

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 29/02/2026.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Programa de Pós-graduação em Ciências

Área de concentração em Biomateriais

Linha de Pesquisa: Bioprodutos, biomateriais e nanobiomateriais: propriedades físicas, químicas, biológicas e antimicrobianas

RODRIGO CAPALBO DA SILVA

**ESTUDO COMPARATIVO DA MODIFICAÇÃO DE
SUPERFÍCIES DE TITÂNIO NA OSSEOINTEGRAÇÃO
DE IMPLANTES DENTÁRIOS EM TÍBIA DE COELHOS**

Orientador: Professor Associado Dr. Fellippo Ramos Verri

Coorientadora: Professora Associada Dra. Ana Paula Farnezi Bassi

Coorientadora: Professora Associada Dra. Ana Paula Ramos

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Programa de Pós-graduação em Ciências
Área de concentração em Biomateriais
Linha de Pesquisa: Bioprodutos, biomateriais e nanobiomateriais: propriedades físicas,
químicas, biológicas e antimicrobianas

RODRIGO CAPALBO DA SILVA

ESTUDO COMPARATIVO DA MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS EM TÍBIA DE COELHOS

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia do Campus de Araçatuba –
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”- UNESP, para obtenção
do Título de DOUTOR EM CIÊNCIAS
(Área de concentração em Biomateriais)

Orientador: Professor Associado Dr. Fellippo Ramos Verri
Coorientadora: Professora Associada Dra. Ana Paula Farnezi Bassi
Coorientadora: Professora Associada Dra. Ana Paula Ramos

Araçatuba – SP
2024

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586e	<p>Silva, Rodrigo Capalbo da. Estudo comparativo da modificação de superfícies de titânio na osseointegração de implantes dentários em tíbia de coelhos / Rodrigo Capalbo da Silva. – Araçatuba, 2024 43 f. : il. ; tab.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba Orientador: Prof. Fellippo Ramos Verri Coorientadora: Profa. Ana Paula Farnezi Bassi Coorientadora: Profa. Ana Paula Ramos</p> <p>1. Implantes dentários 2. Propriedades de superfície 3. Osseointegração I. T.</p> <p style="text-align: right;">Black D15 CDD 617.695</p>
-------	--

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico este trabalho com muito amor e carinho, à minha família, meu alicerce em tudo o que faço. O apoio de vocês foi fundamental para percorrer este caminho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, com sua infinita bondade permitiu que, durante esses anos, obstáculos na vida pessoal e profissional fossem vencidos, me capacitando, dando forças e discernimento para que continuasse. Obrigado por tudo o que o Senhor preparou para mim.

Aos **meus pais Jorge e Érica**, que mais do que eu, batalharam por essa conquista e fizeram de tudo para permitir que eu corresse atrás dos meus sonhos. Obrigado por todo o suporte, por nos momentos mais difíceis não me deixarem cair e ajudar na minha formação. Hoje se tenho uma profissão digna, foi porque vocês lutaram por isso. Vocês são a maior referência e exemplo que tenho como pessoas, tudo o que fiz e faço é por vocês. Amo vocês mais que tudo!

Ao **meu irmão Rafael**, meu exemplo de força. Tudo o que passamos nos últimos meses foi para nos fortalecer e nos aproximar. Você é meu companheiro e meu melhor amigo. Obrigado por todos os momentos que vivemos juntos, e vamos viver muito ainda sempre apoiando e fortalecendo um ao outro. Sempre estarei ao seu lado batalhando para que você seja muito feliz.

Aos **meus familiares**, por todo apoio que sempre deram a mim e minha família. Sou grato por saber que tenho uma família unida, que se faz tão presente. Obrigado por todo incentivo e por acreditarem nos meus sonhos.

A **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, no nome do diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem, que tanto faz pela população e alunos de graduação e pós-graduação que passam por esta instituição. Foram 12 anos nesta instituição na qual me orgulho muito de ter realizado a minha formação e maiores conquistas profissionais. Vivi momentos nos quais sempre carregarei comigo, fiz grandes amigos, e fui muito feliz.

