W. Porosity in plasma electrolytic oxide coatings. **Acta Materialia**, v. 54, n. 7, p. 1985–1993, 1 abr. 2006.

DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Titanium-enriched medium drives low profile of ECM remodeling as a pre-requisite to pre-osteoblast viability and proliferative phenotype. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 50, p. 339–346, 1 dez. 2018.

DALLABRIDA, A. L. et al. Caracterização de biocerâmica de fosfatos de cálcio microestruturada em diferentes composições em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 1327–1336, jul. 2018.

DE LA CERDA, C. et al. Processo de modificação de superfície de titânio, implantes e componentes protéticos modificados e uso dos mesmos. 4 fev. 2020.

DEGHANI FIROOZABADI, F.; RAMAZANI SAADATABADI, A.; ASEFNEJAD, A. Improving cell proliferation using polylactic acid, polycaprolactone, hydroxyapatite and zinc oxide nanocomposite for cancellous bone substitutes. **Polymer-Plastics Technology and Materials**, v. 63, n. 2, p. 95–119, 22 jan. 2024.

DHAVALIKAR, P. et al. Review of Integrin-Targeting Biomaterials in Tissue Engineering. **Advanced Healthcare Materials**, v. 9, n. 23, p. 2000795, 2020.

DONATO, T. A. G. Estudo da influência do fator de transformação de crescimento - Beta 1 (TGF- β 1) em cultura de células osteogênicas induzidas com fatores mineralizantes. text—[s.l.] Universidade de São Paulo, 16 out. 2009.

DOS SANTOS, M. L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Ecletica Quimica**, v. 30, n. 3, p. 29–35, 26 set. 2005.

DOU, C. et al. Graphene-Based MicroRNA Transfection Blocks Preosteoclast Fusion to Increase Bone Formation and Vascularization. **Advanced Science**, v. 5, n. 2, p. 1700578, 2018.

DUARTE, L. DA C. et al. Aplicações de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e sistema de energia dispersiva (EDS) no estudo de gemas exemplos brasileiros. 2003.

ELIAS, C. N. et al. Mechanical properties, surface morphology and stability of a modified commercially pure high strength titanium alloy for dental implants. **Dental Materials**, v. 31, n. 2, p. e1–e13, 1 fev. 2015.

ELIAZ, N. Corrosion of Metallic Biomaterials: A Review. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 3, p. E407, 28 jan. 2019.

ERFANIFAR, E. et al. Growth kinetics and morphology of plasma electrolytic oxidation coating on aluminum. **Materials Chemistry and Physics**, v. 185, p. 162–175, 1 jan. 2017.

ESEN, E.; LONG, F. Aerobic Glycolysis in Osteoblasts. **Current Osteoporosis Reports**, v. 12, n. 4, p. 433–438, 1 dez. 2014.

EVANS, I. R. et al. Variable temperature in situ X-ray diffraction study of mechanically activated synthesis of calcium titanate, CaTiO_3 . **Materials Research Bulletin**, v. 38, n. 7, p. 1203–1213, 19 jun. 2003.

FAHRBACH, M. et al. Calibrating a high-speed contact-resonance profilometer. **Journal of Sensors and Sensor Systems**, v. 9, n. 2, p. 179–187, 7 jul. 2020.

FAIS, L. M. G. et al. Microbial Adhesion and Biofilm Formation on Bioactive Surfaces of Ti-35Nb-7Zr-5Ta Alloy Created by Anodization. **Microorganisms**, v. 9, n. 10, p. 2154, out. 2021.

FALSETTI, P. H. E.; MELO, E. B. DE. Uma adaptação de síntese pelo método pechini para obtenção do CaTiO_3 / An adaptation of pechini method for CaTiO_3 synthesis. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 3, p. 2458–2461, 13 fev. 2019.

FARZADI, A. et al. Synthesis and characterization of hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate nanocomposites using microwave irradiation. **Ceramics International**, v. 37, n. 1, p. 65–71, 1 jan. 2011.

FAZEL, M. et al. Osteogenic and antibacterial surfaces on additively manufactured porous Ti-6Al-4V implants: Combining silver nanoparticles with hydrothermally synthesized HA nanocrystals. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111745, 1 jan. 2021.

