

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio dopados com cobalto:

Potencial biomimético para regeneração óssea

GERSON SANTOS DE ALMEIDA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular, Estrutural e Funcional (BCEF)

Orientador: *Prof. Dr. Willian Fernando Zambuzzi*

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio dopados com cobalto:

Potencial biomimético para regeneração óssea

GERSON SANTOS DE ALMEIDA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional (BCEF)

Orientador: *Prof. Dr. Willian Fernando Zambuzzi*

**BOTUCATU – SP
2024**

A447s

Almeida, Gerson Santos de

Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio dopados com cobalto: Potencial biomimético para regeneração óssea / Gerson Santos de Almeida. -- Botucatu, 2024

226 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Willian Fernando Zambuzzi

Coorientador: Margarida Juri Saeki

1. Monetita Dopada com Cobalto. 2. Biomimético. 3. Regeneração Óssea. 4. Biomaterial. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio dopados com cobalto: Potencial biomimético para regeneração óssea

AUTOR: GERSON SANTOS DE ALMEIDA

ORIENTADOR: WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI

COORIENTADOR: PAULO NORONHA LISBOA FILHO

COORIENTADORA: MARGARIDA JURI SAEKI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Biologia Geral e Aplicada, área: Biologia Celular Estrutural e Funcional pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI (Participação Presencial)
Departamento de Ciências Químicas e Bioquímicas / Instituto de Biociências de Botucatu Unesp

Profa. Dra. CARLA DOS SANTOS RICCARDI (Participação Presencial)
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agrômicas UNESP

Prof. Dr. RODRIGO CARDOSO DE OLIVEIRA (Participação Presencial)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Odontologia de Bauru - USP

Prof. Dr. VLADIMIR ELIODORO COSTA (Participação Presencial)
Departamento de Biofísica e Farmacologia / Instituto de Biociências de Botucatu Unesp

Profa. Dra. CARMEN VERÍSSIMA FERREIRA HALDER (Participação Presencial)
Departamento de Bioquímica e Biologia Tecidual / Universidade Estadual de Campinas

Botucatu, 23 de fevereiro de 2024

Maria Victória Ramalho da Cunha
Assistente Administrativo II da Seção Técnica de Pós-Graduação
Instituto de Biociências de Botucatu

Instituto de Biociências - Câmpus de Botucatu -
Rua Doutor Antonio Celso Wagner Zanin, s/nº, 13618-889
<http://www.ibb.unesp.br/pos-graduacao/biologia-geral-e-aplicada/CNPJ: 48031915002259>

Dedicatória

A minha filha Catarina e minha esposa Ana Carolina

Agradecimentos

Agradeço a minha esposa Ana Carolina por estar sempre ao meu lado, por ser meu porto seguro, por todo o amor, confiança e respeito, obrigado por ser meu sol. Não tenho palavras para demonstrar minha gratidão, eu jamais poderia imaginar o quanto minha vida mudaria e o quanto eu sou feliz desde o momento que te conheci.

Agradeço a minha filha Catarina, você iluminou tudo desde o momento que soubemos da sua vinda, obrigado por ser minha inspiração diária.

Agradeço a minha família por me fornecerem a oportunidade de estudar, por tudo que fazem por mim, por todos os sacrifícios, por todas as lutas e por todo o apoio.

Agradeço a minha segunda família por me receberem e pelo enorme carinho, agradeço aos meus sogros Sandro e Marli e a minha cunhada e amiga Gabriela. Vocês são essenciais em minha vida.

Agradeço ao meu orientador Professor Willian por ter me aceito como seu aluno e por não medir esforços para ajudar não só aos que conhece, mas a todos aos que recorrem a ele. Agradeço seus conselhos, por ser um exemplo de profissional e por sempre tentar extrair o melhor de nós. Obrigado pela oportunidade e por sempre acreditar em nosso potencial, tornando-se um amigo além de orientador.

Agradeço aos meus amigos de laboratório por toda a ajuda, troca de experiências e por terem me acolhido, em especial ao Célio, Geórgia, Marcel e Thais, sem vocês esse trabalho não seria possível.

Agradeço a Professora Margarida pelo auxílio durante meu mestrado e doutorado. Sua disposição em sempre ajudar, suas dicas e por abrir as portas de seu laboratório, sua colaboração foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento como cientista.

Agradeço ao Professor Paulo Noronha por toda ajuda durante o doutorado, por sua coorientação e por todas as análises e colaboração na caracterização dos materiais, e por todo o empenho em me ajudar no CapesPrInt.

Agradeço ao Professor Vladimir por estar sempre com suas mãos estendidas e disposto a ajudar a todos, por sua empatia e por sua vontade de ensinar.

Agradeço ao Professor Diego pelas análises de DRX e toda colaboração no projeto, sua ajuda foi muito importante.

Agradeço a Professora Elidiane e Professor Nilson, e aos alunos Gabrielly e João pela disposição nas análises de MEV, pela parceria e toda a disposição em ajudar.

Agradeço ao Professor Gustavo por toda a ajuda na síntese de materiais e por ceder seu laboratório sempre que precisamos.

Agradeço ao Professor Rodrigo Cardoso, por todas as reuniões, por ter se disponibilizado a ensinar as técnicas cirúrgicas, e por tudo que nos ajudou nesse trabalho.

Agradeço as alunas Luísa, Julia M, Paula, Júlia B e Maria Gabriela, obrigado pela confiança em tentar coorientá-las durante esse período e por todo o auxílio que me deram, pude aprender muito com vocês.

Agradeço ao Dr. Alaor Almeida por ter sido a primeira pessoa a me proporcionar uma oportunidade na universidade, com o projeto de extensão pude crescer e aprender muito.

Agradeço ao Orisson e Nicolas por toda a parceria durante o intercambio, por toda a ajuda e amizade durante essa experiência.

Agradeço ao Ariel Colaço e Vinicius Fidelis por toda a sua ajuda durante meu tempo em Quebec e no LBB, obrigado por sua amizade, por suas dicas e toda a colaboração.

Agradeço a todos os meus amigos e amigas que estiveram e estão ao meu lado nessa caminhada.

Agradeço ao Prof. Diego Mantovani, pela oportunidade de estar em seu laboratório e proporcionar a experiência de conhecer outra cultura e diferentes técnicas, pude crescer e aprender muito durante meu tempo em sua equipe.

Agradeço a Dra. Pascale, pela supervisão e direcionamento durante meu estágio.

Agradeço a Professora Carla Riccardi, Professor Luís Justulin, e Prof. Carlos Grandini por terem feito parte da minha banca de qualificação, por todas as considerações, discussões e dicas, suas colaborações foram essências para melhorar o trabalho.

Agradeço aos membros da banca de defesa do doutorado pela avaliação, correção, discussões e toda a colaboração para que este trabalho fosse aprimorado, agradeço a Professora Carmem Halder, Professora Carla Riccardi, Professor Rodrigo Cardoso e Professor Vladimir Eliodoro.

Agradeço a equipe da Pós-graduação por sua disposição em sanar as dúvidas e colaborar no que for possível.

Agradeço aos meus amigos de longa data, por mais que nossos encontros sejam raros, carregue vocês comigo, obrigado por existirem, Sabrina, Gabriel, Itamar e Rodrigo.

Agradeço a Professora Vera e a Dra. Stéfani pelas análises de antibiograma.

Agradeço ao LNNano/CNPEN pelas análises de XPS.

Agradeço a todos os brasileiros que por meio de seus impostos puderam proporcionar toda a minha formação.

Agradeço a Capes pelo financiamento.

Epigrafe

“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito!”
Martin Luther King Jr.

Resumo

A síntese de monetita dopada com cobalto (CoCaP) foi realizada pelo método de co-precipitação, com um teor nominal de cobalto entre 2 a 20%. As amostras foram submetidas a uma caracterização estrutural por meio de difração de raios-X (DRX), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDS). Análises estruturais detalhadas confirmaram o sucesso da síntese e revelaram alterações estruturais distintas devido à dopagem com cobalto. Os resultados de DRX mostraram que as amostras dopadas com Co exibiam uma fase única de monetita, com parâmetros de célula e tamanho de cristalito dependentes da quantidade de cobalto incorporada. Ensaio de viabilidade e adesão celular não mostraram toxicidade, enquanto a análise de expressão gênica por RTqPCR indicou diferenças significativas nos genes associados ao fenótipo osteoblástico, sugerindo um potencial para regeneração óssea. Posteriormente, avançamos na resposta biológica da CoCaP e mostramos seu desempenho na migração de osteoblastos, indicando um potencial para acelerar a cicatrização óssea, enquanto uma regulação positiva de genes relacionados a quinases dependentes de ciclinas (CDKs) foi observada. Por fim, para seu uso como revestimento de titânio, investigamos os revestimentos de monetita e CoCaP em titânio comercialmente puro (Ti-c.p.). Os revestimentos apresentaram rugosidade superficial pronunciada e hidrofília inerente à biocompatibilidade, influenciando positivamente a morfologia celular e a qualidade desta interação célula-material, o que pode ser confirmado através de análises de expressão gênica requerendo genes distinguidos à osteogênese e remodelação da matriz extracelular. Em suma, esta tese demonstra o potencial da monetita dopada com cobalto como um material biomimético para regeneração óssea, destacando sua capacidade de imitar o ambiente de cicatrização do osso, promover a diferenciação e atividade osteoblástica, e melhorar a osseointegração de dispositivos médicos. Esses resultados oferecem perspectivas promissoras para futuras aplicações clínicas e avanços na engenharia de biomateriais para medicina regenerativa.

Palavras-chave: Monetita Dopada com Cobalto; Biomimético; Regeneração Óssea.

Abstract

The synthesis of cobalt-doped monetite (CoCaP) was performed by the co-precipitation method, with a nominal cobalt content ranging from 2 to 20%. The samples underwent structural characterization through X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS). Detailed structural analyses confirmed the success of the synthesis and revealed distinct structural alterations due to cobalt doping. XRD results showed that Co-doped samples exhibited a single phase of monetite, with cell parameters and crystallite size dependent on the amount of incorporated cobalt. Viability and cell adhesion assays showed no toxicity, while RT-qPCR analysis indicated significant differences in genes associated with the osteoblastic phenotype, suggesting potential for bone regeneration. Subsequently, we further explored the biological response of CoCaP, demonstrating its performance in osteoblast migration, indicating potential for accelerating bone healing, while a positive regulation of cyclin-dependent kinase (CDK)-related genes was observed. Finally, for its use as a coating on titanium, we investigated the coatings of monetite and CoCaP on commercially pure titanium (Ti-c.p.). The coatings exhibited pronounced surface roughness and inherent hydrophilicity conducive to biocompatibility, positively influencing cellular morphology and the quality of this cell-material interaction, as confirmed through gene expression analyses requiring genes distinguished in osteogenesis and extracellular matrix remodeling. In summary, this thesis demonstrates the potential of cobalt-doped monetite as a biomimetic material for bone regeneration, highlighting its ability to mimic the bone healing environment, promote osteoblastic differentiation and activity, and improve the osseointegration of medical devices. These results offer promising prospects for future clinical applications and advancements in biomaterial engineering for regenerative medicine.

Keywords: Cobalt Doped Monetite; Biomimetic; Bone Regeneration.

Sumário

Dedicatória	i
Agradecimentos	iii
Resumo	vi
Abstract	vii
Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xxi
Lista de Anexos.....	xxii
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	xxiii
Capítulo 1	1
Introdução – Revisão de Literatura	1
1. Introdução – Revisão de Literatura	2
1.1 O tecido ósseo.....	2
1.2 Circulação sanguínea, angiogênese e osteogênese: um acoplamento necessário	9
1.3 Mecanismos biológicos envolvidos com a hipóxia	11
1.4 Hipóxia e homeostase óssea	13
1.5 VEGF na reparação de fraturas	14
1.6 Princípios Gerais da Regeneração Óssea	15
1.7 Biomateriais	16
1.7.1 História dos biomateriais.....	17
1.7.2 Tipos de próteses encontradas	18
1.8 Biomateriais e a Engenharia de tecidos ósseos	20
1.8.1 Requisitos de substitutos de engenharia de tecidos ósseos:	20
1.8.2 Enxertos ósseos-substitutos:	22
1.9 Substitutos de Ossos Sintéticos.....	23
1.9.1 Biocerâmica: À base de fosfato de cálcio (Ca/P)	24
Capítulo 2	27

Monetita	27
2 Monetita	28
2.1 Sínteses de Monetita.....	28
2.2 Características Estruturais.....	29
2.2.1 Difração por raios-X	29
2.2.2 Espectros Vibracionais	30
2.2.3 Decomposição termal	32
2.3 Propriedades biológicas da monetita.....	32
2.4 Aplicações ortopédicas.....	34
2.4.1 Cimentos ósseos	34
2.4.2 Revestimentos	35
2.4.3 Grânulos.....	35
2.4.4 Scaffolds.....	36
2.5 Um olhar translacional e direções futuras da monetita.....	37
Capítulo 3: Justificativa e Objetivos.....	40
3. Justificativa e Objetivos.....	41
3.1. Justificativa	41
3.2. Objetivos	42
Capítulo 4.....	43
Artigo 1: Development of cobalt (Co)-doped monetites for bone regeneration	43
Capítulo 5.....	68
Artigo 2: Cobalt-doped monetite induces biomimetic hypoxia and rapidly camouflages bone healing environment.....	68
Capítulo 6.....	105
Artigo 3: The biological properties of Co-doped monetite are influenced by thermal treatment.....	105
Capítulo 7.....	141
Artigo 4: Optimizing titanium osseointegration using thermally modified Co-doped monetite coatings.....	141

Capítulo 8	156
Constatações, Conclusão e Perspectivas.....	156
Referencias	159
Anexo I: Atividades Desenvolvidas no Período	186

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1: Esquema ilustrado dos diferentes tipos de células do osso. Elementos gráficos foram obtidos em <https://smart.servier.com/>.3

Figura 2: Processo de ossificação intramembranosa. A ossificação intramembranosa segue quatro etapas. **(a).** As células mesenquimais se agrupam em grupos, e se formam centros de ossificação. **(b).** Osteoblastos ficam aprisionados na matriz e se transformam em osteócitos. **(c).** Mesequima forma o periósteo, a matriz trabecular é formada e vasos a invadem. **(d).** Osso compacto se desenvolve superficial ao osso trabecular, e vasos sanguíneos apinhados se condensam em medula óssea. Figura obtida em philschatz.com/anatomy-book (SCHATZ, 2016).5

Figura 3: Esquema de ossificação endocondral com crescimento longitudinal do tecido ósseo a partir de um molde cartilaginoso. A partir de um molde de cartilagem forma-se o centro primário de ossificação com invasão de vasos na porção central do osso. Nas extremidades formam-se os centros secundários de ossificação que depois de vascularizado, irá promover a substituição completa de cartilagem por osso com auxílio de condroclastos trazidos pela corrente sanguínea. **Fonte.** Histologia Básica, L.C. Junqueira e José Carneiro. - [12ª Edição] - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.6

Figura 4: O esquema de formação óssea secundária ilustra os processos de cura, em ordem: Formação de hematoma, Fase de inflamação, Fase de reparo, Fase de remodelação. Elementos gráficos foram obtidos em <https://smart.servier.com/>.7

Figura 5: Kusumbe et al. e Ramasamy et al. definiram o tipo H de células endoteliais como uma população vascular no tecido ósseo, satisfazendo angiogênese em condições fisiologicamente normais. Nestes trabalhos, os autores mostraram que células endoteliais do tipo H são capazes de secretarem a proteína Noggin, a qual conhecidamente regula o metabolismo de osteoblastos e condrócitos. Além da Noggin, mostraram o envolvimento de VEGF, Hif-1 α e da sinalização Dll4–Notch neste cenário. Porém, trata-se de uma sinalização parácrina complexa, onde os envolvimento de moléculas efetoras ainda necessitam de maiores esclarecimentos. **Fonte:** (LE NOBLE; LE NOBLE, 2014).11

Figura 6: Sinalização de HIF-1 α . Na normoxia, os sensores celulares de oxigênio (PHDs) hidroxilam resíduos prolina específicos (Pro402 e Pro564) do HIF-1 α , levando à sua degradação proteossômica mediada por pVHL, uma ubiquitina ligase E3. Durante a hipóxia, o HIF-1 α não é ubiquitinilado, consequentemente não é degradado, atuando como um fator de transcrição de genes, incluindo o VEGF, que promove a angiogênese e genes envolvidos no metabolismo anaeróbico. **Fonte:** (MAES; CARMELIET; SCHIPANI, 2012).12

Figura 7: Acoplamento entre as vias de HIF e VEGF no osso. Os osteoblastos expressam ambos HIF-1 α e HIF-2 α , que modulam o desenvolvimento ósseo, sua homeostase e a angiogênese.