Ao meu professor e orientador **Professor Doutor Fellippo Ramos Verri**, que foi fundamental para a minha formação, e é uma referência de profissional e pessoa para mim. Sou muito grato por todo conhecimento compartilhado, por sempre se mostrar disponível, por ter me guiado nos caminhos da Implantodontia por muitos anos, desde o curso de Aperfeiçoamento em 2016. Agradeço aos anos de amizade e trabalho que tivemos juntos.

Ao **Professor Doutor Eduardo Piza Pellizzer**, pelo período de convivência durante os últimos anos nos cursos, na faculdade e churrascos. O senhor é um exemplo

como ser humano para mim, que sempre mostrou um cuidado muito grande por quem está ao seu lado. Foi uma honra trabalhar ao seu lado e fico muito feliz pela disponibilidade por compor a banca deste momento tão importante.

A **Professora Doutora Aimee Maria Guiotti**, por todo o conhecimento compartilhado durante os anos, principalmente durante o período que fui aluno do Núcleo de ATM da faculdade. Sou muito grato de poder ter sido seu aluno. Agradeço a disponibilidade em compor a banca da minha defesa de tese.

Ao **Professor Doutor André Luis da Silva Fabris**, pela amizade e por muitas vezes ter me guiado no caminho da Cirurgia. Admiro a capacidade que o senhor tem de incentivar os alunos e se mostrar tão acessível. Agradeço a disponibilidade em compor a banca da minha defesa de tese.

Ao **Professor Doutor Cleidiel Araujo Lemos**, um exemplo de profissional para qualquer pós-graduando. Acompanhar o seu crescimento e as coisas que conquistou realmente nos deixa muito felizes e orgulhosos. Obrigado pelos momentos de companheirismo. É uma grande felicidade tê-lo compondo a minha banca de tese.

As minhas coorientadoras **Professora Doutora Ana Paula Ramos e Professora Doutora Ana Paula Farnezi Bassi** por serem fundamentais para realização deste trabalho.

Aos **animais que participaram desta pesquisa (*in memoriam*)**, por terem contribuído com suas vidas para o desenvolvimento da ciência.

Ao Professor Doutor Francisley Ávila Souza, pelos anos de trabalho juntos durante o período de Graduação e Mestrado, pela colaboração neste projeto, e principalmente pela amizade. Sou eternamente grato de poder ter convivido com o senhor, aprendido muito profissionalmente e como pessoa. O senhor foi a primeira pessoa a acreditar em mim, e ter me dado oportunidades. Minha eterna gratidão.

A **Hiskell Francine Fernandes e Oliveira**, por todo o companheirismo durante o desenvolvimento deste trabalho. Sua orientação, empenho e trabalho foram essenciais para que este projeto fosse executado. Você é um exemplo como pessoa e profissional. Tenho certeza de que se tornará referência em sua área. Sou muito grato por tudo o que fez por mim, por ter me incentivado em todas as etapas e ter me ensinado muito. Minha eterna gratidão.

Aos meus amigos da pós-graduação, **João Pedro Limirio, Bruno Coelho, Lais Kawamata, Ana Carla Gonçales, Ricardo Fantasia** por se mostrarem presentes em todos os momentos. A amizade de cada um de vocês foi muito importante para que esse

período se tornasse mais leve e prazeroso. Sem você este projeto não teria sido executado.

Ao meu amigo **Henrique Hadad**, meu grande amigo e que considero um irmão. Com certeza um dos maiores presentes que a pós-graduação me deu. Me orgulho de cada conquista sua, mais do que merecida. Desde o início da nossa amizade sabia que seu futuro seria grande, e te ver crescendo cada vez mais é um grande motivo de alegria. Obrigado por estar ao meu lado em todos os momentos, felizes ou de desafios. Saiba que sempre terá alguém aqui para contar.