FERRARIS, S. et al. Multifunctional commercially pure titanium for the improvement of bone integration: Multiscale topography, wettability, corrosion resistance and biological functionalization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 60, p. 384–393, 1 mar. 2016.

FILANTI, C. et al. The expression of metalloproteinase-2, -9, and -14 and of tissue inhibitors-1 and -2 is developmentally modulated during osteogenesis in vitro, the mature osteoblastic phenotype expressing metalloproteinase-14. **Journal of Bone and Mineral Research: The**

Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research, v. 15, n. 11, p. 2154–2168, nov. 2000.

FREITAS et al. **Implementação de sistema para sonificação de microscopia de varredura por sonda**. Dissertação (Mestrado Engenharia Elétrica)—João Pessoa, Paraíba, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais, 2018.

FU, J.; LI, F. A forefinger-like tactile sensor for elasticity sensing based on piezoelectric cantilevers. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 234, p. 351–358, 1 out. 2015.

FU, T. et al. Sol–gel titania coating on NiTi alloy with a porous titania film as interlayer. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 307–311, 1 abr. 2011.

GHARIBI, A. et al. ITGA1 is a pre-malignant biomarker that promotes therapy resistance and metastatic potential in pancreatic cancer. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10060, 30 ago. 2017.

GITTENS, R. A. et al. The roles of titanium surface micro/nanotopography and wettability on the differential response of human osteoblast lineage cells. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 4, p. 6268–6277, 1 abr. 2013.

GONÇALVES, C. P. Síntese e caracterização da hidroxiapatita pelo método de precipitação por via úmida com reações de ácido-base. **1 CD-ROM**, 16 jun. 2021.

GORDON, J. A. R. et al. Bone sialoprotein expression enhances osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. **Bone**, v. 41, n. 3, p. 462–473, 1 set. 2007.

HACIOGLU, T. et al. Preparation and characteristics of co-doped hydroxyapatite biomimetic coatings on pretreated ti6al4v alloy. **Surface Review and Letters**, v. 27, n. 11, p. 2050012, nov. 2020.

HAN, Y. et al. UV-enhanced bioactivity and cell response of micro-arc oxidized titania coatings. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 5, p. 1518–1529, 1 set. 2008.

HAN, Y.; HONG, S.-H.; XU, K. Structure and in vitro bioactivity of titania-based films by micro-arc oxidation. **Surface and Coatings Technology**, v. 168, n. 2, p. 249–258, 22 maio 2003.

HEIMANN, R. B.; ROBERT. Structure, properties, and biomedical performance of osteoconductive bioceramic coatings. **Surface and Coatings Technology**, p. 27–38, out. 2013.

HERRMANN, P. S. P. et al. Microscopia de varredura por força: uma ferramenta poderosa no estudo de polímeros. **Polímeros**, v. 7, p. 51–61, dez. 1997.

HING, K. A. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? **Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences**, v. 362, n. 1825, p. 2821–2850, 15 dez. 2004.

HSU, H.-C. et al. Characterization of Hydroxyapatite/Chitosan Composite Coating Obtained from Crab Shells on Low-Modulus Ti–25Nb–8Sn Alloy through Hydrothermal Treatment. **Coatings**, v. 13, n. 2, p. 228, fev. 2023.

ICHIKAWA, R. U. et al. Combining X-Ray Whole Powder Pattern Modeling, Rietveld and Pair Distribution Function Analyses as a Novel Bulk Approach to Study Interfaces in Heteronanostructures: Oxidation Front in FeO/Fe₃O₄ Core/Shell Nanoparticles as a Case Study. **Small**, v. 14, n. 30, p. 1800804, 2018.

INOUE, M. et al. Effect of a New Titanium Coating Material (CaTiO₃-aC) Prepared by Thermal Decomposition Method on Osteoblastic Cell Response. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 24, n. 7, p. 657–672, 1 mar. 2010.

ISHIZAWA, H.; OGINO, M. Formation and characterization of anodic titanium oxide films containing Ca and P. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29, n. 1, p. 65–72, 1995.

JR, W. D. C.; RETHWISCH, D. G. **Fundamentals of Materials Science and Engineering: An Integrated Approach**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2020.