Alguns dos efeitos dos HIF's no osso e na angiogênese são mediados pelo VEGF. **Fonte:** Próprio autor e imagem ilustrada por Paula Bertin. 14

Figura 8: O dedo do Cairo - “The **Cairo Toe**”, pertenceu a uma múmia egípcia (entre 1550 e 700 AC). 18

Figura 9: **a.** Pieter Stuyvesant (1592–1672) estátua mostrando sua perna de madeira (City of Kinston, New York), **b.** Perna de madeira pertencente ao General **Józef Sowiński** (1777–1831) preservada no *Polish Army Museum* em Varsóvia. **c.** A *Anglesey Leg* inventada em Londres por *James Potts* em 1800 e patenteada em 1805. Imagens disponíveis em Hildebrand (HILDEBRAND, 2013). 19

Figura 10: **a.** Crânio trepanado pertencente a cultura Inca, fechado por ouro e exibindo uma reconstrução óssea, ao artefato está no *Museu del Oro em Lima, Peru*. **b.** Restauração típica realizada pelos fenícios. **c.** Crânio Peruano, com substituição de todos os dentes por quartzo rosa, em exposição no *Museu del Oro*, em Lima. Figuras obtidas em Hildebrand (HILDEBRAND, 2013). 20

Capítulo 2

Figura 1: Pico de difração DRX de monetita. A amostra de monetita foi preparada por meio da reação de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e H_3PO_4 na razão molar Ca/P de 1. Todos os picos correspondem à fase monetita e o padrão típico é derivado do PDF# 09-0080 conforme obtido do Centro Internacional de Dados de Difração, Figura obtida em Zhou e colaboradores e referenciada de Desai 2008 (DESAI; BHADURI; TAS, 2008). 29

Figura 2: **(a)** Espectros Raman de alguns CaPs como HA, TCP, γ -pirofosfato de cálcio (γ -CPP, γ - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), brushita, whitlockite ($\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_{12}$), e monetita, na qual a monetita tem picos causados pelos modos de alongamento e flexão do P-O abaixo de 1400 cm^{-1} , mas não apresenta pico acima de 3000 cm^{-1} causado por vibrações do O-H. **(b)** Ampliação da região espectral Raman de 800 para 1200 cm^{-1} das fases acima mencionadas mostrando P–O vibrações de estiramento em todas as fases, dentre as quais a monetita apresenta fortes picos em 966 e 900 cm^{-1} . Figura obtida em Zhou e colaboradores e referenciada de Desai 2008 (DESAI; BHADURI; TAS, 2008). 31

Figura 3: Imagens dos enxertos de brushita, monetita (formado através de brushita de aquecimento a seco, referido como monetite-dry heated) e monetita (formado por meio de brushita autoclavado, referido como monetite-autoclaved) após 4 semanas (a-c) e após 12 semanas (d –f) de implantação subcutânea em ratos (as linhas pontilhadas amarelas indicam as dimensões iniciais dos enxertos de $6 \times 12\text{ mm}$). Radiografias de brushita implantado (esquerda) e enxertos autoclavados com monetita (direita), (g) após a implantação, (h) após 4 semanas e (i) após 12 semanas *in vivo*, os enxertos autoclavados com monetita eram de cor mais escura em comparação com brushita enxertos indicando maior quantidade de adsorção de proteínas. Imagem obtida de Sheikh e colaboradores (SHEIKH et al., 2015a). 33

Figura 4: Grânulos de monetita e partículas ósseas autólogas foram implantados em defeitos cranianos bicorticais de coelhos para comparar a capacidade de regeneração óssea: **(a)** defeitos cranianos bicorticais circulares (10.0 mm de diâmetro) foram feitos com trefina; **(b)** dois tampões ósseos foram removidos e usados para criar partículas de autoenxerto por moagem; **(c)** os defeitos foram preenchidos com grânulos de monetita e partículas de autoenxerto separadamente; **(d)** micrografia óptica de seção coronal de defeitos tratados com monetita e tratados com osso autólogo, nos quais os grânulos de monetita não reabsorvidos restantes pareciam de cor escura e foram encapsulados por osso novo em todo o defeito; **(e)** a quantidade de tecido mineralizado aumentado nos defeitos ósseos obtidos com grânulos de monetita foi comparável ao osso autólogo. Figura obtida em Torres et al (TORRES et al., 2015a).....36

Figura 5: Cortes histológicos (coloração H&E) de brushita (a & b), brushita autoclavado (c & d) e brushita seco aquecido (e & f) após 4 e 12 semanas de implantação (as áreas pontilhadas representam o diâmetro original do enxerto de 3 mm, escala barra representa 1 mm). Figura obtida em (SHEIKH et al., 2015a).37

Capítulo 4

Figure 1. FT-IR spectra of cobalt-doped apatite, obtained by coprecipitation method..... 50

Figure 2. XRD patterns of cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method. 51

Figure 3. Cell parameters and crystallite size (D) of cobalt-doped apatite, determined by Rietveld refinement..... 52

Figure 4. SEM images of cobalt-doped apatite, obtained by coprecipitation method. 52

Figure 5. Semiquantitative analysis and elemental distribution of cobalt-doped apatite by EDS. (A). CaP; (B). CoCaP 2; (C). CoCaP 5; (D). CoCaP 10; (E). CoCaP 20..... 53

Figure 6. Cytotoxicity Assays. a. The cells showed there is no reduction in viability when compared to the control group. The CaP group showed a statistically significant increase when compared with the control group and the other treatments; **b.** All groups showed there is no reduction in staining by Crystal Violet. CoCaP10 and CoCaP20 showed a statistically significant increase when compared with the control group and the other treatments, but no differences when compared among themselves. All groups of samples n=6. 54

Figure 7. Osteogenic gene markers were modulated in response to Co-doped monetite. (a) Higher expression of RUNX2 gene: Ctrl (**** p = 0.0001 and **** p = 0.0001), CoCaP5 (**** p = 0.0001, **** p = 0.0001) CoCaP10 (**** p = 0.0001, **** p = 0.0001) and CoCaP20 (**** p = 0.0001, **** p = 0.0001); Lower expression: CoCaP5 (*p = 0.0292), CoCaP10 (**p = 0.0082) and CoCaP20 (*p = 0.0105). There were also significant differences in expression between the CaP and CoCaP groups, with CoCaP showing a higher expression than CaP (**** p = 0.0001). **(b)** Higher expression of Osterix gene: CaP and CoCaP2 groups, when compared with the groups: Ctrl (**** p = 0.0001 and **** p = 0.0001), CoCaP5 (**** p = 0.0001, **** p = 0.0001) CoCaP10 (**** p = 0.0001, **** p = 0.0001) and CoCaP20 (**** p = 0.0001, **** p = 0.0001); Lower expression: CoCaP5 (*p = 0.0062),

CoCaP10 (*p = 0.0137) and CoCaP20 (**p = 0.0024). There were also significant differences in expression between the CaP and CoCaP1 groups, with CoCaP showing an increase compared to CaP (****p = 0.0001). (c) The BSP gene expression was increased in the groups CaP (*p = 0.0147) and CoCaP2 (****p = 0.0001), and decreased in CoCaP20 (*p = 0.0499) when compared to the control group. Higher expression: the expression was higher in the CaP and CoCaP groups compared to the other treatments, CoCaP5 (***p = 0.0002, ****p = 0.0001) CoCaP10 (***p = 0.0001, ****p = 0.0001) and CoCaP20 (****p = 0.0001, ****p = 0.0001). Between the CaP and CoCaP groups, in the CoCaP2 (****p = 0.0001) group there is an increase in expression when compared to CaP. (d) Higher expression of Osteocalcin: CoCaP2 (**p = 0.0013); Lower expression: CoCaP5 (**p = 0.0029), CoCaP10 (*p = 0.0043) and CoCaP20 (*p = 0.0012). When comparing the treated groups, each other, the expression was higher in the CaP and CoCaP groups compared to the other treatments, CoCaP5 (***p = 0.0007, ****p = 0.0001) CoCaP10 (***p = 0.0010, ****p = 0.0001) and CoCaP20 (***p = 0.0004, ****p = 0.0001). Between the CaP and CoCaP group, in the CoCaP2 group (+p = 0.0228) there is an increase in expression when compared to CaP. All groups of samples n=3.....55

Figure 8. Osteoclastogenesis-related gene (RANKL) and hypoxia biomarker were investigated in this study. (a) Higher expression of RANKL: CaP (*p = 0.0125) and CoCaP2 (****p = 0.0001) treatments there was an increase in its expression when compared with the control. When comparing the treated groups, the expression was higher in the CoCaP2 groups compared to the other treatments, CaP (***p = 0.0022), CoCaP5 (***p = 0.0003) CoCaP10 (****p = 0.0001) and CoCaP20 (****p = 0.0001); (b) In order to analysis the effect of hypoxia in response to the treatments, the Hif1 α gene was evaluated. The gene expression also revealed significant modulation in response to treatment in CaP (***p = 0.0005) and CoCaP2 (**p = 0.0001) when compared with the control and in the other treatments it was not statistically significant. When comparing the treated groups, the expression was higher in the CaP and CoCaP2 groups compared to the other treatments, CoCaP5 (****p = 0.0001, ****p = 0.0001) CoCaP10 (****p = 0.0001, ****p = 0.0001) and CoCaP20 (****p = 0.0001, ****p = 0.0001). Between the CaP and CoCaP2 groups, in the CoCaP2 group (****p = 0.0001) there is an increase in expression when compared to CaP. All groups of samples n=3.....56

Figure 9. Molecular machinery related with cell adhesion and cytoskeleton rearrangement. (a) α 1-integrin gene was higher in the groups: CaP (***p = 0.0009), CoCaP2 (****p = 0.0001), and CoCaP20 (*p = 0.0347) when compared with control. Among the treatments, there were statistically significant differences, with a lower expression in the CoCaP2.5 group when compared with CaP (****p = 0.0001), CoCaP2 (****p = 0.0001), and CoCaP20 (&p = 0.0091). Among the groups, the expression was higher in the CaP and CoCaP2 groups compared to the other treatments, CoCaP5 (***p = 0.0003, ****p = 0.0001) CoCaP10 (+p = 0.00326, ****p = 0.0001) and CoCaP20 (****p = 0.0001). Between the CaP and CoCaP2 groups, in the CoCaP2 group (****p = 0.0001) was higher in expression when compared to CaP; (b) β 1-integrin expression was lower in response to CoCaP5 (***p = 0.0008), CoCaP10 (*p = 0.0007) and CoCaP20 (***p = 0.0007). When comparing the treated groups, the expression was higher in the CaP and CoCaP2 groups compared to the other treatments, CoCaP5 (***p = 0.0003, ****p = 0.0001) CoCaP10 (***p = 0.0002, ****p = 0.0001) and CoCaP20 (***p = 0.0003, ****p = 0.0001). Between the CaP and CoCaP2 genes, in the CoCaP2 group (+p = 0.0479) there is an increase on expression when compared to CaP; (c) FAK gene expression was considered and it was higher in response to CoCaP2 (*p = 0.0069),

CoCaP10 ($p = 0.0154$) and CoCaP20 ($p = 0.0001$) when compared with the control, while CaP and CoCaP5 treatments it was not statistically significant. The other groups had statistically significant differences when compared among themselves, with increased expression in CoCaP2 and CoCaP20, the statistical differences were: CoCaP5 ($p = 0.0210$, $^{+++}p = 0.0001$), CoCaP10 ($^{ccc}p = 0.0010$) and CoCaP20 ($^{++++}p = 0.0001$, $^{cccc}p = 0.0001$, $^{&&&}p = 0.0002$, $^{ffff}p = 0.0010$); **(d)** Src gene expression was higher in the groups: CaP ($^{****}p = 0.0001$), CoCaP10 ($^{***}p = 0.0007$) and CoCaP20 ($^{***}p = 0.0001$) when compared with control, between CoCaP2 and CoCaP5 treatments was not statistically significant. The other groups showed statistically significant differences when compared among themselves, with higher expression in response to CaP, CoCaP10 and CoCaP20. The statistical differences were: CoCaP2 ($^{+++}p = 0.0001$), CoCaP5 ($^{+++}p = 0.0001$), CoCaP10 ($^{ccc}p = 0.0010$, $^{&&&}p = 0.0010$) and CoCaP20 ($^{ccc}p = 0.0002$, $^{&&&}p = 0.0002$); **(e)** Cofilin gene expression was higher in the groups as follows: CaP ($^{**}p = 0.0034$), CoCaP2 ($^{****}p = 0.0001$), CoCaP10 ($^{**}p = 0.0024$) and CoCaP20 ($^{*}p = 0.0037$) when compared with control, in the CoCaP5 it was not statistically significant. The other groups had statistically significant differences when compared among themselves, with higher expression in CaP, CoCaP2, CoCaP10 and CoCaP20, the statistical differences were: CoCaP2 ($^{+++}p = 0.0001$), CoCaP5 ($^{+}p = 0.0207$, $^{cccc}p = 0.0001$), CoCaP10 ($^{ccc}p = 0.0002$, $^{&}p = 0.0134$) and CoCaP20 ($^{ccc}p = 0.0001$, $^{&}p = 0.0229$). All groups of samples $n=3$. 57

Complementary assays

Figure 1. Raman spectra of monetite and cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method..... 66

Figure 2. a. The cell regeneration effect of treatments with Ctrl (conventional medium), CaP, CoCaP2, CoCaP5, CoCaP10, and CoCaP20 was measured by a wound-healing assay. **b.** Quantification Wounding area. **b.** The wound area was estimated by calculating the cell-free area in captured images using the ImageJ software (NIH, Bethesda, MD). The migration rate is expressed in percentage as the change in the wound area over time, the scratch area at time point 0 hours was set to 100%, and the other ones are represented as wound closure expressed as the remaining area uncovered by the cells in percentage. In the 12-hour treatment, only CaP showed comparable regeneration to Ctrl. At 24 hours' treatment, CaP and CoCaP were equivalent in regeneration when compared to Ctrl. The other groups showed regeneration, but lower than Ctrl.....67

Figure 3. Discs of the materials in contact with the bacteria, inhibition halos are visible as the cobalt concentration increases.....67

Capítulo 5

Fig.1. a. FTIR spectra and **b.** Raman spectra of monetite and cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method. **c.** XPS survey spectra of the samples; **A.** Monetite; **B.** Co-doped Monetite. **d.** XRD patterns of cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method. **e.** Cell parameters and crystallite size (D) of cobalt-doped monetite, determined by Rietveld refinement.....81

Fig.2. a. N₂ adsorption isotherms at 77K on Monetite and Co-doped Monetite (filled markers: adsorption branch and open markers: desorption branch). **b.** Pore distribution in the Monetite and Co-doped Monetite samples..... 82

Fig.3. SEM micrographs of cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method and semiquantitative analysis and elemental distribution of cobalt-doped apatite by EDS. **a.** Monetite; **b.** Co-doped Monetite. **Cytotoxicity Assays.** **c.** The cells showed no reduction in viability when compared to Ctrl. The CaP and CoCaP groups showed a statistically significant increase when compared to (****p = <0.0001 and ****p = < 0.0001) and O.M (***p = <0.0001 and ****p = <0.0001) in both treatment times and the CoCaP (***p = 0.0001) group showed a difference when compared to CaP. CaP (***p = <0.0001) and CoCaP (***p = 0.0042) also showed differences when compared to their respective treatments with time. **d.** All groups showed no reduction in Crystal Violet staining. CaP-3 days showed a statistically significant increase when compared to Ctrl (***p = 0.0001), O.M (***p = <0.0001, and CoCaP (***p = 0.0003). When compared to the 7-day treatment, a significant difference was also found in CaP (***p = 0.0003). All sample groups n = 6.....83

Fig.4. a. The cell regeneration effect of treatments with Ctrl (conventional medium), O.M (osteogenic-inducing medium), CaP (Monetite), and CoCaP (Co-doped Monetite) was measured by a wound-healing assay. **b. Quantification Wounding area.** The wound area was estimated by calculating the cell-free area in captured images using the ImageJ software (NIH, Bethesda, MD). The migration rate is expressed in percentage as the change in the wound area over time, the scratch area at time point 0 hours was set to 100%, and the other ones are represented as wound closure expressed as the remaining area uncovered by the cells in percentage. At 12 hours' treatment: The CaP (***p = 0.0001) and CoCaP (**p = 0.0017) groups showed a reduction when compared to Ctrl, O.M. did not show the same profile. At 16 hours' treatment: Only CoCaP (****p = <0.0001) showed a statistically significant reduction when compared to Ctrl. **c. Cdk2** there were no statistically significant differences in the 3-day treatment. In the 7-day treatment, the CoCaP group showed an increase in expression compared to Ctrl (****p = <0.0001), O.M (****p = <0.0001) and CaP (****p = <0.0001). **d. Cdk4**, in the 3-day treatment there were differences in the expression in CaP (*p = 0.0115) and CoCaP (*p = 0.0326) groups when compared to the Ctrl group. In the 7-day treatment, no group showed statistically significant differences. **e. Cdk6**, 3-day treatment, only CaP (****p = <0.0001) showed statistically significant differences when compared to Ctrl. At 7-day treatment, CoCaP showed increased expression when compared to Ctrl (****p = <0.0001), O.M (****p = <0.0001) and CaP (****p = <0.0001. All sample groups n = 3.....86

Fig.5. Cytokines were changes by CoCaP: a. RANKL, in the 3-day treatment showed an increase in its expression in the CaP (****p <0.0001 and ***p = 0.0007) and CoCaP (****p <0.0001 and ***p <0.0001) groups when compared to Ctrl and O.M, respectively. The CoCaP group (***p = 0.0001) showed an increase when compared to the CaP group. In the treatment for 7 days, the O.M (****p <0.0001) and CoCaP (****p <0.0001) show increases when compared to the Ctrl group. The O.M and CoCaP (****p <0.0001) also show increases in expression when compared to the CaP (****p <0.0001). **b. OPG**, in the 3-day treatment, only the CaP (*p = 0.0419 and **p = 0.0048) showed an increase when compared to the Ctrl and O.M. groups. In the 7-day treatment, the CoCaP group showed an increase in its expression when compared to the Ctrl (****p <0.0001), O.M (****p <0.0001), and CaP (****p <0.0001). **c. RANKL/OPG**, in the 3-day treatment the CaP (*p = 0.0351) and CoCaP (****p <0.0001) was higher than the Ctrl. The CoCaP group also showed differences concerning the O.M (***p <0.0001) and CaP (***p <0.0001). In the 7-day treatment, only the O.M group (***p = 0.0001) showed an increase compared to Ctrl, CaP (****p <0.0001), and CoCaP (****p

<0.0001). All sample groups n = 3. The Gapdh, β -actin, and 18S genes were used as housekeeping genes.....87