Aos meus amigos **Marcel Eguchi, Ana Daniela Spínola, Yasmin Bantim, Carlos Umberto, Wellington Tonon, Stéfani Ferrioli, Douglas Prado, Diane Nunes, Samea Paiva, Driell Bernardi, Renato Rodrigues, Felipe Celoni, Gabriel Ávila** por serem amigos tão fiéis e não soltarem minha mão em nenhum momento. Vocês me ensinam a ser uma pessoa melhor diariamente. Obrigado por se fazerem tão presente, por proporcionarem momentos tão felizes ao seu lado. Sou muito grato por tê-los em minha vida.

A minha namorada **Ana Maira Pereira Baggio**, por diariamente me mostrar o verdadeiro significado de amor e cuidado. Por ter me apoiado no momento mais difícil da minha vida, e por trazer leveza em meio ao caos. Você me incentiva a ser melhor diariamente com os seus gestos. Admiro sua resiliência e a forma de enxergar a vida. Eu te amo.

Aos **funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese**, sempre muito solícitos.

A **todos os professores que passaram pela minha vida**, ajudando a construir a minha história e grande parte de quem sou. Obrigado por acreditarem na educação, por cada palavra compartilhada dentro da sala de aula carregada de sentimentos e experiência, por mudarem a vida de um eterno aprendiz.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências**, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” com o atual Coordenador **Prof. Associado Juliano Pelim Pessan**, por permitir o meu desenvolvimento clínico e científico com a toda sua estrutura.

Aos **funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP** pela disponibilidade, paciência e gentileza em todas as etapas dos últimos 6 anos. Agradeço o trabalho e convivência com todos.

Aos **funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba** – UNESP pela prontidão em nos atender.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da Bolsa de Doutorado durante alguns anos do curso. Agradeço por promover o apoio financeiro que me permitiu a realização deste trabalho.

Ao **Laboratório de Físico-Química de Superfícies e Colóides (DQ/FFCLRP-USP)**, os **pós-graduandos Marcos Cruz e Lucas sob supervisão da Profa. Ana Paula Ramos**, pelo desenvolvimento do tratamento de superfície e análises in vitro deste projeto.

Ao **Laboratório de Nanobiotecnologia Aplicada: Sistemas miméticos de biomembranas sob supervisão Prof. Tit. Pietro Ciancaglini (DQ- FFCLRP/USP)**, pelo auxílio de desenvolvimento neste trabalho.

Aos **pacientes que já atendi**, pela relação de confiança estabelecida, permitindo que de alguma forma pudesse contribuir para a sua saúde.

Aos **meus alunos**, por confiarem em mim e em meu trabalho. Compartilhar conhecimento com vocês é muito prazeroso, e um desafio pela responsabilidade de formar um profissional. Aprendo muito com vocês. Muito obrigado por tudo.

“O compartilhamento é um ingrediente fundamental para uma vida feliz.”