JÚNIOR, G. A. S. **Desenvolvimento de um novo eletrólito polimérico baseado num derivado de PEO e metais de transição para aplicação em dispositivos fotoeletroquímicos**. [s.l.] [s.n.], 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/926299>>. Acesso em: 15 jan. 2024.

KHAN, M. R. et al. The enhanced modulation of key bone matrix components by modified Titanium implant surfaces. **Bone**, v. 50, n. 1, p. 1–8, jan. 2012.

KIM, H.-W.; KIM, H.-E.; KNOWLES, J. C. Improvement of Hydroxyapatite Sol–Gel Coating on Titanium with Ammonium Hydroxide Addition. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 88, n. 1, p. 154–159, 2005.

KOMORI, T. Runx2, A multifunctional transcription factor in skeletal development. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 87, n. 1, p. 1–8, 2002.

KOSTELAC, L. et al. Black PEO Coatings on Titanium and Titanium Alloys Produced at Low Current Densities. **Applied Sciences**, v. 13, n. 22, p. 12280, jan. 2023.

KUNST, S. R. et al. Influence of simulated body fluid (normal and inflammatory) on corrosion resistance of anodized titanium. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e122101018606–e122101018606, 7 ago. 2021.

LEFEBVRE, V.; PEETERS-JORIS, C.; VAES, G. Production of gelatin-degrading matrix metalloproteinases (‘type IV collagenases’) and inhibitors by articular chondrocytes during their dedifferentiation by serial subcultures and under stimulation by interleukin-1 and tumor necrosis factor α . **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1094, n. 1, p. 8–18, ago. 1991.

LEHMANN, T. P. et al. Gene Expression in MC3T3-E1 Cells Treated with Diclofenac and Methylprednisolone. **Genes**, v. 14, n. 1, p. 184, jan. 2023.

LETIĆ-GAVRILOVIĆ, A.; SCANDURRA, R.; ABE, K. Genetic Potential of Interfacial Guided Osteogenesis in Implant Devices. **Dental Materials Journal**, v. 19, n. 2, p. 99–132, 2000.

LI, H. et al. Hydrophilicity and photocatalysis of Ti_{1-x}V_xO₂ films prepared by sol–gel method. **Surface and Coatings Technology**, v. 201, n. 18, p. 7615–7618, 25 jun. 2007.

LI, Q. L. et al. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer. **Cell**, v. 109, n. 1, p. 113–124, 5 abr. 2002.

LI, S. et al. Surface characteristics and biocompatibility of sandblasted and acid-etched titanium surface modified by ultraviolet irradiation: An in vitro study. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 100B, n. 6, p. 1587–1598, 2012.

LIOU, S.-C.; CHEN, S.-Y. Transformation mechanism of different chemically precipitated apatitic precursors into β -tricalcium phosphate upon calcination. **Biomaterials**, v. 23, n. 23, p. 4541–4547, 1 dez. 2002.

LIU, A. P.; CHAUDHURI, O.; PAREKH, S. H. New advances in probing cell–extracellular matrix interactions. **Integrative Biology**, v. 9, n. 5, p. 383–405, 1 maio 2017.

LIU, D.-M. et al. Structural evolution of sol–gel-derived hydroxyapatite. **Biomaterials**, v. 23, n. 7, p. 1679–1687, 1 abr. 2002.

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**, v. 47, n. 3, p. 49–121, 24 dez. 2004.

LLOVET, X. et al. Reprint of: Electron probe microanalysis: A review of recent developments and applications in materials science and engineering. **Progress in Materials Science**, v. 120, p. 100818, 1 jul. 2021.

MARTIM, J. G. [UNESP. Modificação de superfície da liga Ti6Al4V para aplicação biomédica. **Aleph**, p. 125 f. : il., 24 maio 2013.

MCCAFFERTY, E. Validation of corrosion rates measured by the Tafel extrapolation method. **Corrosion Science**, A Century of Tafel's Equation: A Commemorative Issue of Corrosion Science. v. 47, n. 12, p. 3202–3215, 1 dez. 2005.