Fig.6. Osteoblast adhesion-related machinery is required by osteoblasts responding to monetite. **a.** α 1Integrin - In the 3-day treatment, the O.M. showed a reduction in expression when compared to the Ctrl (*p = 0.0464). The CaP and CoCaP did not show statistically significant differences. In the 7-day treatment, only the CoCaP group showed differences when compared to the Ctrl (+p = 0.0242) and CaP ($\text{p} = 0.0242$). **b.** β 1Integrin, at 3 days, the O.M. showed an increase in its expression when compared to the Ctrl (**p = 0.0019), while the CaP and CoCaP groups showed no significances. In the 7-day treatment, the O.M (+p = 0.0065), CaP (++++p <0.0001), and CoCaP (++++p <0.0001) groups showed an increase in expression when compared to the Ctrl. **c.** Src, at the 3-day time, showed there were no statistically significant differences between the groups when compared to Ctrl. At 7 days, the O.M. group showed an increase when compared to the Ctrl (++++p <0.0001). The CoCaP group showed a significant increase when compared to the Ctrl (++++p <0.0001), O.M (\$\$\$\$p <0.0001), and CaP ($\text{p} < 0.0001$). **d.** FAK, at the 3-day treatment, the CaP group showed an increase when compared to the Ctrl (**p = 0.0032). The CoCaP group showed an increase when compared to the Ctrl (***p = 0.0002) and O.M ($\text{p} = 0.0088$). In the 7-day treatment, the O.M and group showed an increase when compared to the Ctrl (+++p = 0.0001) and CaP (\$\$\$\$p <0.0001). The CoCaP group showed an increase in expression when compared to the Ctrl (++++p <0.0001) and CaP ($\text{p} < 0.0001$). **e.** Cofilin, at the 3-day treatment the O.M (****p <0.0001) and CaP (**p <0.0027) groups showed a significant increase in its expression when compared to the Ctrl and CoCaP ($\text{p} < 0.0001$ and $\text{p} = 0.0046$). In the 7-day treatment, only the O.M group showed an increase in its expression when compared to the Ctrl group (++++p <0.0001). Replicates: n = 3. The Gapdh, β -actin, and 18S genes were used as housekeeping genes.89

Fig.7. ECM remodeling by osteoblasts responding to monetites. **a.** MMP9, in the 3-day treatment, there were no differences between the groups when compared to Ctrl. In the 7-day treatment the O.M (++++p<0.0001) and CoCaP (++++p<0.0001; $\text{p} < 0.0001$) showed increased expression when compared to Ctrl and CaP (\$\$\$\$p<0.0001). **b.** MMP9 activity was evaluated by zymography and bands were quantified. In the 3 days' treatment, there was an increase in activity in CaP (****p<0.0001; $\text{p} < 0.0001$) and CoCaP (****p<0.0001; $\text{p} < 0.0001$) groups when compared to Ctrl and O.M, respectively. Between the monetites, the expression was increased in CaP compared to CoCaP ($\text{p} < 0.0001$). In the 7-day treatment, all groups showed an increase in their activity compared to Ctrl [O.M (++++p<0.0001), CaP (+p<0.0213), and CoCaP (++++p<0.0001)]. The activity was increased in O.M relative to CaP (\$\$\$\$p<0.0001). The CoCaP group showed an increase in its activity relative to O.M (\$\$\$\$p<0.0001) and CaP ($\text{p} < 0.0001$). **c.** MMP2 expression, in the 3-day treatment, there was an increase in the activity of the O.M group (***p = 0.0001) compared to the Ctrl, CaP ($\text{p} < 0.0001$), and CoCaP ($\text{p} = 0.0015$). The CoCaP group showed an increase in relation to the CaP group ($\text{p} = 0.0092$). Considering 7-day treatment, none of the treatments showed statistically significant differences with Ctrl. **d.** MMP2 activity was also evaluated by zymography and the bands were quantified, highlighting that, at 3 days of treatment, there was an increase in activity in the O.M. (****p<0.0001) and CaP (****p<0.0001) groups when compared to the Ctrl. The CaP group showed an increase when compared to the O.M ($\text{p} < 0.0001$). The CoCaP group showed a decrease when compared to the Ctrl (****p<0.0001), O.M ($\text{p} < 0.0001$), and CaP ($\text{p} < 0.0001$) groups. In the 7-day

treatment, the CaP ($^{++++}p < 0.0001$ and $^{$$$}p < 0.0001$) and CoCaP ($^{++++}p < 0.0001$ and $^{$$$}p = 0.0004$) showed increases in relation to Ctrl and O.M. Between CaP and CoCaP ($^{ffff}p < 0.0001$), it was showed an increase in the MMP-2 activity. **e.** Zymogram obtained by resolving the proteins content from the conditioned medium obtained by the osteoblasts responding to different cell culture conditions. The Gapdh, β -actin, and 18S genes were used as housekeeping genes.91

Fig.8. Osteogenic gene markers are reprogrammed in response to CoCaP. **a.** Runx2, at the 3-day treatment, the O.M ($^{***}p = 0.0002$) and CoCaP ($^{****}p < 0.0001$) groups showed differences when compared to Ctrl. The O.M and CoCaP groups showed an increase when compared to the CaP group ($^{ccc}p = 0.0006$; $^{&&&}p = 0.0003$); At 7 days, only the CoCaP group showed an increase in expression when compared to the Ctrl ($^{++++}p < 0.0001$), O.M ($^{$$$}p < 0.0001$) and CaP ($^{ffff}p < 0.0001$). **b.** Osterix, at the 3 days, only the CoCaP group showed differences in its expression when compared to Ctrl ($^{****}p < 0.0001$), O.M ($^{ccc}p < 0.0001$), and CaP ($^{&&&}p < 0.0001$). At 7 days, the CoCaP showed an increase in its expression when compared to the Ctrl ($^{++++}p < 0.0001$), O.M ($^{$$$}p < 0.0001$), and CaP ($^{ffff}p < 0.0001$). **c.** BSP, at the 3 days, there was an increase in expression in the O.M ($^{****}p < 0.0001$) and CoCaP ($^{**}p = 0.0099$) groups when compared to Ctrl. The O.M group also showed an increase when compared to the CaP ($^{ccc}p < 0.0001$) and CoCaP ($^{ccc}p = 0.0008$). At 7 days, only the O.M group showed statistically significant differences when compared to the Ctrl ($^{+}p = 0.0383$). **d.** ALP, at 3 days, the ALP expression was increased in the CaP group ($^{&&}p = 0.0055$) when compared to Ctrl, and at 7 days, O.M ($^{++++}p < 0.0001$) and CoCaP ($^{++++}p < 0.0001$) showed an increase when compared to Ctrl. The expression of O.M. was increased when compared to the CaP ($^{$$$}p < 0.0001$). The CoCaP group showed an increase in its expression when compared to the O.M. ($^{$$$}p < 0.0001$) and CaP ($^{ffff}p < 0.0001$). **e.** Bmp2 gene, at 3 days, only the CoCaP group showed an increase in its expression when compared to Ctrl ($^{**}p = 0.0060$), while at 7 days, the O.M. group showed an increase in its expression when compared to Ctrl ($^{+}p = 0.0283$) and CaP ($^{\$}p = 0.0402$). The CoCaP group showed an increase when compared to the Ctrl ($^{++++}p < 0.0001$), O.M. ($^{\$}p = 0.0033$), and CaP ($^{ffff}p < 0.0001$). **f.** Osteocalcin gene, at 3 days, the CaP ($^{*}p = 0.0413$; $^{c}p = 0.0387$) and CoCaP ($^{****}p < 0.0001$; $^{ccc}p = < 0.0001$) showed increased expression when compared to the Ctrl and O.M. groups, respectively. At 7 days, there were no significances among the groups. Replicates: $n=3$. The Gapdh, β -actin, and 18S genes were used as housekeeping genes.....93

Fig.9. ALP activity and morphological distribution along the osteoblast cultures. **a.** Osteoblasts after treatment at their respective time-point on ALP staining (magnification 10x). **b.** At 3 days, the CaP group ($^{**}p = 0.0074$) showed higher concentration when compared to the Ctrl group. The CoCaP group showed higher concentration when compared to the Ctrl ($^{****}p < 0.0001$) and O.M. ($^{ccc}p = 0.0005$) groups. At the 7-day treatment, the O.M. group ($^{++++}p < 0.0001$) showed higher concentration when compared to the Ctrl group. The CaP ($^{++++}p < 0.0001$) showed an increased concentration compared to the Ctrl group, and a lower concentration compared to the O.M. ($^{\$}p = 0.0170$). The CoCaP group showed the highest concentration compared to the Ctrl ($^{++++}p < 0.0001$), and CaP ($^{ff}p = 0.0052$). Replicates: $n = 3$94

Fig.10. CoCaP promotes hypoxia and requires VEGF and eNOS. **a.** Hif1 α , at 3 days, was higher only in osteoblasts responding to CoCaP group when compared to the Ctrl ($^{****}p < 0.0001$), O.M ($^{ccc}p < 0.0001$), and CaP ($^{&&&}p < 0.0001$). The same profile was observed in the 7 days' treatment, with a significant increase when compared to the Ctrl ($^{++++}p < 0.0001$), O.M

($$$$p < 0.0001$), and CaP ($$$$p < 0.0001$). **b.** VEGF, at 3 days, was higher only in osteoblast responding to CaP group when it was compared to the Ctrl ($***p = 0.0010$) and CoCaP group ($&p = 0.0041$). Considering the 7 day, only the O.M. group showed an increase in its expression in relation to Ctrl ($+++p = 0.0002$), CaP ($$$$p < 0.0001$), and CoCaP ($$$$p = 0.0050$). **c.** eNOS, at 3 days, was higher expressed in osteoblasts responding to O.M. ($***p = 0.0002$; $^cp = 0.0074$) and CoCaP ($****p < 0.0001$; $&&p = 0.0002$) when compared to Ctrl and CaP, respectively. At 7 days, both CaP ($++++p < 0.0001$; $$$$p = 0.0003$) and CoCaP ($++++p < 0.0001$; $$$$p < 0.0001$) showed an increase in its expression when compared to Ctrl and O.M., respectively. Replicates: $n = 3$ and the Gapdh, β -actin, and 18S genes were used as housekeeping genes. 95

Fig.11. Protein Carbonylation was changed by monetites. At 3 days, osteoblast responding to O.M. group showed an increase compared to the Ctrl ($***p = 0.0003$). CaP showed a decrease when compared to Ctrl ($****p < 0.0001$), O.M. ($^ccc p < 0.0001$), and CoCaP ($&&&p < 0.0001$). In turn, CoCaP showed a decrease when compared to O.M. ($^cp = 0.0104$). At 7 days, the both O.M. ($***p = 0.0002$) and CoCaP ($****p < 0.0001$) groups showed a decrease compared to Ctrl. The CaP group showed an increase compared to the both O.M. ($$$$p = 0.0005$) and CoCaP ($$$$p < 0.0001$) groups. Replicates: $n = 3$ 96

Capítulo 6

Fig. 1: Thermogravimetric analysis of (a) CaP and (b) CoCaP, illustrating one endothermic event linked to dehydration and two events associated with thermal decomposition 114

Fig. 2 - Visual plot of Rietveld refinements. **a.** Monetite_Wo_HT, **b.** Monetite_700, **c.** Monetite_900, **d.** Monetite_1050, **e.** Co-doped Monetite_Wo_HT, **f.** Co-doped Monetite_700, **g.** Co-doped Monetite_900, and **h.** Co-doped Monetite_1050. 115

Fig. 3 - Visual plot of Williamson – Hall equation. **a.** Monetite_Wo_HT, **b.** Monetite_700, **c.** Monetite_900, **d.** Monetite_1050, **e.** Co-doped Monetite_Wo_HT, **f.** Co-doped Monetite_700, **g.** Co-doped Monetite_900, and **h.** Co-doped Monetite_1050 The results obtained by the refinement are Supplementary data. 115

Fig. 4 - N₂ adsorption isotherms at 77K on Monetite and Co-doped Monetites treated at different temperatures (filled markers: adsorption branch and open markers: desorption branch). 116

Fig. 5 - **a.** Monetite FTIR spectra, and **b.** Co-doped Monetite FTIR spectra. 118

Fig. 6 - Raman Spectroscopy: **a.** CaP's, **b.** CoCaP's, and **c.** CaP and CoCaP without heat treatment. Characteristic peaks of monetite are symbolized in the dashed lines and peaks of calcium pyrophosphates and other phases in the solid lines. 119

Fig. 7 - **a.** SEM micrographs. **b.** Semiquantitative analysis by EDS 120

Fig. 8 - **a.** Regeneration of cells after 12 and 16 hours. **b.** Quantification of the regenerated area in 12 hours, **c.** Quantification of the regenerated area in 16 hours, **d.** MTT 24 hours; **e.** CV 72 hours, **f.** MTT 72 hours, and **g.** CV 72 hours. 121

Fig. 9 - The inflammatory phenotype: 3-day treatments. **a.** IL1 β , **b.** IL10, **c.** IL18, 7-days treatments. **d.** IL1 β , **e.** IL10, and **f.** IL18..... 123

Fig. 10 - Genes involved in adhesion and ECM remodeling: 3-day treatment: **a.** Integrin- α 1, **b.** Integrin- β 1 **c.** Src **d.** Fak **e.** Cofilin, 7-day treatment: **f.** Integrin- α 1, **g.** Integrin- β 1, **h.** Src, **i.** Fak, and **j.** Cofilin. 125

Fig. 11 - Genes involved in osteogenesis processes: 3-day treatment: a. Runx2, **b.** Osterix, **c.** Bsp, **d.** Alp, **e.** Bmp2, and **f.** Osteocalcin. 7-days treatment: **g.** Runx2, **h.** Osterix, **i.** Bsp, **j.** Alp, **k.** Bmp2, and **l.** Osteocalcin 127

Fig. 12 - Genes involved in Reabsorption and Angiogenesis processes: 3-day treatment: a. Opg, **b.** Rank-L, **c.** Vegf, **d.** Hif1 α , and **e.** eNOS. 7-days treatment: **f.** Opg, **g.** Rank-L, **h.** Vegf, **i.** Hif1 α , and **j.** eNOS..... 129

Fig. 13 - Genes involved in MMP's expression and Carbonyl Protein analyses: 3-day treatment: a. MMP2, **b.** MMP9, and **c.** Protein Carbonyl Formation, 7-day treatment: **d.** MMP2, **e.** MMP9, and **f.** Protein Carbonyl Formation..... 131

Fig. 14 - ALP analyses..... 131

Capítulo 7

Figure 1: Coating titanium with monetite by hydrothermal technique: **a.** Solutions used for monetite (right) and co-monetite (left) coating; **b.** Ti.cp plates; **c.** hydrothermal reactor; **d.** titanium plates inside the reactor and adding the solution; **e.** closing the reactor; **f.** placing the reactor in the autoclave; **g.** closing the autoclave; **h.** samples after coating, with the monetite..... 147

Figure 2: Diffractogram of the samples (a) c.p.-Ti (200°C), (b) c.p.-Ti + CaP and (c) c.p.-Ti + CoCaP. XRD patterns indexed according to PDF number 71-1760 for the samples containing the coating and PDF number 44-1294 for the pure titanium..... 148

Figure 3: SEM micrographs: **a.** Ti.cp, **b.** Monetite, and **c.** Co-doped Monetite; Profilometry: **d.** Ti.cp, **e.** Monetite, and **f.** Co-doped Monetite..... 149

Figure 4: Micrographs of the materials in direct contact with the cells at 3 and 7 days..... 149

Figure 5: Contact angle: **a.** Ti.cp, **b.** Monetite, and **c.** Co-doped Monetite, in b and c, the images were taken in frames, about 0.099s after the droplet came into contact with the surface..... 150

Supplementary material

Figure 1: Coating titanium with monetite by hydrothermal technique: **a.** Solutions used for monetite (right) and co-monetite (left) coating; **b.** Ti.cp plates; **c.** hydrothermal reactor; **d.** titanium plates inside the reactor and adding the solution; **e.** closing the reactor; **f.** placing the reactor in the autoclave; **g.** closing the autoclave; **h.** samples after coating, with the monetite... 153

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1: Exemplos de fosfatos de cálcio e sua fórmula química.	24
---	----

Capítulo 2

Tabela 1: Resumo de sínteses de monetita: seus reagentes e método de obtenção.....	29
Tabela 2: Frequências características (cm^{-1}) e atribuições de bandas para monetita relatadas no espectro Raman e infravermelho.....	30

Capítulo 4

Table 1 - Primers sequences and details of the cycle conditions.....	50
Table 2 - Variations of pH during the synthesis.....	51
Table 3. EDS semiquantitative analysis of cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method.....	53

Capítulo 5

Table 1 - Primers sequences and details of the cycle conditions.....	78
Table 2 - Variations of pH during the synthesis.....	81
Table 3 - SBET specific area (m^2/g) of Monetite and Co-doped Monetite.....	83
Table 4 - EDS semiquantitative analysis of cobalt-doped monetite, obtained by coprecipitation method.....	85

Capítulo 6

Table 1 - Primers sequences and details of the cycle conditions.....	113
Table 2 - SBET-specific area (m^2/g) of Monetite and Co-doped Monetite.....	117

SUPPLEMENTARY DATA

Table 1. Structural details of the crystallographic datasheets.	139
Table 2. Merit parameters.....	139
Table 3. Cell parameters.....	139
Table 4. Crystallite and microstrain of Monetite phase.....	140

Capítulo 7

Table 1: Structural details of the crystallographic datasheets.	148
Table 2: Cell parameters.....	148
Table 3: - Crystallite and microstrain of Monetite phase..	149

Lista de Anexos

Atividades Desenvolvidas no período

Lista de Abreviaturas e Siglas

α-TCP	α -Fosfato tricálcico
β-TCP	β -Fosfato tricálcico
β-CPP	β -pirofosfato de cálcio
γ-CPP	γ -pirofosfato de cálcio
μL	Microlitro
3D	Três dimensões
18S	RNA ribossomal
ACP	Fosfato de cálcio amorfo
ADP	Adenosina difosfato
Ag	Prata
AKT	Proteína quinase B
Al	Alumínio
ALP	Fosfatase alcalina
ANOVA	Análise de Variância
Au	Ouro
BCL2	Regulador de apoptose BCL2
BCP	Bifosfato de Cálcio
BGLAP	Osteocalcina
BMP's	Proteínas morfogenéticas ósseas
BMP2	Proteína morfogenética óssea 2
BMPR1	Receptor da proteína morfogênica óssea do tipo 1
BMPR2	Receptor da proteína morfogênica óssea do tipo 2
BMPs	Proteína morfogenética óssea
C	Carbono
C₀	Concentração inicial
CaCl₂	Cloreto de Cálcio
CAGR	Taxa anual de crescimento composta
CaP	Fosfatos de Cálcio ou <i>calcium phosphate</i>
CaPs	Ortofosfatos/fosfatos de cálcio ou Calcium orthophosphates/phosphates
CDK2	Quinase 2 dependente de ciclina
CDK4	Quinase 4 dependente de ciclina
CDK6	Quinase 6 dependente de ciclina
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico Complementar
cm	Centímetros
Co	Cobalto
CO₂	Dióxido de carbono
CoCaP	Fosfato de Cálcio dopado com Cobalto
CoCl₂	Cloreto de Cobalto
CPC	Cimentos de CaPs
CPP	calcium pyrophosphate ou pirofosfato de cálcio
Cu	Cobre
DCPA	Monetita ou <i>Monetite</i>
DCPD	Brushita ou <i>Brushite</i>

DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
DRX	Difratrometria de Raios X
EDX e EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão em energia
EG	Ethylene glycol
ERK	Quinases reguladas por sinal extracelular
FAK	Proteína tirosina quinase de adesão focal
FGF	Fator de crescimento do fibroblasto
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Gramma
GAPDH	Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase
h	horas
H	Hidrogênio
H₂O	Água
HA	Hidroxiapatita
HB	Hidroxiapatita bovina
HPO₄²⁻	hidrogenofosfato
IGF1	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IGFR1	Receptor de fator de crescimento semelhante à insulina 1
IL1	Interleucina 1
IL18	Interleucina 18
IL18R1	Receptor de interleucina 18 do tipo 1
Il1r1	Receptor de interleucina-1 tipo 1
Il1R1	Receptor de interleucina 1 do tipo 1
IL1β	Interleucina 1 beta
IL33	Interleucina 33
IL6	Interleucina 6
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
ISO	Organização Internacional de Normalização
ITGB1	Integrina subunidade beta 1
JAK	Janus quinase
JNK	c-Jun quinases terminais N
KBr	Brometo de potássio
kV	Quilovolts
L	Litro
mA	Miliampères
MAPK	Proteína-quinases ativadas por mitógenos
MAPK3	Proteína mitogênica-ativada 3
MC3T3	Pré-osteoblastos de Camundongo
MEC	Matriz Extracelular
MEM	Meio Mínimo Essencial (Minimum Essential Medium)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama
Mg	Magnésio
min	Minutos

Mn	Manganês
mRNA	Ácido Ribonucleico Mensageiro
miRNAs	Micro RNA
mL	Mililitro
mM	Milimolar
Mn	Manganês
MO	Meio osteoindutor
MTT	Brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio
N	Nitrogênio
Na₂HPO₄	Fosfato de sódio dibásico
NaCl	Cloreto de sódio
NFκB	Factor nuclear kappa B
Ni	Níquel
NLRP3	Proteína 3 contendo os domínios NACHT, LRR e PYD
nm	Nanometro
nNOS	Óxido nítrico síntase
NO	Óxido nítrico
OCP	Fosfato octacálcico
OCT ou OCN	Osteocalcina
OD	Densidade ótica
OH	Hidroxila
ON	Osteonectina
OPG	Osteoprogesterina
OPN	Osteopontina
OTX	Osterix
P15	Inibidor de quinase dependente de cíclica 2B
P21	Inibidor da cinase dependente de ciclina 1
P₂O₇	Pirofosfato
P38	Proteína quinase ativada por mitógeno p38
PBS	Tampão fosfato-salino
PCR	Reação de cadeia polimerase
PDGFs	Fatores de crescimento derivados de plaquetas
pg	Picograma
pH	Potencial (ou potência) hidrogeniônico
PMNs	neutrófilos polimorfonucleares
PO₄	Fosfato
Raman	Espectroscopia de espalhamento Raman com microscopia óptica
RANKL	Ativador de receptor do fator nuclear κ B
RNA	Ácido Ribonucleico
RNA-seq	Sequenciamento de Ácido Ribonucleico
RPM	Rotações por minuto
RT-qPCR	Transcriptase reversa seguida de quantificação utilizando a técnica da reação em cadeia da polimerase
Runx2	Fator de Transcrição relacionado ao RUNT2
SA	Alginato de sódio

Se	Selênio
SFB	Soro Fetal Bovino
Si	Silício
SP7	Fator de transcrição Sp7
SRC	Proteína tirosina quinase SRC
STAT	Membros do transdutor de sinal e ativador da família das proteínas de transcrição
TCP	Fosfato Tricálcio ou Tricalcium phosphate
TFT	Alvos de Fatores de Transcrição
TGA	Análise por Termogravimetria
TGFs	Fatores de crescimento transformadores
TGFBR1	Receptor 1 do fator de crescimento transformador
TGF-β1	O fator de crescimento transformador beta 1
TNFα	Fatores de Necrose Tumoral Alfa
TTCP	Fosfato tetracálcico
UV	Ultravioleta
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VEGFR1	Receptor tirosina quinase 1 Relacionado a Fms
VEGFR2	Receptor de domínio de inserção de quinase
VN	Vermelho Neutro
Zn	Zinco

Capítulo 1

Introdução – Revisão de Literatura

1. Introdução – Revisão de Literatura

1.1 O tecido ósseo

Os ossos constituem a base mecânica e de sustentação para os vertebrados e possuem a maior proporção da massa tecidual conectiva do corpo. Entre os tecidos vitais, o osso é um tecido distinto que tem características de renovação e auto reparo. O processo de remodelação óssea é baseado na cooperação contínua entre dois tipos de células, osteoclastos e osteoblastos, que por meio de uma eficiente homeostase, mantêm o tamanho, forma e função óssea (GAO et al., 2017). Na estrutura complexa e hierárquica dos ossos, junta-se à porção mineralizada, componentes de uma matriz orgânica (osteóide), majoritariamente formada por colágeno, além de outras proteínas não colagênicas, como é o caso de vimentina e fibronectina. Sabe-se também que proteoglicanos são decisivos para manutenção da hidratação do tecido, conferindo-lhe propriedades físico-químicas distintas (FLORENCIO-SILVA et al., 2015; PREETHI SOUNDARYA et al., 2018).

Além de seus componentes minerais e proteicos, o osso também é histologicamente composto por células, macromoléculas e vasos sanguíneos, dos quais angiogênese e osteogênese estão acoplados (KARSENTY; FERRON, 2012). O tecido ósseo é um sistema altamente vascularizado e complexo que fornece uma estrutura externa, bem como uma estrutura de suporte e proteção para os tecidos e órgãos internos, como o cérebro, o coração e os pulmões. Este tecido tem uma capacidade de carga e, em colaboração com o sistema muscular, é o principal responsável pela ação do movimento e, naturalmente, é classificado como uma composição vital, encontrada apenas em vertebrados (KARSENTY, 2000a; VAN DER EERDEN; TETI; ZAMBUZZI, 2014). Além disso, o osso é caracterizado por suas propriedades mecânicas únicas, que lhe permitem absorver a força externa e depois distribuí-lo igualmente sobre o tecido, evitando danos e permitindo a execução de diferentes atividades (VAN DER EERDEN; TETI; ZAMBUZZI, 2014).

O tecido ósseo também atua como reservatório de vários minerais, principalmente cálcio e fósforo, e também armazena fatores de crescimento, ácidos graxos, além de possuir a capacidade de absorver toxinas e metais pesados para minimizar os efeitos em outros órgãos. Além da função de absorção e liberação de sais, responsáveis por eventos de tamponamento do sangue e prevenção de grandes variações de pH (HAIDER et al., 2017; SADOWSKA et al., 2019; SUNTERS et al., 2010).

Devido a seu microambiente intrínseco, o osso saudável é capaz de adaptar sua massa e se reparar continuamente durante toda a vida. Outra característica distinta, o estroma da medula óssea contém células-tronco mesenquimais, que podem se diferenciar em uma variedade de tipos de células, incluindo glóbulos vermelhos e glóbulos brancos.

Células ósseas: Três tipos de células representam a construção principal do osso, e cada uma está igualmente envolvida no processo de desenvolvimento e remodelação, a **Figura 1** ilustra essas células. **Os osteoblastos**, são células mononucleares de origem mesenquimal, que são estimuladas por uma variedade de fatores de crescimento para se diferenciarem em células osteoprogenitoras e ocupam cerca de 4-6% do total de células no osso. Os osteoblastos ficam na superfície óssea e produzem estrutura não-mineralizada durante o processo de formação e mineralizando-os em seguida (HARADA; RODAN, 2003). **Os osteócitos**, células de origem mesenquimal, embebidas na matriz óssea mineralizada, constituem o maior volume de células ósseas em um esqueleto maduro, e também possuem a capacidade de se comunicar com outras células através da junção de fendas. As funções dos osteócitos são manter a matriz celular, regular as concentrações de cálcio/fósforo no osso e desempenhar um papel na mecano-sensibilidade do osso por orquestrarem a remodelação, sendo reservas importantes de RANKL (BOSKEY; ROBEY, 2018). **Os osteoclastos**, células multinucleadas encontradas na superfície óssea e são as únicas células ósseas capazes de se dividir. Eles são derivados de células-tronco hematopoiéticas, e realizam função inversa àquela exercida pelos osteoblastos, visto que degradam a matriz óssea favorecendo reabsorção de minerais e proteínas (MANOLAGAS, 2000; XIONG et al., 2011). Os três tipos celulares se comunicam através de moléculas de sinalização, cujas vias de participação são complexas (ZAMBUZZI; MILANI; TETI, 2010) e tem papel fundamental para a eficiência do mecanismo de regeneração e vascularização óssea (SARAN; GEMINI PIPERNI; CHATTERJEE, 2014).

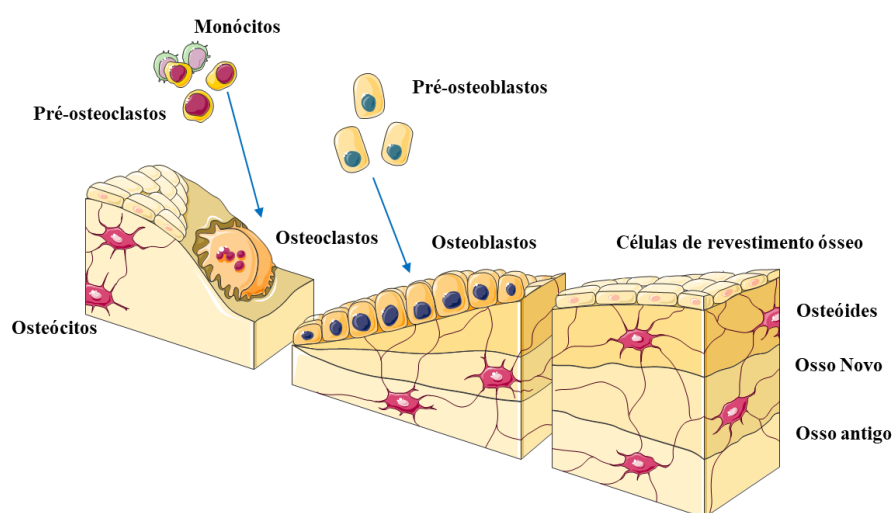


Figura 1: Esquema ilustrado dos diferentes tipos de células do osso. Elementos gráficos foram obtidos em <https://smart.servier.com/>.

Composição óssea: O osso é um tecido conjuntivo distinto com sua estrutura arquitetônica única, visto que lhe proporciona rigidez e flexibilidade ao mesmo tempo, proporcionado a capacidade de absorver e suportar e distribuir o estresse recebido, evitando danos a sua estrutura. A composição

do osso é basicamente água (10%), hidroxiapatita mineral inorgânica (60-70%), e o restante apresenta-se como colágeno de fase orgânica (CARREIRA et al., 2014). A combinação de colágeno e cristais minerais forma a matriz celular, que proporciona suas propriedades ser regido e flexível (WARDEN et al., 2005).

Estrutura óssea: Unidos por tecido conjuntivo, o sistema esqueleto dos adultos possui mais de 200 ossos. Apesar de compartilharem uma composição sólida, os ossos diferem em termos de função e estrutura. No nível macroscópico, o tecido ósseo pode ser dividido em dois tipos: osso cortical (compacto) e osso trabecular (WARDEN et al., 2005).

O osso cortical é uma camada externa sólida que ocupa aproximadamente 80% do volume total do esqueleto. O osso cortical é uma estrutura densa que se forma na superfície e tem uma baixa porosidade (5-10%), o que reflete sua resistência à compressão (COWIN, 1999). O osso poroso está localizado principalmente na área interna das regiões epifisárias e metafisárias. O osso poroso é de natureza esponjosa, que ocupa apenas 20% da massa óssea total, mas 75% da área total da superfície óssea (COWIN, 1999).

O osso trabecular proporciona uma capacidade de suporte indireta absorvendo energia e distribuindo a carga para manter o osso cortical (AERSSSENS et al., 1997). No nível microscópico, os ossos corticais e trabeculares contêm o osso lamelar. O osso primário é um osso primitivo ou imaturo encontrado principalmente durante a ontogênese rápida do esqueleto, crescimento longitudinal do osso, fraturas do estágio inicial e remodelação óssea ou formação de células ósseas insalubres (AERSSSENS et al., 1998). O osso lamelar é um osso maduro que precisa de mais tempo para ser formado, em comparação com o osso primário. As fibras de colágeno seguem um padrão arranjado no osso lamelar durante a formação com deposição aleatória de fibras, e isto leva a um aumento da resistência mecânica em comparação com o osso trabecular (BECK et al., 2001; SPANGENBERG et al., 2016).

Formação e desenvolvimento ósseo: O mecanismo osteogenético segue dois processos essenciais de desenvolvimento, que são diretos (intramembranosos) ou indiretos (endocondral). O sucesso da elaboração da matriz extracelular (MEC) e sua mineralização depende também de um suprimento vascular adequado. Qualquer deficiência resultará em uma imperfeição durante a fase de diferenciação (RUNYAN; GABRICK, 2017).

Ossificação intramembranosa: O principal diferencial desse processo de formação é a não dependência de um precursor cartilaginoso e está relacionado com a diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos (PALUMBO; FERRETTI; DE POL, 2003; PERCIVAL; RICHTSMEIER, 2013; YANG et al., 2012). Este processo pode ser resumido na diferenciação de

células mesenquimais em osteoblastos e está ilustrado na **Figura 2**, esses que por sua vez iniciam a síntese de matriz do osteóide, essa matriz recém sintetizada e rica em proteínas, para sua mineralização, mecanismos endócrinos hormônios e vitaminas necessitam estar em equilíbrio (PALUMBO; FERRETTI; DE POL, 2003). Conforme os osteoblastos produzem e depositam essa matriz óssea de forma não ordenada, estes acabando aprisionados dentro da matriz por ele secretados. Este aprisionamento dos osteoblastos à MEC, fator que influencia para mudança fenotípica dessas células, se diferenciando em osteócitos (ZAMBUZZI, 2008). Estes osteócitos envoltos na matriz extracelular iniciam uma comunicação com células adjacentes via dendritos formando uma forte rede através das lacunas ósseas (RUTKOVSKIY; STENSLØKKEN; VAAGE, 2016; YANG et al., 2012). Essa comunicação ocorre inclusive com tecido endotelial promovendo a nutrição do tecido gerado e podendo carregar fatores produzidos por osteócitos. A combinação das lacunas ósseas, vasos sanguíneos, células osteoprogenitoras e mesenquimais formam uma estrutura esponjosa no osso e a formação por células mesenquimais e vasos sanguíneos de medula óssea (CHOI et al., 2002). Diferentes centros de ossificação com seu crescimento radial, acabam se fundindo e substituindo a membrana conjuntiva preexistente.

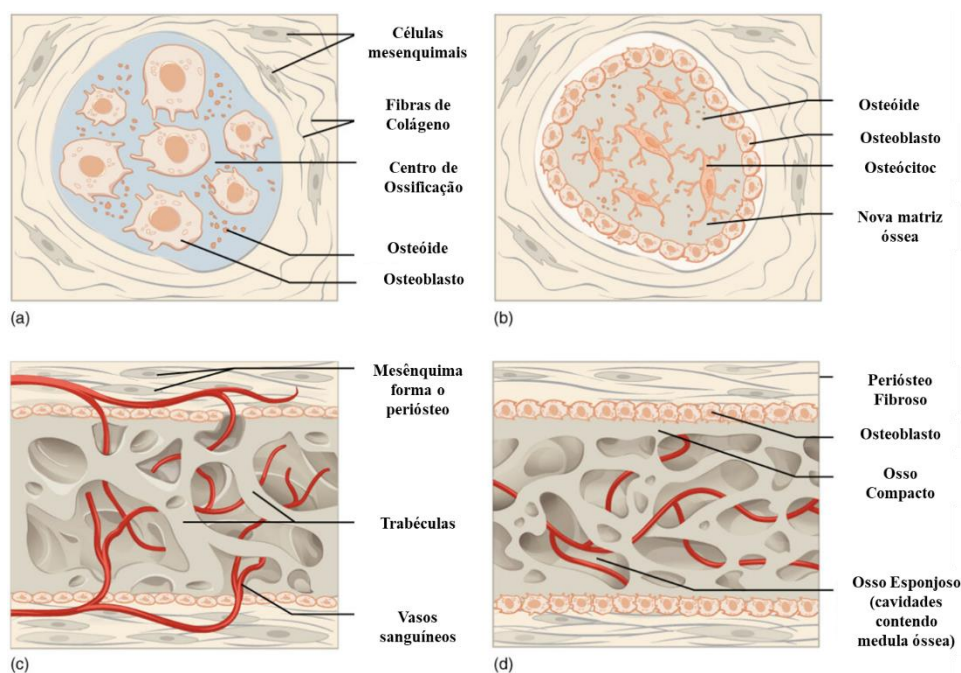


Figura 2: Processo de ossificação intramembranosa. A ossificação intramembranosa segue quatro etapas. **(a).** As células mesenquimais se agrupam em grupos, e se formam centros de ossificação. **(b).** Osteoblastos ficam aprisionados na matriz e se transformam em osteócitos. **(c).** Mesênquima forma o perióstio, a matriz trabecular é formada e vasos a invadem. **(d).** Osso compacto se desenvolve superficial ao osso trabecular, e vasos sanguíneos apinhados se condensam em medula óssea. Figura adaptada de OpenStax College, Anatomy and Physiology. OpenStax CNX. <http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@11.1>. (SCHATZ, 2016).