Clóvis de Barros Filho

RESUMO

ESTUDO COMPARATIVO DA MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO NA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DENTÁRIOS EM TÍBIA DE COELHOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos físico-químicos, biomecânicos e biológicos da osseointegração de implantes com superfícies de jateamento seguida do ataque ácido disponível comercialmente (SLA), superfícies modificadas por recobrimento com hidroxiapatita isolada (HA), com hidroxiapatita com adição de magnésio (MG) e com hidroxiapatita e adição de zinco (ZN) nos períodos de 2 e 4 semanas. Na análise *in vitro*, houve diferença na característica topográfica de todos os grupos experimentais. No grupo SLA, foi possível observar um maior ângulo de contato quando comparado as outras superfícies. As superfícies experimentais mostraram-se viáveis para o crescimento de células osteoblásticas. Para análise *in vivo*, 24 coelhos receberam 96 implantes cone morse de 3,5x10mm na porção medial das tíbias direita e esquerda, sendo dois implantes de cada superfície em cada tibia. Nos períodos de 2 e 4 semanas os animais foram anestesiados e medidos o coeficiente de estabilidade e torque remoção no implante localizado mais proximal à articulação tíbio-femural. Em 4 semanas, os valores de ISQ do grupo ZN ($81 \pm 2,45$) foram estatisticamente superiores em relação ao grupo controle SLA ($68,33 \pm 10,69$). No período de 2 semanas, os valores médios de torque de remoção dos grupos HA ($50 \pm 4,62$) e ZN ($53 \pm 5,97$) foram superiores ao grupo controle SLA ($33 \pm 6,53$). No período de 4 semanas, os valores de torque do grupo ZN ($58,5 \pm 12,22$) foram superiores a SLA ($34 \pm 7,82$). A porcentagem do volume ósseo dos grupos MG ($24,6 \pm 3,82$) foi superior aos grupos SLA ($41,89 \pm 0,29$) e HA ($39,76 \pm 1,32$), no período de 2 semanas, e ZN ($16,76 \pm 0$) foi maior que SLA. A superfície óssea foi estatisticamente superior nos grupos MG ($427,5 \pm 48,35$) e ZN ($404,01 \pm 67,89$) em relação ao grupo HA ($674,52 \pm 18,80$). O número de trabéculas do grupo SLA ($5,34 \pm 0,08$) foi maior em comparação ao grupo ZN ($3,69 \pm 0,69$) em 2 semanas, no mesmo período grupo HA ($6,79 \pm 0,27$) também foi inferior em relação aos grupos MG ($4,02 \pm 0,33$) e ZN. As superfícies modificadas com recobrimento de hidroxiapatita isolada, e sua associação com íons de Mg^{2+} e Zn^{2+} se mostraram favoráveis para a osseointegração.

Palavras-chave: Implantes dentários; Propriedades de superfície; Osseointegração

ABSTRACT

COMPARATIVE STUDY OF TITANIUM SURFACES MODIFICATION IN OSSEOINTEGRATION OF DENTAL IMPLANTS IN RABBITS TIBIA

The aim of this study was to evaluate physicochemical, biomechanical and biological aspects of the osseointegration of implants with blast surfaces followed by commercially available acid etching (SLA), surfaces modified by coating with isolated hydroxyapatite (HA), coating with hydroxyapatite with addition of magnesium (MG) and covered with hydroxyapatite and addition of zinc (ZN) in periods of 2 and 4 weeks. In in vitro analysis, there was a difference in the topographic characteristics of all experimental groups. In the SLA group, it was possible to observe a greater contact angle when compared to other surfaces, indicating lower wettability. The experimental surfaces proved to be viable for the growth of osteoblastic cells. For in vivo analysis, 24 rabbits received 96 3.5x10mm morse taper implants in the medial portion of the right and left tibias, with two implants on each surface in each tibia. In periods of 2 and 4 weeks, the animals were anesthetized and the removal torque and stability coefficient on the proximal implant to the tibiofemoral joint were measured. Microtomographic analysis was performed on implants located distal to the tibiofemoral joint. At 4 weeks, the ISQ values of the ZN group (81 ± 2.45) were statistically higher compared to the SLA control group (68.33 ± 10.69). Over the 2-week period, the mean removal torque values of the HA (50 ± 4.62) and ZN (53 ± 5.97) groups were higher than the SLA control group (33 ± 6.53). In the 4-week period, the torque values of the ZN (58.5 ± 12.22) group were higher than SLA (34 ± 7.82). The percentage of bone volume in the MG group (24.6 ± 3.82) was higher than the SLA (41.89 ± 0.29) and HA (39.76 ± 1.32) groups, in the 2-week period, and ZN (16.76 ± 0) was higher than SLA. The bone surface was statistically higher in the MG (427.5 ± 48.35) and ZN (404.01 ± 67.89) groups compared to the HA group (674.52 ± 18.80). The number of trabeculae in the SLA group (5.34 ± 0.08) was higher compared to the ZN (3.69 ± 0.69) group in 2 weeks, in the same period the HA group (6.79 ± 0.27) was also lower in relation to the MG (4.02 ± 0.33) and ZN groups. Surfaces modified with isolated hydroxyapatite coating, and their association with Mg^{2+} and Zn^{2+} ions, proved to be favorable for osseointegration.