MCCAWLEY, L. J.; MATRISIAN, L. M. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, n. 5, p. 534–540, 1 out. 2001.

MENDONÇA, G. et al. Efeito de superfícies de implantes nano-estruturadas na expressão de genes de osteoblastos e no contato osso-implante in vivo. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 19, n. 50, 14 out. 2010.

METIKOŠ-HUKOVIĆ, M.; BABIĆ, R. Passivation and corrosion behaviours of cobalt and cobalt–chromium–molybdenum alloy. **Corrosion Science**, v. 49, p. 3570–3579, 1 set. 2007.

MIAO, J. et al. Extending X-Ray Crystallography to Allow the Imaging of Noncrystalline Materials, Cells, and Single Protein Complexes. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 387–410, 2008.

MITRA, S. K.; SCHLAEPFER, D. D. Integrin-regulated FAK–Src signaling in normal and cancer cells. **Current Opinion in Cell Biology**, Cell-to-cell contact and extracellular matrix. v. 18, n. 5, p. 516–523, 1 out. 2006.

MIZUTANI, A. et al. Expression of matrix metalloproteinases during ascorbate-induced differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. **Journal of Bone and Mineral Research: The**

Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research, v. 16, n. 11, p. 2043–2049, nov. 2001.

MORALES, L. F. G.; HINRICHS, R.; FERNANDES, L. A. D. A técnica de difração de elétrons retro-espalhados (EBSD) em microscópio eletrônico de varredura (MEV) e sua aplicação no estudo de rochas deformadas. 2007.

MOREJÓN-ALONSO, L. et al. Accelerated biomimetic nanosized apatite coatings deposition on alkali treated titanium. **Journal of Materials Research**, v. 37, n. 23, p. 4200–4210, 1 dez. 2022.

MYSHKIN, N. K. et al. Surface roughness and texture analysis in microscale. **Wear**, Papers presented at the 3rd International Colloquium Micro-tribology 2001. v. 254, n. 10, p. 1001–1009, 1 jul. 2003.

NAGASE, H.; VISSE, R.; MURPHY, G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. **Cardiovascular Research**, v. 69, n. 3, p. 562–573, 15 fev. 2006.

NAKAJIMA, A. Design of hydrophobic surfaces for liquid droplet control. **NPG Asia Materials**, v. 3, n. 5, p. 49–56, maio 2011.

NASKAR, D. et al. Dual growth factor loaded nonmulberry silk fibroin/carbon nanofiber composite 3D scaffolds for in vitro and in vivo bone regeneration. **Biomaterials**, v. 136, p. 67–85, 1 ago. 2017.

NILEN, R. W. N.; RICHTER, P. W. The thermal stability of hydroxyapatite in biphasic calcium phosphate ceramics. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 4, p. 1693–1702, 1 abr. 2008.

NIU, B. et al. Preparation and characterization of HA sol–gel coating on MAO coated AZ31 alloy. **Surface and Coatings Technology**, v. 286, 1 dez. 2015.

NIU, B. et al. Preparation and characterization of HA sol–gel coating on MAO coated AZ31 alloy. **Surface and Coatings Technology**, v. 286, p. 42–48, 25 jan. 2016a.

NIU, B. et al. Preparation and characterization of HA sol–gel coating on MAO coated AZ31 alloy. **Surface and Coatings Technology**, v. 286, p. 42–48, 25 jan. 2016b.

NOVASKI, O. **Introdução à Engenharia de Fabricação Mecânica**. [s.l.] Editora Blucher, 2021.

OHTSU, N. et al. CaTiO₃ coating on titanium for biomaterial application—Optimum thickness and tissue response. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 82A, n. 2, p. 304–315, 2007a.

OHTSU, N. et al. Characterization of calcium titanate thin films deposited on titanium with reactive sputtering and pulsed laser depositions. **Surface and Coatings Technology**, v. 201, n. 18, p. 7686–7691, 25 jun. 2007b.

OHTSU, N. et al. Calcium-hydroxide slurry processing for bioactive calcium-titanate coating on titanium. **Surface and Coatings Technology**, v. 202, n. 21, p. 5110–5115, 30 jul. 2008.