Ossificação endocondral: A ossificação endocondral diferente do processo intramembranoso, é um processo pelo qual os ossos da cartilagem, associados às articulações e ossos longos, se

formam. Em eventos de cicatrização do tecido ósseo, é possível que os 2 eventos aconteçam, participando de modo combinado na regeneração do tecido. As células mesenquimais sob condensação se diferenciam em condrócitos para formar um modelo hialino com ossificação primária ocorrendo na zona média (MAES et al., 2010). A atividade dos osteoblastos e a formação vascular ocorrem durante a ossificação primária, enquanto que uma ossificação secundária ocorre mais tarde no centro das regiões epifisárias. Ao longo da haste do osso, a área de cartilagem desenvolvida se estende através da região de crescimento entre (diáfise) e ambas as extremidades (epífise) (RUNYAN; GABRICK, 2017). A ossificação endocondral promove o crescimento longitudinal dos ossos que no final do desenvolvimento requer a substituição do tecido jovem por tecido ósseo lamelar duro (DIRCKX; VAN HUL; MAES, 2013). A **Figura 3** ilustra todo o processo e este geralmente ocorre até a o início da idade adulta (18-25 anos) e conforme o crescimento do indivíduo esse processo acaba sendo comprometido (JACOBSEN et al., 2008; MAIA et al., 2022).

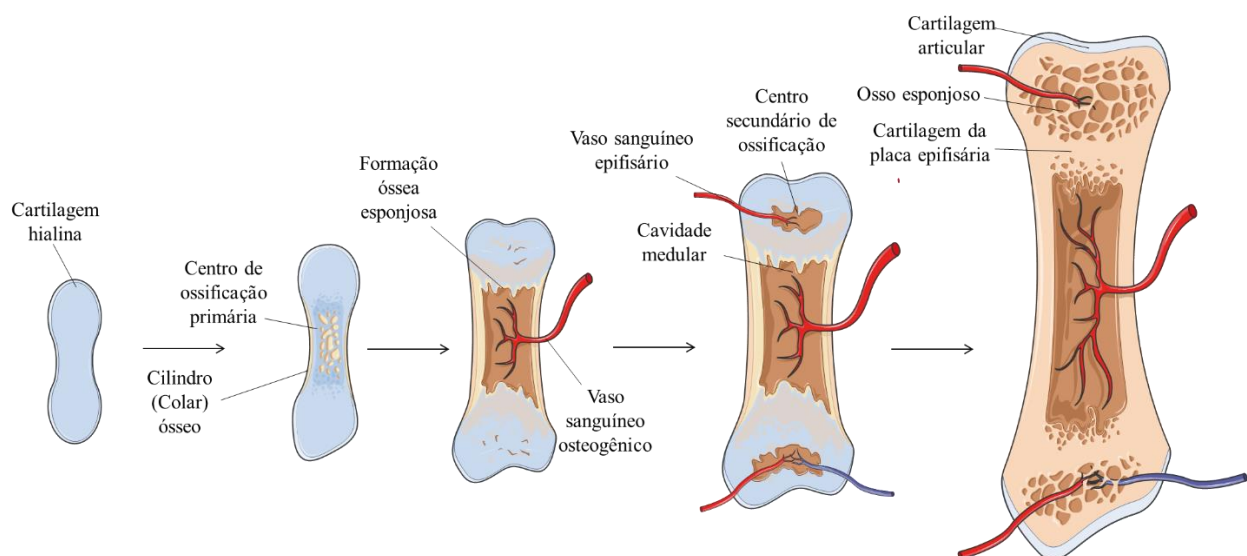


Figura 3: Esquema de ossificação endocondral com crescimento longitudinal do tecido ósseo a partir de um molde cartilaginoso. A partir de um molde de cartilagem forma-se o centro primário de ossificação com invasão de vasos na porção central do osso. Nas extremidades formam-se os centros secundários de ossificação que depois de vascularizado, irá promover a substituição completa de cartilagem por osso com auxílio de condroclastos trazidos pela corrente sanguínea. **Fonte.** Adaptado de Histologia Básica, L.C. Junqueira e José Carneiro. - [12ª Edição] - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

Fratura e reparo ósseo: O sistema de reparo de um osso lesionado inicia imediatamente o recrutamento de células ósseas para reparar qualquer dano. Este processo passa por uma complexa e coordenada cascata de ações. Muitos componentes estão envolvidos no processo de restauração, incluindo citocinas e seus receptores. Com base na natureza da fratura, o processo de cicatrização pode ser dividido em cicatrização óssea primária e cicatrização óssea secundária (CARREIRA et al., 2014).

Cura óssea primária: No caso de lesões superficiais, pode ocorrer uma formação óssea primária. A área entre as bordas da fratura é preenchida diretamente com osso recém-formado e a formação do calo é reprimida. Nem o tecido conjuntivo nem o tecido fibrocartilaginoso estão envolvidos neste processo de cicatrização (LIEBERMAN; FRIEDLAENDER, 2005). A cicatrização óssea primária pode ser ainda subdividida em cicatrização de fendas e cicatrização de contato. Na cicatrização de fendas, a cavidade é preenchida diretamente com osso produzido pelos osteoblastos, onde um andaime de tecido ósseo é criado e apoiado pela estrutura óssea lamelar (LAD; MCGRAW; DAEGLING, 2019). Após várias semanas, a extremidade necrótica é reconstruída pela remodelação Haversian e substituída por camadas não mineralizadas de osso (osteons) (CHANG; LIU, 2022; LAD; MCGRAW; DAEGLING, 2019). Na cicatrização por contato, ao contrário, os osteons são capazes de crescer em todo o local da fratura devido à ausência de um espaço (SHEEN; GARLA, 2019). O túnel é feito por osteoclastos cortando cones através da linha de fratura. Um laço capilar de parede fina segue os osteoclastos suportados por células mesenquimais e células osteoprogenitoras para estabelecer camadas não mineralizadas de osso (osteons) (BIGHAM-SADEGH; ORYAN, 2015).

Cura óssea secundária: Uma fratura com um padrão complexo e uma falta de estabilidade biomecânica é classificada como uma formação óssea secundária. Tanto a ossificação intramembranosa quanto a endocondral estão envolvidas no processo, e a formação de um calo também ocorrerá. Normalmente, o termo está associado a um tratamento conservador que inclui possível micromoção dentro da fratura. Três fases sobrepostas ocorrem no processo secundário de cura óssea: inflamação, reparação e remodelação e são ilustradas na **Figura 4**:

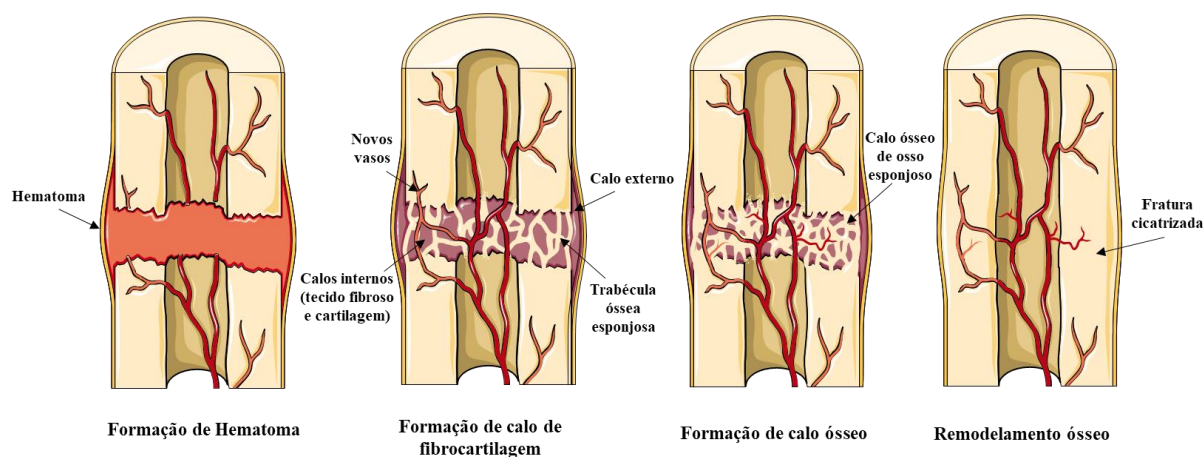


Figura 4: O esquema de formação óssea secundária ilustra os processos de cura, em ordem: Formação de hematoma, Fase de inflamação, Fase de reparo, Fase de remodelação. Elementos gráficos foram obtidos em <https://smart.servier.com/>.

Fase de inflamação: Uma fratura óssea leva a uma menor tensão de oxigênio no local da lesão devido à interrupção do fluxo vascular e da arquitetura da medula óssea. Uma resposta inflamatória

atinge seu pico após 48 horas e se estende por até 1 semana, e esta resposta é iniciada pela formação de um coágulo sanguíneo para recrutar moléculas bioativas, bem como precursores de osteoblastos e condroblastos. Uma cascata regulada de fatores de crescimento (fator de crescimento do fibroblasto [FGF], fator de necrose tumoral- α [TNF- α], PDGF e TGF- β) e uma variedade de citocinas são secretadas para encorajar as células mesenquimais a proliferar e diferenciar-se nas linhagens condrogênicas e osteogênicas (KOMORI, 2019; SHEEN; GARLA, 2019).

Fase reparadora: Tanto ossificações intramembranasas quanto endocondral estão envolvidas nesta fase, e ela começa dentro de poucos dias após a lesão, até que a fase inflamatória desapareça. O período endocondral pode durar até 28 dias. O objetivo desta fase é desenvolver um calo duro ao redor da área lesada para proporcionar suporte e estabilidade, e este será posteriormente substituído pelo osso. Fibroblastos, condroblastos e osteoblastos são formados por células mesenquimais no local da fratura. A migração de outras células com vasos sanguíneos também ocorre para produzir tanto osso compacto quanto trabecular. A mineralização do calo provavelmente ocorre com a mudança do pH, e a formação do osso ocorre como resultado da diferenciação dos osteoblastos. O calo mole é um resultado de células indiferenciadas. Trata-se de uma cartilagem desenvolvida que está associada à formação do osso endocondral, e eventualmente, após 4-5 semanas, a cartilagem calcificada será substituída por tecido fibroso (BAHNEY et al., 2019; KOSTENUIK; MIRZA, 2017; SCOTLANDI et al., 2000).

Fase de remodelação: A remodelação é a etapa final do processo de cura. Esta fase envolve a colaboração entre osteoblastos e osteoclastos para converter tecido mole em uma estrutura óssea capaz de suporte mecânico. Sob tensões fisiológicas, o tecido ósseo é substituído pelo osso lamelar, e o osso trabecular é reabsorvido pelos osteoclastos, o que cria pequenas cavidades conhecidas como lacunas da Howship. As células osteoblastos entram nestas cavidades e produzem novas matrizes, que prendem as células que depois se desenvolvem em osteócitos (ARO et al., 1990; SHEEN; GARLA, 2019).

Considerando esse repertório de informações, o osso demonstra ter capacidade de regenerar-se, resultando em tecido de reparação com propriedades anatômico-funcionais semelhantes aos originais. Outrossim, há ocasiões em que o tecido ósseo sofre lesões de tamanho crítico, nas quais seu processo cicatricial exige processos clínicos intervencionistas. Em auxílio ao procedimento de regeneração deste tipo de injúria, a aplicação de biomateriais no campo da engenharia de tecidos permite uma recuperação mais eficiente da lesão, trazendo o restabelecimento ao indivíduo. Diante deste fato, o desenvolvimento de novas estratégias com capacidade osteointegrativa aptos a prover um microambiente adequado à adesão, proliferação e diferenciação celulares com o intuito de ofertar as condições necessárias para a regeneração óssea

Conclusão

Em conclusão, considerando nossos achados, este estudo revela pela primeira vez o impacto biológico de uma nova monetita dopada com cobalto em osteoblastos. Destaca-se que a monetita dopada com cobalto induz uma hipoxia biomimética e imita rapidamente o ambiente de regeneração óssea, aprimorando o desempenho osteogênico das células. A monetita dopada com cobalto surge como um material biomimético e 'inteligente', com aplicações promissoras no campo do desenvolvimento ósseo.

Perspectivas Futuras

Nossos resultados abrem caminho promissor para o aprofundamento da sinergia entre biomimética e regeneração do tecido ósseo. Espera-se que os avanços futuros se orientem para a elaboração e refinamento de unidades biomiméticas que não apenas simulem, mas também potencializam os processos biológicos essenciais para a osteogênese e recuperação óssea. Essa abordagem inovadora tem o potencial de revolucionar as terapias para lesões ósseas, com a incorporação de técnicas de ponta como a bioimpressão 3D e a engenharia de tecidos. A expectativa é desenvolver *scaffolds* avançados que não só apoiem, mas também acelerem a regeneração óssea de maneira eficiente, dinâmica e alinhada com as exigências fisiológicas do esqueleto.

Além disso, prevê-se a exploração de novos biomateriais e aprimoramento dos já existentes, com o intuito de otimizar a osteointegração e funcionalidade em uma miríade de aplicações clínicas, tanto no campo humano como veterinário. Isso inclui a investigação de implantes e próteses que se integram de forma mais natural e eficaz ao tecido hospedeiro, minimizando o risco de rejeição e maximizando a eficácia terapêutica. A longo prazo, o objetivo é que tais avanços conduzam a uma melhora significativa na qualidade de vida dos pacientes, reduzindo os tempos de recuperação e aumentando a durabilidade e funcionalidade dos implantes. No futuro, ainda, a pesquisa poderá se expandir para a modulação controlada de ambientes hipóxicos para otimizar o acoplamento angiogênese-osteogênese, explorando as propriedades do cobalto e outros agentes para criar um ambiente propício à regeneração óssea.

Referencias

- AATI, S. Y. Monetite layer by layer coating for bone regeneration application. n. January, 2017.
- ADAWY, A.; DIAZ, R. Probing the Structure, Cytocompatibility, and Antimicrobial Efficacy of Silver-, Strontium-, and Zinc-Doped Monetite. **ACS Applied Bio Materials**, v. 5, n. 4, p. 1648–1657, 18 abr. 2022.
- AERSSENS, J. et al. Variations in trabecular bone composition with anatomical site and age: Potential implications for bone quality assessment. **Journal of Endocrinology**, v. 155, n. 3, p. 411–421, 1997.
- AERSSENS, J. et al. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: Potential implications for in vivo bone research. **Endocrinology**, v. 139, n. 2, p. 663–670, 1998.
- AFZAL, F.; POLAK, J.; BUTTERY, L. Endothelial nitric oxide synthase in the control of osteoblastic mineralizing activity and bone integrity. **Journal of Pathology**, v. 202, n. 4, p. 503–510, abr. 2004.
- ALBREKTSSON, T. et al. Osseointegrated titanium implants: Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. **Acta Orthopaedica**, v. 52, n. 2, p. 155–170, 1981.
- ALBREKTSSON, T.; WENNERBERG, A. **On osseointegration in relation to implant surfaces. Clinical Implant Dentistry and Related Research** Blackwell Publishing Ltd, , 1 mar. 2019.
- ALI, A. et al. Hydrothermal deposition of high strength calcium phosphate coatings on magnesium alloy for biomedical applications. **Surface and Coatings Technology**, v. 357, p. 716–727, 15 jan. 2019.
- ALI, M. et al. Allograft bone banking experience in Pakistan. **Cell and Tissue Banking**, v. 23, n. 2, p. 367–373, 1 jun. 2022.
- ALLMANN, R.; HINEK, R. The introduction of structure types into the Inorganic Crystal Structure Database ICSD. **Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography**, v. 63, n. 5, p. 412–417, 17 ago. 2007.
- APELT, D. et al. In vivo behavior of three different injectable hydraulic calcium phosphate cements. **Biomaterials**, v. 25, n. 7–8, p. 1439–1451, 1 mar. 2004.
- APONTE-TINAO, L. A. et al. Should Fractures in Massive Intercalary Bone Allografts of the Lower Limb Be Treated With ORIF or With a New Allograft? **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 473, n. 3, p. 805–811, 1 mar. 2015.
- ARALDI, E.; SCHIPANI, E. **Hypoxia, HIFs and bone development. Bone**, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20444436/>>

ARO, H. T. et al. Internal remodeling of periosteal new bone during fracture healing. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 8, n. 2, p. 238–246, 1990.

ASLANKOOHI, N. et al. **Bone repair and regenerative biomaterials: Towards recapitulating the microenvironment**. **Polymers**MDPI AG, , 2019.

BABIKER, H. Bone graft materials in fixation of orthopaedic implants in sheep. **Danish medical journal**, v. 60, n. 7, p. B4680, 1 jul. 2013.

BABILOTTE, J. et al. Development and characterization of a PLGA-HA composite material to fabricate 3D-printed scaffolds for bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, p. 111334, 1 jan. 2021.

BAHNEY, C. S. et al. **Cellular biology of fracture healing**. **Journal of Orthopaedic Research**John Wiley and Sons Inc., , 1 jan. 2019.

BALDWIN, P. et al. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. **Journal of Orthopaedic Trauma**, v. 33, n. 4, p. 203–213, 1 abr. 2019.

BALOUL, S. S. Osteoclastogenesis and Osteogenesis during Tooth Movement. **Frontiers of Oral Biology**, v. 18, p. 75–79, 2015.

BANTAWAL, H.; SHENOY, U. S.; BHAT, D. K. Vanadium-Doped SrTiO₃ Nanocubes: Insight into role of vanadium in improving the photocatalytic activity. **Applied Surface Science**, v. 513, 30 maio 2020.