Key words: Dental implants; Surface properties; Osseointegration

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Procedimento cirúrgico experimental. a. Retalho mucoperiosteal; b. Perfuração óssea; c. Instalação de implantes; d. Implantes instalados em tíbias; e, f. Sutura por planos.

Figura 2. Procedimento cirúrgico experimental para análise biomecânica. a. Exposição dos implantes; b. Smart peg em posição para valores de ISQ; c. Valor do ISQ no Ostell; d. Remoção do implante utilizando chave de instalação acoplada ao torquímetro; e. Valor do torque de remoção; f. Implante removido por contra torque.

Figura 3. Análise de MEV a. Superfície SLA x3.000; b. Superfície SLA x10.000; c. Superfície HA x3.000; d. Superfície HA x10.000; e. Superfície MG x3.000; f. Superfície MG x10.000; g. Superfície ZN x3.000; h. Superfície ZN x10.000.

Figura 4. Teste de molhabilidade avaliando ângulo de contato. a. Grupo SLA; b. Grupo HA; c. Grupo MG; d. Grupo ZN

Figura 5. Viabilidade celular nos períodos de 7 e 14 dias.

Figura 6. Análise biomecânica. a. Frequência de ressonância; b. Torque de remoção.

Figura 7. Imagens de micro-TC tridimensionais reconstruídas. a. Grupo SLA; b. Grupo HA; c. Grupo MG; d. Grupo ZN.

Figura 8. Parâmetros morfométricos. a. Volume ósseo; b. Porcentagem de Volume Ósseo; c. Superfície óssea; d. Número trabecular; e. Espessura trabecular; f. Separação trabecular obtida a partir de imagens de micro-TC reconstruídas tridimensionais em 2 e 4 semanas. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa ($P < 0,5$).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Delineamento experimental. Distribuição dos grupos experimentais quanto ao número de animais, número de implantes e discos em cada período de avaliação.

Tabela 2. Angulo de contato com três líquidos de polaridades distintas.

Tabela 3. Energia livre total, dispersão e polaridade das superfícies.

SUMÁRIO

Introdução.....	15
Objetivo	17
Materiais e Métodos	17
Resultados	27
Discussão	33
Conclusão	36
Referências	37
Anexos	42

REFERÊNCIAS

1. Park JC, Baek WS, Choi SH, Cho KS, Jung UW. Long-term outcomes of dental implants placed in elderly patients: a retrospective clinical and radiographic analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2017;28(2):186-191. doi:10.1111/clr.12780
2. Brånemark PI, Adell R, Albrektsson T, Lekholm U, Lindström J, Rockler B. An experimental and clinical study of osseointegrated implants penetrating the nasal cavity and maxillary sinus. *J Oral Maxillofac Surg.* 1984;42(8):497-505. doi:10.1016/0278-2391(84)90008-9
3. Albrektsson T, Eriksson AR, Jacobsson M, Kälebo P, Strid KG, Tjellström A. Bone repair in implant models: a review with emphasis on the harvest chamber for bone regeneration studies. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1989;4(1):45-54.
4. Elias CN, Oshida Y, Lima JH, Muller CA. Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008;1(3):234-242. doi:10.1016/j.jmbbm.2007.12.002
5. Rosales-Leal J.I., Rodríguez-Valverde M.A., Mazzaglia G., Ramón-Torregrosa P.J., Díaz-Rodríguez L., García-Martínez O., et al. Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* 2010;365(1–3):222–9
6. Coelho PG, Suzuki M, Marin C, et al. Osseointegration of Plateau Root Form Implants: Unique Healing Pathway Leading to Haversian-Like Long-Term Morphology. *Adv Exp Med Biol.* 2015;881:111-128. doi:10.1007/978-3-319-22345-2_7
7. Verardi S, Swoboda J, Rebaudi F, Rebaudi A. Osteointegration of Tissue-Level Implants With Very Low Insertion Torque in Soft Bone: A Clinical Study on SLA Surface Treatment. *Implant Dent.* 2018;27(1):5-9. doi:10.1097/ID.0000000000000714
8. Velasco-Ortega E, Jimenez-Guerra A, Monsalve-Guil L, et al. Long-Term Clinical Outcomes of Treatment with Dental Implants with Acid Etched Surface. *Materials (Basel).* 2020;13(7):1553. Published 2020 Mar 27. doi:10.3390/ma13071553
9. Łukaszewska-Kuska M, Krawczyk P, Martyła A, Hędzerek W, Dorocka-Bobkowska B. Hydroxyapatite coating on titanium endosseous implants for