OLIVEIRA, A. et al. Characterization of titanium coatings on substrate of PEEK, poly (ether-ether-ketone), applied through thermal spray process for implant applications. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, v. 34, n. 2, p. 66, 21 jun. 2015a.

OLIVEIRA, F. G. et al. Understanding growth mechanisms and tribocorrosion behaviour of porous TiO₂ anodic films containing calcium, phosphorous and magnesium. **Applied Surface Science**, v. 341, p. 1–12, 30 jun. 2015b.

OLIVEIRA, N. C. Microscopia eletrônica de varredura de campo amplo e mapeamento elementar de raios-X de fósseis do período cretáceo. 2015.

OMAR, N. F. et al. MT1-MMP expression in the odontogenic region of rat incisors undergoing interrupted eruption. **Journal of Molecular Histology**, v. 42, n. 6, p. 505–511, dez. 2011.

OOI, L. **Principles of X-ray Crystallography**. [s.l.] OUP Oxford, 2010.

OSHIDA, Y. et al. Dental Implant Systems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 4, p. 1580–1678, 12 abr. 2010.

OTHMAN, R. et al. Effect of Calcination Temperatures on Phase Transformation and Stability of β -Tricalcium Phosphate Powder Synthesized by a Wet Precipitation Method. **Solid State Phenomena**, v. 264, p. 132–135, 2017.

OUM'HAMED, Z. et al. Matrix metalloproteinases MMP-2, -9 and tissue inhibitors TIMP-1, -2 expression and secretion by primary human osteoblast cells in response to titanium, zirconia, and alumina ceramics. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 68A, n. 1, p. 114–122, 2004.

PARADELLA, T. C.; BOTTINO, M. A. Scanning Electron Microscopy in modern dentistry research. **Brazilian Dental Science**, v. 15, n. 2, p. 43–48, 31 out. 2012.

PARK, E. J. et al. Structural basis of blocking integrin activation and deactivation for anti-inflammation. **Journal of Biomedical Science**, v. 22, n. 1, p. 51, 8 jul. 2015.

PARRA, B. S. et al. Rugosidade Superficial de Revestimentos Cerâmicos. **Cerâmica Industrial**, p. 4, 2006.

PARSONS, J. T. et al. Focal Adhesion Kinase: a regulator of focal adhesion dynamics and cell movement. **Oncogene**, v. 19, n. 49, p. 5606–5613, nov. 2000.

PAWLEY, G. S. Unit-cell refinement from powder diffraction scans. **Journal of Applied Crystallography**, v. 14, n. 6, p. 357–361, 1 dez. 1981.

PIRES, A. F. Avaliação da adição da titânia aos fosfatos de cálcio nas características físicas e na resistência à compressão visando à regeneração óssea. 2023.

PONGNARISORN, N. J. et al. Inflammation associated with implants with different surface types. **Clinical Oral Implants Research**, v. 18, n. 1, p. 114–125, fev. 2007.

PYLYPCHUK, I. V. et al. Chapter 7 - Formation of biomimetic hydroxyapatite coatings on the surface of titanium and Ti-containing alloys: Ti–6Al–4V and Ti–Zr–Nb. Em: GRUMEZESCU,

A. M. (Ed.). **Surface Chemistry of Nanobiomaterials**. [s.l.] William Andrew Publishing, 2016. p. 193–229.

RAKNGARM, A.; MIYASHITA, Y.; MUTOH, Y. Formation of hydroxyapatite layer on bioactive Ti and Ti–6Al–4V by simple chemical technique. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 5, p. 1953–1961, 1 maio 2008a.

RAKNGARM, A.; MIYASHITA, Y.; MUTOH, Y. Formation of hydroxyapatite layer on bioactive Ti and Ti–6Al–4V by simple chemical technique. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 5, p. 1953–1961, 1 maio 2008b.

ROESSLER, S. et al. Biomimetic coatings functionalized with adhesion peptides for dental implants. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 12, n. 10–12, p. 871–877, 2001.

SAGHIRI, M. A. et al. Back-scattered and secondary electron images of scanning electron microscopy in dentistry: a new method for surface analysis. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 70, n. 6, p. 603–609, dez. 2012.