BARDESTANI, R.; PATIENCE, G. S.; KALIAGUINE, S. **Experimental methods in chemical engineering: specific surface area and pore size distribution measurements—BET, BJH, and DFT**. **Canadian Journal of Chemical Engineering**Wiley-Liss Inc., , 1 nov. 2019.

BAROU, O. et al. Relationships between trabecular bone remodeling and bone vascularization: A quantitative study. **Bone**, v. 30, n. 4, p. 604–612, abr. 2002.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4_{ts}, p. 493–496, 1 abr. 1966.

BAUER, S. et al. **Engineering biocompatible implant surfaces: Part I: Materials and surfaces**. **Progress in Materials Science**Elsevier Ltd, , 1 abr. 2013.

BECK, T. J. et al. Structural adaptation to changing skeletal load in the progression toward hip fragility: The study of osteoporotic fractures. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 16, n. 6, p. 1108–1119, 2 jun. 2001.

BELKLY, A. et al. New developments in the Inorganic Crystal Structure Database (ICSD): Accessibility in support of materials research and design. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science**, v. 58, n. 3 PART 1, p. 364–369, 29 jun. 2002.

BERTAZZO, S. et al. A simple method for enhancing cell adhesion to hydroxyapatite surface.

Clinical Oral Implants Research, v. 21, n. 12, p. 1411–1413, 1 dez. 2010.

BEZERRA, F. et al. Nano hydroxyapatite-blasted titanium surface affects pre-osteoblast morphology by modulating critical intracellular pathways. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 114, n. 8, p. 1888–1898, 1 ago. 2017.

BHATTACHARJEE, A. et al. Antibacterial and magnetic response of site-specific cobalt incorporated hydroxyapatite. **Ceramics International**, v. 46, n. 1, p. 513–522, 1 jan. 2020.

BIGHAM-SADEGH, A.; ORYAN, A. Basic concepts regarding fracture healing and the current options and future directions in managing bone fractures. **International Wound Journal**, v. 12, n. 3, p. 238–247, 1 jun. 2015.

BLUMENTHAL, N. M. et al. Defect-Determined Regenerative Options for Treating Periodontal Intrabony Defects in Baboons. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 1, p. 10–24, jan. 2003.

BOANINI, E. et al. Monetite vs. Brushite: Different Influences on Bone Cell Response Modulated by Strontium Functionalization. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 13, n. 2, p. 65, 24 maio 2022.

BOHNER, M. et al. Compositional changes of a dicalcium phosphate dihydrate cement after implantation in sheep. **Biomaterials**, v. 24, n. 20, p. 3463–3474, 1 set. 2003.

BOHNER, M. et al. Effect of thermal treatments on the reactivity of nanosized tricalcium phosphate powders. **Journal of Materials Chemistry**, v. 18, n. 37, p. 4460–4467, 2008.

BOHNER, M. Bone substitute materials. In: **Encyclopedia of Biomedical Engineering**. [s.l.] Elsevier, 2019. v. 1–3p. 513–529.

BORD, S. et al. Production of collagenase by human osteoblasts and osteoclasts in vivo. **Bone**, v. 19, n. 1, p. 35–40, jul. 1996.

BOSE, S.; ROY, M.; BANDYOPADHYAY, A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 10, p. 546–554, 2012.

BOSKEY, A. L.; ROBEY, P. G. The composition of bone. . 3 out. 2018, p. 84–92.

BOULER, J. M. et al. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response. **Acta Biomaterialia**, v. 53, p. 1–12, 2017.

BOYER, M. H.; SHAINOFF, J. R.; RATNOFF, O. D. **Acceleration of fibrin polymerization by calcium ions**. **Blood**, 1972. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5059648/>>

BRANDI, M. L.; COLLIN-OSDOBY, P. Vascular biology and the skeleton. . 1 fev. 2006, p. 183–192.

BRODBECK, W. G. et al. Influence of biomaterial surface chemistry on the apoptosis of adherent cells. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 55, n. 4, p. 661–668, 15 jun. 2001.

BROWN, O. et al. Sintering of biphasic calcium phosphates. **Journal of Materials Science:**

Materials in Medicine, v. 21, n. 8, p. 2271–2279, 16 ago. 2010.

CAMA, G. et al. A novel method of forming micro- and macroporous monetite cements.

Journal of Materials Chemistry B, v. 1, n. 7, p. 958–969, 23 jan. 2013.

CAMPANA, V. et al. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 10, p. 2445–2461, 20 set. 2014.

CAO, L. et al. Vascularization and bone regeneration in a critical sized defect using 2-N,6-O-sulfated chitosan nanoparticles incorporating BMP-2. **Biomaterials**, v. 35, n. 2, p. 684–698, jan. 2014.

CAPLAN, M. R.; SHAH, M. M. **Translating biomaterial properties to intracellular signaling**. **Cell Biochemistry and Biophysics**, jul. 2009.

CARDOSO, G. C. et al. Preparation and characterization of novel as-cast Ti-Mo-Nb alloys for biomedical applications. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 11874–11874, 1 dez. 2022.

CARREIRA, A. C. et al. Bone morphogenetic proteins: Facts, challenges, and future perspectives. **Journal of Dental Research**, v. 93, n. 4, p. 335–345, 2014.

CARREIRA, A. C. O. et al. Bone Morphogenetic Proteins: Promising Molecules for Bone Healing, Bioengineering, and Regenerative Medicine. In: **Vitamins and Hormones**. [s.l.] Academic Press Inc., 2015. v. 99p. 293–322.

CARRODEGUAS, R. G.; DE AZA, S. **α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications**. **Acta Biomaterialia** Elsevier Ltd, , out. 2011.

CASTRO-SILVA, I. I. et al. **Periosteal-derived cells for bone bioengineering: A promising candidate**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22221259/>>. Acesso em: 3 mar. 2023.

CATTI, M.; FERRARIS, G.; FILHOL, A. Hydrogen bonding in the crystalline state. CaHPO₄ (monetite), P1 or P1? A novel neutron diffraction study. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 33, n. 4, p. 1223–1229, 15 abr. 1977.

CATTI, M.; FERRARIS, G.; MASON, S. A. Low-temperature ordering of hydrogen atoms in CaHPO₄ (monetite): X-ray and neutron diffraction study at 145 K. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 36, n. 2, p. 254–259, 1 fev. 1980.

CHAI, F. et al. Biomaterials as bone substitute: Classification and contribution. **Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale**, v. 112, n. 4, p. 212–221, set. 2011.

CHANG, B.; LIU, X. **Osteon: Structure, Turnover, and Regeneration**. **Tissue Engineering - Part B: Reviews** Mary Ann Liebert Inc., , 1 abr. 2022.

CHEN, S. et al. Synthesis of Ag doped calcium phosphate particles and their antibacterial effect

as additives in dental glass ionomer cements. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 27, n. 11, 1 nov. 2016.

CHÉRIF, I. et al. X-Ray Diffraction Analysis by Modified Scherrer, Williamson–Hall and Size–Strain Plot Methods of ZnO Nanocrystals Synthesized by Oxalate Route: A Potential Antimicrobial Candidate Against Foodborne Pathogens. **Journal of Cluster Science**, p. 1–16, 6 mar. 2022.

CHIM, S. M. et al. Angiogenic factors in bone local environment. . jun. 2013, p. 297–310.

CHOI, I. H. et al. **Angiogenesis and mineralization during distraction osteogenesis**. **Journal of Korean medical science**, 2002.

CONSTANTZ, B. R. et al. Histological, chemical, and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit osseous sites. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 43, n. 4, p. 451–461, 1998.

COWIN, S. C. **Bone poroelasticity**. **Journal of Biomechanics** J Biomech, , mar. 1999.

CRUBEZY, E. et al. **False teeth of the Roman world [3]**. **Nature** Nature Publishing Group, , 1 jan. 1998.

CUPERSCHMID, E. M.; CAMPOS, T. P. R. DE. Os curiosos xenoimplantes glandulares do doutor Voronoff. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 14, n. 3, p. 737–760, set. 2007.

CZITROM, A. A. et al. **Bone and cartilage allotransplantation: A review of 14 years of research and clinical studies**. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, 1986.

DA COSTA FERNANDES, C. et al. Layered Double Hydroxides Are Promising Nanomaterials for Tissue Bioengineering Application. **Advanced Biosystems**, v. 3, n. 7, p. 1800238, 1 jul. 2019.

DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Zirconia stimulates ECM-remodeling as a prerequisite to pre-osteoblast adhesion/proliferation by possible interference with cellular anchorage. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 29, n. 4, 1 abr. 2018a.

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, n. February, p. 339–346, 1 dez. 2018b.

DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Metabolic effects of CoCr-enriched medium on shear-stressed endothelial cell and osteoblasts: A possible mechanism involving a hypoxic condition on bone healing. **Materials Science and Engineering C**, v. 128, p. 112353, 1 set. 2021a.

DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Metabolic effects of CoCr-enriched medium on shear-stressed endothelial cell and osteoblasts: A possible mechanism involving a hypoxic condition on bone healing. **Materials Science and Engineering C**, v. 128, p. 112353, 1 set. 2021b.

DA S. FELTRAN, G. et al. Differential inflammatory landscape stimulus during titanium

surfaces obtained osteogenic phenotype. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 107, n. 8, p. 1597–1604, 1 ago. 2019.

DA SILVA, R. A. et al. The Impact of Bioactive Surfaces in the Early Stages of Osseointegration: An in Vitro Comparative Study Evaluating the HAnano® and SLActive® Super Hydrophilic Surfaces. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.

DANG, M. et al. **Biomimetic delivery of signals for bone tissue engineering**. Bone Research Sichuan University, , 2018.

DE ALMEIDA, G. S. et al. Development of cobalt (Co)-doped monetites for bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 3, n. August, p. 1–12, 2023.

DE SOUZA MALASPINA, T. S. et al. A possible mechanism of low molecular weight protein tyrosine phosphatase (LMW-PTP) activity modulation by glutathione action during human osteoblast differentiation. **Archives of Oral Biology**, v. 54, n. 7, p. 642–650, 1 jul. 2009.

DENNE, W. A.; JONES, D. W. Neutron diffraction investigation of the hydrogen positions in the crystal structure of monetite, CaHPO_4 . **Journal of Crystal and Molecular Structure**, v. 1, n. 5, p. 347–354, out. 1971.

DESAI, T. R.; BHADURI, S. B.; TAS, A. C. A Self-Setting, Monetite (CaHPO_4) Cement for Skeletal Repair. In: [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2008. p. 61–69.

DICKENS, B.; BOWEN, J. S.; BROWN, W. E. A refinement of the crystal structure of CaHPO_4 (synthetic monetite). **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 797–806, 15 mar. 1972.

DIRCKX, N.; VAN HUL, M.; MAES, C. Osteoblast recruitment to sites of bone formation in skeletal development, homeostasis, and regeneration. **Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews**, v. 99, n. 3, p. 170–191, set. 2013.

DIVYA RANI, V. V. et al. Osseointegration of titanium implant is sensitive to specific nanostructure morphology. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 5, p. 1976–1989, 2012.

DJOŠIĆ, M. S. et al. Electrochemical synthesis of nanosized monetite powder and its electrophoretic deposition on titanium. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 341, n. 1–3, p. 110–117, 5 jun. 2009.

DOHAN EHRENFEST, D. M. et al. **Classification of osseointegrated implant surfaces: Materials, chemistry and topography**. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.12.003>>. Acesso em: 8 fev. 2023.

DOROZHKIN, S. V. Bioceramics based on calcium orthophosphates (Review). **Glass and Ceramics (English translation of Steklo i Keramika)**, v. 64, n. 11–12, p. 442–447, 2007.

DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphates: Occurrence, properties and major applications.

Apatite: Synthesis, Structural Characterization and Biomedical Applications, v. 4, n. 2, p. 1–47, 2014.

DUKLE, A. et al. Can 3D-Printed Bioactive Glasses Be the Future of Bone Tissue Engineering? **Polymers**, v. 14, n. 8, 18 abr. 2022.

DUNCAN, J. et al. **The role of the chemical composition of monetite on the synthesis and properties of α -tricalcium phosphate**. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493113005018?via%3Dihub>>. Acesso em: 13 jan. 2023.

DUNWOODIE, S. L. The role of hypoxia in development of the Mammalian embryo. **Developmental cell**, v. 17, n. 6, p. 755–773, dez. 2009.

EBRAHIMI, M.; BOTELHO, M. Biphasic calcium phosphates (BCP) of hydroxyapatite (HA) and tricalcium phosphate (TCP) as bone substitutes: Importance of physicochemical characterizations in biomaterials studies. **Data in Brief**, v. 10, p. 93–97, 2017.

ESHKAR-OREN, I. et al. The forming limb skeleton serves as a signaling center for limb vasculature patterning via regulation of Vegf. **Development (Cambridge, England)**, v. 136, n. 8, p. 1263–1272, abr. 2009.

FERNANDES, C. J. C. et al. Nano hydroxyapatite-blasted titanium surface creates a biointerface able to govern Src-dependent osteoblast metabolism as prerequisite to ECM remodeling. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 163, p. 321–328, 1 mar. 2018.

FERNANDES, C. J. DA C. et al. Mechanosignaling-related angiocrine factors drive osteoblastic phenotype in response to zirconia. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 81, p. 127337, 1 jan. 2023.

FERNANDES, G. V. O. et al. Osteoblast adhesion dynamics: A possible role for ROS and LMW-PTP. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 115, n. 6, p. 1063–1069, 2014.

FERREIRA, M. R. et al. OsteoBLAST: Computational Routine of Global Molecular Analysis Applied to Biomaterials Development. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 565901, 8 out. 2020.

FINE, N. et al. Differential response of human blood leukocytes to brushite, monetite, and calcium polyphosphate biomaterials. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 108, n. 1, p. 253–262, 22 jan. 2020.

FISCHER, C. et al. FLT1 and its ligands VEGFB and PlGF: drug targets for anti-angiogenic therapy? **Nature reviews. Cancer**, v. 8, n. 12, p. 942–956, dez. 2008.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. **Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells**. **BioMed Research International** Hindawi Publishing Corporation, , 2015.

GALEA, L. G. et al. Bone substitute: Transforming β -tricalcium phosphate porous scaffolds into monetite. **Biomaterials**, v. 29, n. 24–25, p. 3400–3407, 1 ago. 2008.

GAO, C. et al. Bone biomaterials and interactions with stem cells. **Bone Research**, v. 5, p. 17059, 21 dez. 2017.

GARCÍA-GARETA, E.; COATHUP, M. J.; BLUNN, G. W. **Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration**. Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26163110/>>. Acesso em: 7 jan. 2023.

GARCÍA, A. J.; KESELOWSKY, B. G. **Biomimetic surfaces for control of cell adhesion to facilitate bone formation**. **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**, 2002.

GARLANDA, C.; DINARELLO, C. A.; MANTOVANI, A. **The Interleukin-1 Family: Back to the Future**. **Immunity**, 12 dez. 2013.

GBURECK, U. et al. Resorbable Dicalcium Phosphate Bone Substitutes Prepared by 3D Powder Printing. **Advanced Functional Materials**, v. 17, n. 18, p. 3940–3945, 17 dez. 2007.

GEMINI-PIPERNI, S. et al. Cellular behavior as a dynamic field for exploring bone bioengineering: A closer look at cell-biomaterial interface. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 561, p. 88–98, 2014a.

GEMINI-PIPERNI, S. et al. Cellular behavior as a dynamic field for exploring bone bioengineering: A closer look at cell-biomaterial interface. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 561, p. 88–98, 1 nov. 2014b.

GERBER, H. P.; FERRARA, N. Angiogenesis and bone growth. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 10, n. 5, p. 223–228, jul. 2000.

GERSTENFELD, L. C. et al. Fracture healing as a post-natal developmental process: Molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 88, n. 5, p. 873–884, 1 abr. 2003.

GHINA IMANIYYAH, A.; SUNARSO; HERDA, E. Monetite as a potential ideal bone substitute: A short review on fabrication and properties. **Materials Today: Proceedings**, v. 66, p. 2762–2766, 1 jan. 2022.

GIACCIA, A. J.; SIMON, M. C.; JOHNSON, R. The biology of hypoxia: The role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. . 15 set. 2004, p. 2183–2194.

GINEBRA, M. P. et al. New processing approaches in calcium phosphate cements and their applications in regenerative medicine. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 8, p. 2863–2873, 2010.

GIORI, N. J.; BEAUPRE, G. S. Femoral fracture after harvesting of autologous bone graft using a reamer/irrigator/aspirator. **Journal of Orthopaedic Trauma**, v. 25, n. 2, p. e12–e14, 2011.

GOLDBERG, V. M. **The biology of bone grafts**. Disponível em:
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10148544/>>. Acesso em: 7 jan. 2023.

GOLDBERG, V. M.; STEVENSON, S. Natural history of autografts and allografts. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 225, p. 7–16, 1987.

GOMES, A. M. et al. Nanohydroxyapatite-Coated Titanium Surface Increases Vascular Endothelial Cells Distinct Signaling Responding to High Glucose Concentration. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 4, p. 188, 2023.

GOMES, O. P. et al. A novel BSA immobilizing manner on modified titanium surface ameliorates osteoblast performance. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 190, p. 110888, 1 fev. 2020.

GRIFFONI, C. et al. Ceramic bone graft substitute (Mg-HA) in spinal fusion: A prospective pilot study. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 10, p. 1050495, 2022.

GROEN, N. et al. Exploring the Material-Induced Transcriptional Landscape of Osteoblasts on Bone Graft Materials. **Advanced Healthcare Materials**, v. 4, n. 11, p. 1691–1700, 1 ago. 2015.

GROSSARDT, C. et al. Passive and active in vitro resorption of calcium and magnesium phosphate cements by osteoclastic cells. **Tissue Engineering - Part A**, v. 16, n. 12, p. 3687–3695, 1 dez. 2010.

GUO, H. et al. Quantitative phase analyses of biomedical pyrophosphate-bearing monetite and brushite cements by solid-state NMR and powder XRD. **Ceramics International**, v. 46, n. 8, p. 11000–11012, 1 jun. 2020.