- improved osseointegration: Physical and chemical considerations. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(8):1055-1059. doi:10.17219/acem/69084
10. Surmenev RA, Ryabtseva MA, Shesterikov EV, Pichugin VF, Peitsch T, Epple M. The release of nickel from nickel-titanium (NiTi) is strongly reduced by a sub-micrometer thin layer of calcium phosphate deposited by rf-magnetron sputtering. *J Mater Sci Mater Med.* 2010;21(4):1233-1239. doi:10.1007/s10856-010-3989-5
 11. Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res.* 1990;24(6):721-734. doi:10.1002/jbm.820240607
 12. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials.* 2006;27(15):2907-2915. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017
 13. Cruz, Marcos Antônio E., and Ana P. Ramos. Bioactive CaCO₃/poly (acrylic acid)/chitosan hybrid coatings deposited on titanium. *Surface and Coatings Technology.* 2016; 294: 145-152.
 14. Queiroz TP, de Molon RS, Souza FÁ, et al. In vivo evaluation of cp Ti implants with modified surfaces by laser beam with and without hydroxyapatite chemical deposition and without and with thermal treatment: topographic characterization and histomorphometric analysis in rabbits. *Clin Oral Investig.* 2017;21(2):685-699. doi:10.1007/s00784-016-1936-7
 15. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr Rev.* 1994;15(4):439-461. doi:10.1210/edrv-15-4-439
 16. Leem YH, Lee KS, Kim JH, Seok HK, Chang JS, Lee DH. Magnesium ions facilitate integrin alpha 2- and alpha 3-mediated proliferation and enhance alkaline phosphatase expression and activity in hBMSCs. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(10):E527-E536. doi:10.1002/term.1861
 17. Liu YJ, Su WT, Chen PH. Magnesium and zinc borate enhance osteoblastic differentiation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth in vitro. *J Biomater Appl.* 2018;32(6):765-774. doi:10.1177/0885328217740730
 18. Yamaguchi M, Yamaguchi R. Action of zinc on bone metabolism in rats. Increases in alkaline phosphatase activity and DNA content. *Biochem Pharmacol.* 1986;35(5):773-777. doi:10.1016/0006-2952(86)90245-5

19. Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A, Mills BG. Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse. *Calcif Tissue Int.* 2003;72(1):32-41. doi:10.1007/s00223-001-1091-1
20. Staiger MP, Pietak AM, Huadmai J, Dias G. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review. *Biomaterials.* 2006;27(9):1728-1734. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.10.003
21. Zhang X, Chen Q, Mao X. Magnesium Enhances Osteogenesis of BMSCs by Tuning Osteoimmunomodulation. *Biomed Res Int.* 2019;2019:7908205. Published 2019 Nov 14. doi:10.1155/2019/7908205
22. Maier JA, Bernardini D, Rayssiguier Y, Mazur A. High concentrations of magnesium modulate vascular endothelial cell behaviour in vitro. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1689(1):6-12. doi:10.1016/j.bbadis.2004.02.004
23. Salgueiro MJ, Zubillaga MB, Lysionek AE, Caro RA, Weill R, Boccio JR. The role of zinc in the growth and development of children. *Nutrition.* 2002;18(6):510-519. doi:10.1016/s0899-9007(01)00812-7
24. Brandão-Neto J, Stefan V, Mendonça BB, Bloise W, Castro AV. The essential role of zinc in growth. *Nutr Res,* 1995; 15:335.
25. Abdulkareem EH, Memarzadeh K, Allaker RP, Huang J, Pratten J, Spratt D. Anti-biofilm activity of zinc oxide and hydroxyapatite nanoparticles as dental implant coating materials. *J Dent.* 2015;43(12):1462-1469. doi:10.1016/j.jdent.2015.10.010
26. Yu J, Xu L, Li K, et al. Zinc-modified Calcium Silicate Coatings Promote Osteogenic Differentiation through TGF- β /Smad Pathway and Osseointegration in Osteopenic Rabbits. *Sci Rep.* 2017;7(1):3440. Published 2017 Jun 13. doi:10.1038/s41598-017-03661-5
27. de Souza ID, Cruz MA, de Faria AN, Zancanela DC, Simao AM, P. Ciancaglini P, Ramos AP. Formation of carbonated hydroxyapatite films on metallic surfaces using dihexadecyl phosphate-LB film as template. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2014;118:31-40.
28. Owens DK & Wendt RC. Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl. Polym. Sci.* 1969; 13: 1741–1747.
29. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2020;18(7):e3000410. Published 2020 Jul 14. doi:10.1371/journal.pbio.3000410

30. Queiroz TP, Souza FÁ, Guastaldi AC, Margonar R, Garcia-Júnior IR, Hochuli-Vieira E. Commercially pure titanium implants with surfaces modified by laser beam with and without chemical deposition of apatite. Biomechanical and topographical analysis in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(8):896-903. doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02471.x
31. Freitas GP, Lopes HB, Martins-Neto EC, de Oliveira PT, Beloti MM, Rosa AL. Effect of Surface Nanotopography on Bone Response to Titanium Implant. *J Oral Implantol.* 2016;42(3):240-247. doi:10.1563/aaid-joi-D-14-00254
32. Dutta S, Sengupta P. Rabbits and men: relating their ages. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2018;29(5):427-435. doi:10.1515/jbcpp-2018-0002
33. Olivares-Navarrete R, Raz P, Zhao G, et al. Integrin alpha2beta1 plays a critical role in osteoblast response to micron-scale surface structure and surface energy of titanium substrates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(41):15767-15772. doi:10.1073/pnas.0805420105
34. Clark AE, Hench LL, Paschall HA. The influence of surface chemistry on implant interface histology: a theoretical basis for implant materials selection. *J Biomed Mater Res.* 1976;10(2):161-174. doi:10.1002/jbm.820100202
35. Gehrke SA, Maté Sánchez de Val JE, Fernández Domínguez M, de Aza Moya PN, Gómez Moreno G, Calvo Guirado JL. Effects on the osseointegration of titanium implants incorporating calcium-magnesium: a resonance frequency and histomorphometric analysis in rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res.* 2018;29(7):785-791. doi:10.1111/clr.12909
36. Galli S, Naito Y, Karlsson J, et al. Local release of magnesium from mesoporous TiO₂ coatings stimulates the peri-implant expression of osteogenic markers and improves osteoconductivity in vivo. *Acta Biomater.* 2014;10(12):5193-5201. doi:10.1016/j.actbio.2014.08.011
37. Janning C, Willbold E, Vogt C, et al. Magnesium hydroxide temporarily enhancing osteoblast activity and decreasing the osteoclast number in peri-implant bone remodelling. *Acta Biomater.* 2010;6(5):1861-1868. doi:10.1016/j.actbio.2009.12.037
38. Suruagy AA, Alves AT, Sartoretto SC, Calasans-Maia JA, Granjeiro JM, Calasans-Maia MD. Physico-chemical and Histomorphometric Evaluation of Zinc-containing Hydroxyapatite in Rabbits Calvaria. *Braz Dent J.* 2016;27(6):717-726. doi:10.1590/0103-6440201601028