SALVADOR, D. G. et al. Development of Alkoxide Precursors-Based Hybrid Coatings on Ti–6Al–4V Alloy for Biomedical Applications: Influence of pH of Sol. **Journal of Materials Engineering and Performance**, v. 27, n. 6, p. 2863–2874, 1 jun. 2018.

SCHENK, R. K.; BUSER, D. Osseointegration: a reality. **Periodontology 2000**, v. 17, n. 1, p. 22–35, 1998.

SCISLOWSKA-CZARNECKA, A. et al. Ceramic modifications of porous titanium: Effects on macrophage activation. **Tissue and Cell**, v. 44, n. 6, p. 391–400, 1 dez. 2012.

SEBÉ PEDRÓS, A. Origen de la multicel·lularitat : una aproximació genòmica i funcional. 17 jan. 2011.

SEKARAN, S.; VIMALRAJ, S.; THANGAVELU, L. The Physiological and Pathological Role of Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase beyond Mineralization. **Biomolecules**, v. 11, n. 11, p. 1564, nov. 2021.

SHIBATA, Y. et al. The characteristics of in vitro biological activity of titanium surfaces anodically oxidized in chloride solutions. **Biomaterials**, v. 31, n. 33, p. 8546–8555, 1 nov. 2010.

SHIN, D. H. et al. Wettability changes of TiO₂ nanotube surfaces. **Nanotechnology**, v. 22, n. 31, p. 315704, 5 ago. 2011.

SHUBAYEV, V. I. et al. Titanium implants induce expression of matrix metalloproteinases in bone during osseointegration. **The Journal of Rehabilitation Research and Development**, v. 41, n. 6, p. 757, 2004.

SILVA, C. M. O. et al. Benefícios da condroitinase abc associada a células-tronco mesenquimais na lesão espinhal aguda em ratos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 857–872, jun. 2018.

SILVA, M. A. M. DA. **Caracterização de superfícies de titânio modificado por oxidação à plasma**. doctoralThesis—[s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 8 out. 2013.

SIMKA, W. et al. Modification of a Ti–Mo alloy surface via plasma electrolytic oxidation in a solution containing calcium and phosphorus. **Electrochimica Acta**, v. 96, p. 180–190, abr. 2013a.

SIMKA, W. et al. Anodic oxidation of zirconium in silicate solutions. **Electrochimica Acta**, v. 104, p. 518–525, 1 ago. 2013b.

SINGH, S.; SINGH, M. Explosives detection systems (EDS) for aviation security. **Signal Processing**, v. 83, n. 1, p. 31–55, 1 jan. 2003.

SONG, W. H. et al. Biomimetic apatite coatings on micro-arc oxidized titania. **Biomaterials**, v. 25, n. 17, p. 3341–3349, 2004a.

SONG, W.-H. et al. Biomimetic apatite coatings on micro-arc oxidized titania. **Biomaterials**, v. 25, n. 17, p. 3341–3349, ago. 2004b.

SONG, W.-H. et al. Biomimetic apatite coatings on micro-arc oxidized titania. **Biomaterials**, v. 25, n. 17, p. 3341–3349, 1 ago. 2004c.

SOUSA, S. J. G.; HOLANDA, J. N. F. Avaliação das propriedades físico-mecânicas de uma massa cerâmica para revestimento poroso (BIII). **Cerâmica**, v. 51, p. 70–76, mar. 2005.

SPLENDORE, A. Para que existem as regras de nomenclatura genética? **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, p. 148–152, jun. 2005.

STANISHEVSKY, A. V.; HOLLIDAY, S. Mechanical properties of sol–gel calcium titanate bioceramic coatings on titanium. **Surface and Coatings Technology**, v. 202, n. 4–7, p. 1236–1241, dez. 2007.

STETLER-STEVENSON, W. G. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Cell Signaling: Metalloproteinase-Independent Biological Activities. **Science Signaling**, v. 1, n. 27, p. re6–re6, 8 jul. 2008.

SULTANA, R.; YANG, J.; HU, X. Deposition of Micro-Porous Hydroxyapatite/Tri-Calcium Phosphate Coating on Zirconia-Based Substrate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 95, n. 4, p. 1212–1215, 2012.