GUTFLEISCH, O. **Peg legs and bionic limbs: The development of lower extremity prosthetics. Interdisciplinary Science Reviews** Taylor & Francis, , jun. 2003.

HABIBOVIC, P. et al. Osteoconduction and osteoinduction of low-temperature 3D printed bioceramic implants. **Biomaterials**, v. 29, n. 7, p. 944–953, 1 mar. 2008.

HABIBOVIC, P.; DE GROOT, K. **Osteoinductive biomaterials - properties and relevance in bone repair. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine** John Wiley and Sons Ltd, , 2007.

HABRAKEN, W. et al. Calcium phosphates in biomedical applications: Materials for the future? **Materials Today**, v. 19, n. 2, p. 69–87, 1 mar. 2016.

HAIDER, A. et al. **Recent advances in the synthesis, functionalization and biomedical applications of hydroxyapatite: a review. RSC Advances**, 2017.

HAMADA, K. et al. Hydrothermal modification of titanium surface in calcium solutions. **Biomaterials**, v. 23, n. 10, p. 2265–2272, 2002.

HAMLET, S. et al. The effect of hydrophilic titanium surface modification on macrophage inflammatory cytokine gene expression. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, n. 5, p. 584–590, maio 2012.

HAMLET, S. M. et al. Hydrophilic titanium surface-induced macrophage modulation promotes

pro-osteogenic signalling. **Clinical Oral Implants Research**, v. 30, n. 11, p. 1085–1096, 1 nov. 2019.

HAN, K.; CHEN, X. THE ARCHAEOLOGICAL EVIDENCE OF TREPANATION IN EARLY CHINA. **Bulletin of the Indo-Pacific Prehistory Association**, v. 27, n. 0, p. 22–27, 5 set. 2007.

HANKENSON, K. D. et al. Angiogenesis in bone regeneration. **Injury**, v. 42, n. 6, p. 556–561, 2011.

HARADA, S. I.; RODAN, G. A. **Control of osteoblast function and regulation of bone mass.** **Nature** Nature, , 15 maio 2003.

HARTREE, E. F. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry**, v. 48, n. 2, p. 422–427, 1972.

HAUGE, E. M. et al. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 16, n. 9, p. 1575–1582, set. 2001.

HAUGEN, H. J. et al. Bone grafts: which is the ideal biomaterial? **Journal of Clinical Periodontology**, v. 46, n. S21, p. 92–102, 2019.

HAUL, R. S. J. Gregg, K. S. W. Sing: Adsorption, Surface Area and Porosity. 2. Auflage, Academic Press, London 1982. 303 Seiten. **Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie**, v. 86, n. 10, p. 957–957, 1 out. 1982.

HAYASHI, K. Three-dimensional organization of the cartilage canal--a scanning electron-microscopic study by vascular cast of the rabbit's femoral head. **Nihon Seikeigeka Gakkai zasshi**, v. 66, n. 5, maio 1992.

HE, X. et al. BMP2 genetically engineered MSCs and EPCs promote vascularized bone regeneration in rat critical-sized calvarial bone defects. **PloS one**, v. 8, n. 4, p. e60473, 2013.

HELLENBRANDT, M. **The inorganic crystal structure database (ICSD) - Present and future.** Crystallography Reviews. **Anais...** Taylor & Francis, jan. 2004.

HENCH, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487–1510, 1991.

HENRIKSEN, K. et al. Local communication on and within bone controls bone remodeling. **Bone**, v. 44, n. 6, p. 1026–1033, jun. 2009.

HILDEBRAND, H. F. Biomaterials - a history of 7000 years. **BioNanoMaterials**, v. 14, n. 3–4, p. 119–133, 2013.

HLEL, F.; KAMOUN, S.; GUIDARA, K. Investigation of Phosphorus Site Condensation in CaHPO₄ by Analysis of ³¹P MAS-NMR Tensor and X-Ray Powder Patterns. **Zeitschrift für Naturforschung - Section A Journal of Physical Sciences**, v. 61, n. 7–8, p. 375–382, 1 ago.

2006.

HOLZWARTH, J. M.; MA, P. X. **Biomimetic nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials**, 2011.

HOU, X. et al. Calcium Phosphate-Based Biomaterials for Bone Repair. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 13, n. 4, p. 187, 14 out. 2022.

HUEBSCH, N.; MOONEY, D. J. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. . 26 nov. 2009, p. 426–432.

HUNG, S. P. et al. Hypoxia promotes proliferation and osteogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 30, n. 2, p. 260–266, fev. 2012.

HURLE, K. et al. Osteogenic lithium-doped brushite cements for bone regeneration. **Bioactive Materials**, 31 dez. 2021.

IAQUINTA, M. R. et al. Innovative biomaterials for bone regrowth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 3, p. 1–17, 2019.

IDOWU, B. et al. In vitro osteoinductive potential of porous monetite for bone tissue engineering. **Journal of Tissue Engineering**, v. 5, 17 jan. 2014.

IMAI, K. et al. Selective transendothelial migration of hematopoietic progenitor cells: a role in homing of progenitor cells. **Blood**, v. 93, n. 1, p. 149–156, jan. 1999.

ITKIN, T. et al. Distinct bone marrow blood vessels differentially regulate haematopoiesis. **Nature**, v. 532, n. 7599, p. 323–328, 21 abr. 2016.

IVAN, M. et al. HIFalpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O2 sensing. **Science (New York, N.Y.)**, v. 292, n. 5516, p. 464–468, abr. 2001.

JAAKKOLA, P. et al. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O2-regulated prolyl hydroxylation. **Science (New York, N.Y.)**, v. 292, n. 5516, p. 468–472, abr. 2001.

JACOBSEN, K. A. et al. Bone formation during distraction osteogenesis is dependent on both VEGFR1 and VEGFR2 signaling. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 23, n. 5, p. 596–609, maio 2008.

JANG, H. J. et al. Effect of various shaped magnesium hydroxide particles on mechanical and biological properties of poly(lactic-co-glycolic acid) composites. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 59, p. 266–276, 2018.

JEONG, J. et al. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. **Biomaterials Research**, v. 23, n. 1, p. 4, dez. 2019.

JINAWATH, S. et al. Hydrothermal synthesis of monetite and hydroxyapatite from monocalcium phosphate monohydrate. **International Journal of Inorganic Materials**, v. 3, n.

7, p. 997–1001, 1 nov. 2001.

JONES, D. W.; CRUICKSHANK, D. W. J. The crystal structures of two calcium orthophosphates: CaHPO_4 and $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. **Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials**, v. 116, n. 1–6, p. 101–125, 1 dez. 1961.

JONITZ-HEINCKE et al. Analysis of Cellular Activity Short-Term Exposure to Cobalt and Chromium Ions in Mature Human Osteoblasts. **Materials**, v. 12, n. 17, p. 2771, 28 ago. 2019.

KANAZAWA, I. et al. Metformin enhances the differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells via AMP kinase activation as well as eNOS and BMP-2 expression.

Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 375, n. 3, p. 414–419, 24 out. 2008.

KANCZLER, J. M.; OREFFO, R. O. C. Osteogenesis and angiogenesis: The potential for engineering bone. . maio 2008, p. 100–114.

KANG, H. R. et al. Mg–Al and Zn–Al Layered Double Hydroxides Promote Dynamic Expression of Marker Genes in Osteogenic Differentiation by Modulating Mitogen-Activated Protein Kinases. **Advanced Healthcare Materials**, v. 7, n. 4, p. 1–12, 21 fev. 2018.

KAO, S. T.; SCOTT, D. D. **A Review of Bone Substitutes. Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, nov. 2007.

KARSENTY, G. How many factors are required to remodel bone? . set. 2000 a, p. 970–971.

KARSENTY, G. **How many factors are required to remodel bone? Nature medicine** United States, set. 2000b.

KARSENTY, G.; FERRON, M. The contribution of bone to whole-organism physiology. **Nature**, v. 481, n. 7381, p. 314–320, jan. 2012.

KARSENTY, G.; KRONENBERG, H. M.; SETTEMBRE, C. Genetic control of bone formation. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 25, p. 629–648, 2009.

KAYGILI, O. et al. Preparation and characterization of monetites co-doped with Ni/Al, Ni/Mn and Al/Mn. **Materials Letters**, v. 201, p. 39–42, 15 ago. 2017.

KEITH, B.; JOHNSON, R. S.; SIMON, M. C. HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. **Nature reviews. Cancer**, v. 12, n. 1, p. 9–22, dez. 2011.

KIM, D. H. et al. Prospective study of iliac crest bone graft harvest site pain and morbidity. **Spine Journal**, v. 9, n. 11, p. 886–892, 2009.

KIM, M. et al. PCL infiltration into a BCP Scaffold Strut to improve the mechanical strength while retaining other properties. **Korean Journal of Materials Research**, v. 20, n. 6, p. 331–337, 2010.

KIM, S. E. et al. Accelerated Osteogenic Differentiation of MC3T3-E1 Cells by Lactoferrin-

Conjugated Nanodiamonds through Enhanced Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Effects. **Nanomaterials**, v. 10, n. 1, p. 50, 24 dez. 2019.

KLAMMERT, U. et al. Cytocompatibility of brushite and monetite cell culture scaffolds made by three-dimensional powder printing. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 2, p. 727–734, 1 fev. 2009.

KLAMMERT, U. et al. 3D powder printed calcium phosphate implants for reconstruction of cranial and maxillofacial defects. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 38, n. 8, p. 565–570, 1 dez. 2010.

KO, C.-L. et al. Osteoregenerative capacities of dicalcium phosphate-rich calcium phosphate bone cement. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 103, n. 1, p. 203–210, 1 jan. 2015.

KOBAYASHI, Y.; UDAGAWA, N.; TAKAHASHI, N. **Action of RANKL and OPG for osteoclastogenesis. Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression** Begell House Inc., , 2009.

KOJU, N. et al. **Biomimetic coating technology for orthopedic implants. Current Opinion in Chemical Engineering** Elsevier Ltd, , 1 fev. 2017.

KOMORI, T. Regulation of proliferation, differentiation and functions of osteoblasts by runx2. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1694, 4 abr. 2019.

KOSTENUIK, P.; MIRZA, F. M. Fracture healing physiology and the quest for therapies for delayed healing and nonunion. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 35, n. 2, p. 213–223, 1 fev. 2017.

KRAMER, E.; ITZKOWITZ, E.; WEI, M. Synthesis and characterization of cobalt-substituted hydroxyapatite powders. **Ceramics International**, v. 40, p. 13471–13480, 1 set. 2014.

KULANTHAIVEL, S. et al. Improving the osteogenic and angiogenic properties of synthetic hydroxyapatite by dual doping of bivalent cobalt and magnesium ion. **Ceramics International**, v. 41, n. 9, p. 11323–11333, 1 nov. 2015.

KURODA, K. et al. Preparation of Calcium Phosphate Coatings on Titanium Using the Thermal Substrate Method and Their <i>in vitro</i> Evaluation. **MATERIALS TRANSACTIONS**, v. 43, n. 12, p. 3015–3019, 2002.

KUSUMBE, A. P.; ADAMS, R. H. Osteoclast progenitors promote bone vascularization and osteogenesis. . 1 nov. 2014, p. 1238–1240.

KUSUMBE, A. P.; RAMASAMY, S. K.; ADAMS, R. H. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. **Nature**, v. 507, n. 7492, p. 323–328, 12 mar. 2014.

LAD, S. E.; MCGRAW, W. S.; DAEGELING, D. J. Haversian remodeling corresponds to load frequency but not strain magnitude in the macaque (*Macaca fascicularis*) skeleton. **Bone**, v. 127,

p. 571–576, 1 out. 2019.

LAROCHE, M. Intraosseous circulation from physiology to disease. **Joint, bone, spine : revue du rhumatisme**, v. 69, n. 3, maio 2002.

LE GUÉHENNEC, L. et al. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**, v. 23, n. 7, p. 844–854, jul. 2007.

LE NOBLE, F.; LE NOBLE, J. Bone biology: Vessels of rejuvenation. . mar. 2014, p. 313–314.

LEBUGLE, A.; SALLEK, B.; TAI TAI, A. Surface modification of monetite in water at 37 °C: Characterisation by XPS. **Journal of Materials Chemistry**, v. 9, n. 10, p. 2511–2515, 1 jan. 1999.

LEDFORD, C. K. et al. Bovine xenograft failures in pediatric foot reconstructive surgery. **Journal of Pediatric Orthopaedics**, v. 33, n. 4, p. 458–463, jun. 2013.

LEE, Y. C. et al. **Comparing the osteogenic potentials and bone regeneration capacities of bone marrow and dental pulp mesenchymal stem cells in a rabbit calvarial bone defect model**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31658685/>>. Acesso em: 7 jan. 2023.

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 alpha. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1094, n. 1, p. 8–18, ago. 1991.

LEI, B. et al. **Hybrid polymer biomaterials for bone tissue regeneration**. **Frontiers of Medicine** Higher Education Press, , 1 abr. 2019.

LI, J.; WANG, H.-M. M. **Effects of cobalt chloride on phenotypes of normal human saphenous vein smooth muscle cells**. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4307437/>>. Acesso em: 13 nov. 2019.

LIANG, K. C. et al. Interleukin-1 β induces MMP-9 expression via p42/p44 MAPK, p38 MAPK, JNK, and nuclear factor- κ B signaling pathways in human tracheal smooth muscle cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 211, n. 3, p. 759–770, jun. 2007.

LIEBERMAN, J. R.; FRIEDLAENDER, G. E. **Bone regeneration and repair: Biology and clinical applications**. [s.l.] Humana Press, 2005.

LIN, W. C. et al. A comparative study on the direct and pulsed current electrodeposition of cobalt-substituted hydroxyapatite for magnetic resonance imaging application. **Materials**, v. 12, n. 1, p. 116, 31 dez. 2018.

LING, L. E. et al. The effect of calcium phosphate composite scaffolds on the osteogenic differentiation of rabbit dental pulp stem cells. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 103, n. 5, p. 1732–1745, 1 maio 2015.

LIU, W. C. et al. **Angiogenesis Assays for the Evaluation of Angiogenic Properties of**

Orthopaedic Biomaterials – A General Review. Advanced Healthcare MaterialsWiley-VCH Verlag, , 8 mar. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28135051/>>. Acesso em: 20 jun. 2021

LOUATI, B. et al. Analysis of the effects of thermal treatments on CaHPO₄ by ³¹P NMR spectroscopy. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 394, n. 1–2, p. 13–18, 17 maio 2005.

MA, P. X. **Biomimetic materials for tissue engineering. Advanced Drug Delivery Reviews**, 2008.

MACEDO, F. et al. Bone metastases: an overview. **Oncology Reviews**, v. 11, n. 1, 9 maio 2017.

MACHADO, M. I. P. et al. Cobalt-chromium-enriched medium ameliorates shear-stressed endothelial cell performance. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 54, n. April, p. 163–171, 1 jul. 2019.

MACHADO, M. I. P.; GOMES, A. M.; ZAMBUZZI, W. F. Hypoxia modulates the phenotype of mechanically stressed endothelial cells responding to CoCr-enriched medium. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 82, p. 127341, 1 mar. 2024.

MACLENNAN, G.; BEEVERS, C. A. The crystal structure of dicalcium phosphate, CaHPO₄. **Acta Crystallographica**, v. 8, n. 9, p. 579–583, 1 set. 1955.

MADL, A. K. et al. **Toxicology of wear particles of cobalt-chromium alloy metal-on-metal hip implants Part I: Physicochemical properties in patient and simulator studies. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**Elsevier Inc., , 1 jul. 2015.

MAES, C. et al. Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels. **Developmental cell**, v. 19, n. 2, p. 329–344, ago. 2010.

MAES, C. Role and regulation of vascularization processes in endochondral bones. **Calcified tissue international**, v. 92, n. 4, p. 307–323, abr. 2013.

MAES, C.; CARMELIET, G.; SCHIPANI, E. Hypoxia-driven pathways in bone development, regeneration and disease. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 8, n. 6, p. 358–366, mar. 2012.

MAIA, F. R. et al. Recent approaches towards bone tissue engineering. **Bone**, v. 154, p. 116256, 1 jan. 2022.

MANOLAGAS, S. C. Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis*. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 2, p. 115–137, 1 abr. 2000.

MARSELL, R.; EINHORN, T. A. The biology of fracture healing. **Injury**, v. 42, n. 6, p. 551–555, 2011.

MARTIN, T. J.; SEEMAN, E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility. **Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism**, v. 22, n. 5, p. 701–

722, out. 2008.

MARTINO, M. M. et al. **Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for bone regeneration. Advanced Drug Delivery Reviews**, 2015. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X15000630>>

MATTA, C. et al. Osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells is enhanced by an aragonite scaffold. **Differentiation**, v. 107, p. 24–34, 1 maio 2019.

MENZIES, K. L.; JONES, L. The Impact of Contact Angle on the Biocompatibility of Biomaterials. **Optometry and Vision Science**, v. 87, n. 6, p. 387–399, jun. 2010.

MESQUITA, C. S. et al. Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. **Analytical Biochemistry**, v. 458, p. 69–71, 1 ago. 2014.

MINE, Y. et al. Involvement of ERK and p38 MAPK pathways on interleukin-33-induced RANKL expression in osteoblastic cells. **Cell Biology International**, v. 38, n. 5, p. 655–662, maio 2014.

MINOZZI, S. et al. **A Gold Dental Prosthesis of Roman Imperial Age. American Journal of Medicine** Am J Med, , maio 2007.

MIRTCHI, A. A.; LEMAITRE, J.; TERAQ, N. Calcium phosphate cements: study of the β -tricalcium phosphate - monocalcium phosphate system. **Biomaterials**, v. 10, n. 7, p. 475–480, 1989.

MOEINZADEH, S.; JABBARI, E. Morphogenic peptides in regeneration of load bearing tissues. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology**. [s.l.] Springer New York LLC, 2015. v. 881p. 95–110.

MOIRANGTHEM, R. D. et al. Hypoxic niche-mediated regeneration of hematopoiesis in the engraftment window is dominantly affected by oxygen tension in the milieu. **Stem Cells and Development**, v. 24, n. 20, p. 2423–2436, 15 out. 2015.