SUN, J.; HAN, Y.; CUI, K. Innovative fabrication of porous titanium coating on titanium by cold spraying and vacuum sintering. **Materials Letters**, v. 62, n. 21, p. 3623–3625, 15 ago. 2008.

TAKAHASHI, K.; FUKUZAKI, S. Cleanability of Titanium and Stainless Steel Particles in Relation to Surface Charge Aspects. **Biocontrol Science**, v. 13, n. 1, p. 9–16, 2008.

TAN, W. L.; MCNEILL, C. R. X-ray diffraction of photovoltaic perovskites: Principles and applications. **Applied Physics Reviews**, v. 9, n. 2, p. 021310, 25 maio 2022.

TANG, H. et al. Fabrication of hydroxyapatite coatings on AZ31 Mg alloy by micro-arc oxidation coupled with sol–gel treatment. **RSC Advances**, v. 8, n. 22, p. 12368–12375, 2018.

TU, Q. et al. Haploinsufficiency of Runx2 results in bone formation decrease and different BSP expression pattern changes in two transgenic mouse models. **Journal of Cellular Physiology**, v. 217, n. 1, p. 40–47, 2008.

VALLET-REGÍ, M.; GONZÁLEZ-CALBET, J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 1–31, 1 jan. 2004.

VISSE, R.; NAGASE, H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases. **Circulation Research**, v. 92, n. 8, p. 827–839, 2 maio 2003.

WANG, C. K.; JU, C. P.; CHERN LIN, J. H. Effect of doped bioactive glass on structure and properties of sintered hydroxyapatite. **Materials Chemistry and Physics**, v. 53, n. 2, p. 138–149, 1 maio 1998.

WANG, G. et al. Corrosion Behavior of Titanium Implant with different Surface Morphologies. **Procedia Manufacturing**, 45th SME North American Manufacturing Research Conference, NAMRC 45, LA, USA. v. 10, p. 363–370, 1 jan. 2017.

WEI, D. et al. Structure of calcium titanate/titania bioceramic composite coatings on titanium alloy and apatite deposition on their surfaces in a simulated body fluid. **Surface and Coatings Technology**, EUROMAT 2005. v. 201, n. 21, p. 8715–8722, 25 ago. 2007.

WHEELER, J. M. et al. Evaluation of micromechanical behaviour of plasma electrolytic oxidation (PEO) coatings on Ti–6Al–4V. **Surface and Coatings Technology**, v. 204, n. 21, p. 3399–3409, 15 ago. 2010.

YU, Y. et al. Osteogenesis potential of different titania nanotubes in oxidative stress microenvironment. **Biomaterials**, v. 167, p. 44–57, 1 jun. 2018.

ZHANG, H. et al. Direct growth of hierarchically structured titanate nanotube filtration membrane for removal of waterborne pathogens. **Journal of Membrane Science**, v. 343, n. 1–2, p. 212–218, 2009.

ZHANG, X. et al. The dependence of persistent phosphorescence on annealing temperatures in CaTiO₃:Pr³⁺ nanoparticles prepared by a coprecipitation technique. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 181, n. 3, p. 393–398, 1 mar. 2008.

ZHANG, X. et al. Cell-free 3D scaffold with two-stage delivery of miRNA-26a to regenerate critical-sized bone defects. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 10376, 14 jan. 2016.

ZHOU, P.; AKAO, M. Preparation and characterization of double layered coating composed of hydroxyapatite and perovskite by thermal decomposition. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 7, n. 1, p. 67–81, 1 jan. 1997.

ZHU, X. et al. Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. **Biomaterials**, v. 25, n. 18, p. 4087–4103, 1 ago. 2004.

ZHU, X.; KIM, K.-H.; JEONG, Y. Anodic oxide films containing Ca and P of titanium biomaterial. **Biomaterials**, v. 22, n. 16, p. 2199–2206, 15 ago. 2001.

ZINGER, O. et al. Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography. **Biomaterials**, v. 25, n. 14, p. 2695–2711, 1 jun. 2004.

ZIROS, P. G.; BASDRA, E. K.; PAPAVASSILIOU, A. G. Runx2: of bone and stretch. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 40, n. 9, p. 1659–1663, 2008.