MONTAZEROLGHAEM, M. et al. Resorption of monetite calcium phosphate cement by mouse bone marrow derived osteoclasts. **Materials Science and Engineering C**, v. 52, p. 212–218, 1 jul. 2015.

MOTAMENI, A.; ALSHEMARY, A. Z.; EVIS, Z. A review of synthesis methods, properties and use of monetite cements as filler for bone defects. **Ceramics International**, v. 47, n. 10, p. 13245–13256, 15 maio 2021.

MOUNTZIARIS, P. M.; MIKOS, A. G. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. **Tissue engineering. Part B, Reviews**, v. 14, n. 2, p. 179–186, jun. 2008.

MUÑOZ-SÁNCHEZ, J.; CHÁNEZ-CÁRDENAS, M. E. The use of cobalt chloride as a

chemical hypoxia model. **Journal of Applied Toxicology**, v. 39, n. 4, p. 556–570, 1 abr. 2019.

NASCIMENTO, A. S. et al. Phosphoproteome profiling reveals critical role of JAK-STAT signaling in maintaining chemoresistance in breast cancer. **Oncotarget**, v. 8, n. 70, p. 114756–114768, 29 dez. 2017.

NATH, D.; SINGH, F.; DAS, R. X-ray diffraction analysis by Williamson-Hall, Halder-Wagner and size-strain plot methods of CdSe nanoparticles- a comparative study. **Materials Chemistry and Physics**, v. 239, p. 122021–122029, 1 jan. 2020.

NAVARRO DA ROCHA, D. et al. Bioactivity of strontium-monetite coatings for biomedical applications. **Ceramics International**, v. 45, n. 6, p. 7568–7579, 15 abr. 2019.

OSATHANON, T. et al. Cobalt chloride supplementation induces stem-cell marker expression and inhibits osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 1, p. 29–36, 1 jan. 2014.

PALUMBO, C.; FERRETTI, M.; DE POL, A. Apoptosis during intramembranous ossification. **Journal of Anatomy**, v. 203, n. 6, p. 589–598, dez. 2003.

PAPE, H. C.; EVANS, A.; KOBBE, P. **Autologous bone graft: Properties and techniques**. **Journal of Orthopaedic Trauma**, 2010.

PARISI, L. et al. Titanium dental implants hydrophilicity promotes preferential serum fibronectin over albumin competitive adsorption modulating early cell response. **Materials Science and Engineering C**, v. 117, p. 111307, 1 dez. 2020.

PASCHOS, N. K. et al. Advances in tissue engineering through stem cell-based co-culture. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 9, n. 5, p. 488–503, maio 2015.

PERCIVAL, C. J.; RICHTSMEIER, J. T. Angiogenesis and intramembranous osteogenesis. . 1 ago. 2013, p. 909–922.

PINTO, T. S. et al. Nanohydroxyapatite-Blasted Bioactive Surface Drives Shear-Stressed Endothelial Cell Growth and Angiogenesis. **BioMed Research International**, v. 2022, 2022.

POUYSEGUR, J.; DAYAN, F.; MAZURE, N. M. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. **Nature**, v. 441, n. 7092, p. 437–443, maio 2006.

PRADO DA SILVA, M. H. et al. Transformation of monetite to hydroxyapatite in bioactive coatings on titanium. **Surface and Coatings Technology**, v. 137, n. 2–3, p. 270–276, 15 mar. 2001.

PREETHI SOUNDARYA, S. et al. Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 1228–1239, 1 nov. 2018.

PRIDEAUX, M. et al. Extracellular matrix mineralization promotes E11/gp38 glycoprotein expression and drives osteocytic differentiation. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 7 maio 2012.

RABIEI, M. et al. Comparing methods for calculating nano crystal size of natural hydroxyapatite using X-ray diffraction. **Nanomaterials**, v. 10, n. 9, p. 1–21, 1 set. 2020.

RAHMAN, M. A. **Understanding of doping sites and versatile applications of heteroatom modified BaTiO₃ ceramic**. **Journal of Asian Ceramic Societies** Taylor and Francis Ltd., , 3 abr. 2023.

RAMASAMY, S. K. et al. Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone. **Nature**, v. 507, n. 7492, p. 376–380, 12 mar. 2014.

RAMASAMY, S. K. et al. Regulation of Hematopoiesis and Osteogenesis by Blood Vessel – Derived Signals. 2016a.

RAMASAMY, S. K. et al. Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis. **Nature Communications**, v. 7, 6 dez. 2016b.

RAMASAMY, S. K.; KUSUMBE, A. P.; ADAMS, R. H. Regulation of tissue morphogenesis by endothelial cell-derived signals. . 1 mar. 2015, p. 148–157.

RATNER, B. D.; BRYANT, S. J. Biomaterials: Where we have been and where we are going. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 41–75, 15 ago. 2004.

RATNER, B. D.; ZHANG, G. **A History of Biomaterials** **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. [s.l.] Elsevier, 1 jan. 2013. Disponível em: <<http://www.tup.tsinghua.edu.cn/upload/books/yz/013996-01.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

RAU, J. V. et al. Sic Parvis Magna: Manganese-Substituted Tricalcium Phosphate and Its Biophysical Properties. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, p. 6632–6644, 2019.

RAVINDRAN, S.; GEORGE, A. Multifunctional ECM proteins in bone and teeth. **Experimental cell research**, v. 325, n. 2, p. 148–154, jul. 2014.

REZZA, A.; SENNETT, R.; RENDL, M. Adult Stem Cell Niches. Cellular and Molecular Components. **Current Topics in Developmental Biology**, v. 107, p. 333–372, 2014.

RH. OWEN, G.; DARD, M.; LARJAVA, H. **Hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate biphasic ceramics as regenerative material for the repair of complex bone defects**. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials** John Wiley and Sons Inc., , 1 ago. 2018.

ROBINTON, D. A.; DALEY, G. Q. The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. **Nature**, v. 481, n. 7381, p. 295–305, jan. 2012.

ROSSI, M. C. et al. Titanium-released from dental implant enhances pre-osteoblast adhesion by ROS modulating crucial intracellular pathways. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 105, n. 11, p. 2968–2976, 1 nov. 2017.

RUNYAN, C. M.; GABRICK, K. S. Biology of bone formation, fracture healing, and distraction osteogenesis. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 28, n. 5, p. 1380–1389, 1 jul. 2017.

RUTKOVSKIY, A.; STENSLØKKEN, K.-O.; VAAGE, I. J. Osteoblast Differentiation at a Glance. **Medical Science Monitor Basic Research**, v. 22, p. 95–106, 26 set. 2016.

RYU, H. S. et al. An improvement in sintering property of β -tricalcium phosphate by addition of calcium pyrophosphate. **Biomaterials**, v. 23, n. 3, p. 909–914, 1 fev. 2002.

SADOWSKA, J. M. et al. The effect of biomimetic calcium deficient hydroxyapatite and sintered β -tricalcium phosphate on osteoimmune reaction and osteogenesis. **Acta biomaterialia**, 30 jun. 2019.

SALGADO, A. J.; COUTINHO, O. P.; REIS, R. L. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. **Macromolecular bioscience**, v. 4, n. 8, p. 743–765, ago. 2004.

SALIMI, E.; JAVADPOUR, J. Synthesis and characterization of nanoporous monetite which can be applicable for drug carrier. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, 2012.

SANDERS, R. **Bone graft substitutes: Separating fact from fiction**. **Journal of Bone and Joint Surgery** Journal of Bone and Joint Surgery Inc., , 2007.

SANTOS, M. I.; REIS, R. L. Vascularization in bone tissue engineering: Physiology, current strategies, major hurdles and future challenges. . 11 jan. 2010, p. 12–27.

SANTOS, P. L. et al. Bone substitutes for peri-implant defects of postextraction implants. **International journal of biomaterials**, v. 2013, p. 307136, 2013.

SARAN, U.; GEMINI PIPERNI, S.; CHATTERJEE, S. Role of angiogenesis in bone repair. . 1 nov. 2014, p. 109–117.

SCHATZ, P. **Bone Formation and Development, Anatomy and Physiology**. Disponível em: <<https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/6-4-bone-formation-and-development/%0Ahttps://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/6-4-bone-formation-and-development/%0Ahttp://philschatz.com/anatomy-book/contents/m46301.html>>. Acesso em: 4 jan. 2023.

SCHIPANI, E. et al. Regulation of osteogenesis-angiogenesis coupling by HIFs and VEGF. . 1 ago. 2009, p. 1347–1353.

SCOTLANDI, K. et al. Murine model for skeletal metastases of Ewing’s sarcoma. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 18, n. 6, p. 959–966, nov. 2000.

SEMAN, R. N. A. R.; AZAM, M. A.; MOHAMED, M. A. Highly efficient growth of vertically aligned carbon nanotubes on Fe-Ni based metal alloy foils for supercapacitors. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 7, n. 4, 1 dez. 2016.

SEMENZA, G. L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. . 3 fev. 2012, p. 399–408.

SEN, M. K.; MICLAU, T. Autologous iliac crest bone graft: Should it still be the gold standard for treating nonunions? **Injury**, v. 38, n. SUPPL. 1, p. S75–S80, 2007.

SHADANBAZ, S. et al. Monetite and brushite coated magnesium: In vivo and in vitro models for degradation analysis. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 1, p. 173–183, 1 jan. 2014.

SHAH, F. A. et al. Bone without borders – Monetite-based calcium phosphate guides bone formation beyond the skeletal envelope. **Bioactive Materials**, v. 19, p. 103–114, 1 jan. 2023.

SHEEN, J. R.; GARLA, V. V. **Fracture Healing Overview**. [s.l.] StatPearls Publishing, 2019.

SHEIKH, Z. et al. Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications. **Materials**, v. 8, n. 9, p. 5744–5794, 2015a.

SHEIKH, Z. et al. Mechanisms of in vivo degradation and resorption of calcium phosphate based biomaterials. **Materials**, v. 8, n. 11, p. 7913–7925, 2015b.

SHEIKH, Z. et al. In vitro degradation and in vivo resorption of dicalcium phosphate cement based grafts. **Acta Biomaterialia**, v. 26, p. 338–346, 15 out. 2015c.

SHEIKH, Z. et al. Controlling Bone Graft Substitute Microstructure to Improve Bone Augmentation. **Advanced Healthcare Materials**, v. 5, n. 13, p. 1646–1655, 6 jul. 2016.

SHEIKH, Z. et al. Effect of processing conditions of dicalcium phosphate cements on graft resorption and bone formation. **Acta Biomaterialia**, v. 53, p. 526–535, 15 abr. 2017.

SHI, X. et al. Preparation of Dicalcium Phosphate Anhydrous (Monetite) Biological Coating on Titanium by Spray-Drying Method. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2017, 2017.

SHIBUYA, N.; JUPITER, D. C. **Bone Graft Substitute: Allograft and Xenograft**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25440415/>>. Acesso em: 7 jan. 2023.

SHIH, Y.-R. V et al. Calcium phosphate-bearing matrices induce osteogenic differentiation of stem cells through adenosine signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 3, p. 990–995, jan. 2014.

SHIN, H.; JO, S.; MIKOS, A. G. **Biomimetic materials for tissue engineering**. **Biomaterials** Elsevier BV, , 2003.

SHIN, S. R. et al. Graphene-based materials for tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 105, p. 255–274, 2016.

SHOMENTO, S. H. et al. Hypoxia-inducible factors 1 α and 2 α exert both distinct and overlapping functions in long bone development. **Journal of cellular biochemistry**, v. 109, n. 1, p. 196–204, jan. 2010.

SIKDER, P. et al. Development of single-phase silver-doped antibacterial CDHA coatings on Ti6Al4V with sustained release. **Surface and Coatings Technology**, v. 342, p. 105–116, 25 maio 2018a.

SIKDER, P. et al. Single-Phase, Antibacterial Trimagnesium Phosphate Hydrate Coatings on

Polyetheretherketone (PEEK) Implants by Rapid Microwave Irradiation Technique. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 4, n. 8, p. 2767–2783, 13 ago. 2018b.

SIMS, N. A.; GOOI, J. H. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. . out. 2008, p. 444–451.

SINUSAITTE, L. et al. Controllable synthesis of tricalcium phosphate (TCP) polymorphs by wet precipitation: Effect of washing procedure. **Ceramics International**, v. 45, n. 9, p. 12423–12428, 15 jun. 2019.

SIONKOWSKA, A.; KACZMAREK, B. Preparation and characterization of composites based on the blends of collagen, chitosan and hyaluronic acid with nano-hydroxyapatite. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 658–666, 1 set. 2017.

SPANGENBERG, A. et al. Bone Mineral Density and Body Composition are Associated with Circulating Angiogenic Factors in Post-menopausal Women. **Calcified Tissue International**, v. 99, n. 6, p. 608–615, 1 dez. 2016.

STEGEN, S.; VAN GASTEL, N.; CARMELIET, G. Bringing new life to damaged bone: The importance of angiogenesis in bone repair and regeneration. **Bone**, v. 70, p. 19–27, 1 jan. 2015.

STEVENS, M. M. et al. In vivo engineering of organs: The bone bioreactor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 32, p. 11450–11455, 2005.

STREET, J. et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 15, p. 9656–9661, 23 jul. 2002.

SUNTERS, A. et al. Mechano-transduction in osteoblastic cells involves strain-regulated estrogen receptor α -mediated control of insulin-like growth factor (IGF) I receptor sensitivity to ambient IGF, leading to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-dependent Wnt/LRP5 receptor-i. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 12, p. 8743–8758, 19 mar. 2010.

TAKAICHI, A. et al. Effect of heat treatment on the anisotropic microstructural and mechanical properties of Co–Cr–Mo alloys produced by selective laser melting. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 102, 1 fev. 2020.

TAKAYANAGI, H. **RANKL as the master regulator of osteoclast differentiation**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33385253/>>. Acesso em: 5 fev. 2023a.

TAKAYANAGI, H. **RANKL as the master regulator of osteoclast differentiation**. **Journal of Bone and Mineral Metabolism** Springer Japan, , 1 jan. 2021b.

TAKUBO, K. et al. Regulation of the HIF-1 α level is essential for hematopoietic stem cells. **Cell stem cell**, v. 7, n. 3, p. 391–402, set. 2010.

TAMIMI, F. et al. Bone regeneration in rabbit calvaria with novel monetite granules. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 87, n. 4, p. 980–985, 15 dez. 2008.

TAMIMI, F. et al. Craniofacial vertical bone augmentation: A comparison between 3D printed monolithic monetite blocks and autologous onlay grafts in the rabbit. **Biomaterials**, v. 30, n. 31, p. 6318–6326, 1 out. 2009.

TAMIMI, F. et al. Resorption of monetite granules in alveolar bone defects in human patients. **Biomaterials**, v. 31, n. 10, p. 2762–2769, 1 abr. 2010.

TAMIMI, F. et al. The effect of autoclaving on the physical and biological properties of dicalcium phosphate dihydrate bioceramics: Brushite vs. monetite. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 8, p. 3161–3169, 1 ago. 2012.

TAMIMI, F. et al. Osseointegration of dental implants in 3D-printed synthetic onlay grafts customized according to bone metabolic activity in recipient site. **Biomaterials**, v. 35, n. 21, p. 5436–5445, 1 jul. 2014.

TAMIMI, F.; SHEIKH, Z.; BARRALET, J. **Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite. Acta Biomaterialia** Elsevier Ltd, , 1 fev. 2012.

TARASOVA, N.; BEDARKOVA, A. Advanced Proton-Conducting Ceramics Based on Layered Perovskite BaLaInO₄ for Energy Conversion Technologies and Devices. **Materials**, v. 15, n. 19, 1 out. 2022.

THARANI KUMAR, S. et al. **Review of metallic biomaterials in dental applications. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences** Wolters Kluwer Medknow Publications, , 1 ago. 2020.

THEISS, F. et al. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. **Biomaterials**, v. 26, n. 21, p. 4383–4394, 1 jul. 2005.

THURSTON, A. J. **Paré and prosthetics: The early history of artificial limbs.** ANZ Journal of Surgery. **Anais...** ANZ J Surg, dez. 2007.

TODROS, S.; TODESCO, M.; BAGNO, A. **Biomaterials and their biomedical applications: From replacement to regeneration. Processes** MDPI, , 1 nov. 2021.

TORRENTO, J. E. et al. Development of non-equiatomic Bio-HEAs based on TiZrNbTa-(Mo and Mn). **APL Materials**, v. 10, n. 8, p. 081113, 1 ago. 2022.

TORRES, J. et al. Monetite granules versus particulate autologous bone in bone regeneration. **Annals of Anatomy**, v. 200, p. 126–133, 1 jul. 2015.

TUYEN, D. VAN; LEE, B. T. Formation and characterization of porous spherical biphasic calcium phosphate (BCP) granules using PCL. **Ceramics International**, v. 37, n. 6, p. 2043–2049, 2011.

VALENCIA-LLANO, C. H. et al. Comparison of Two Bovine Commercial Xenografts in the Regeneration of Critical Cranial Defects. **Molecules**, v. 27, n. 18, 1 set. 2022.

VAN'T HOF, R. J.; RALSTON, S. H. **Nitric oxide and bone. Immunology** Wiley-Blackwell, , 2001.

VAN DER EERDEN, B. C. J.; TETI, A.; ZAMBUZZI, W. F. **Bone, a dynamic and integrating tissue. Archives of biochemistry and biophysics** United States, nov. 2014.

VINING, N. C.; WARME, W. J.; MOSCA, V. S. Comparison of structural bone autografts and allografts in pediatric foot surgery. **Journal of Pediatric Orthopaedics**, v. 32, n. 7, p. 719–723, out. 2012.

VO, T. N.; KASPER, F. K.; MIKOS, A. G. **Strategies for controlled delivery of growth factors and cells for bone regeneration. Advanced Drug Delivery Reviews**, 2012.

WANG, G. L.; SEMENZA, G. L. Desferrioxamine induces erythropoietin gene expression and hypoxia-inducible factor 1 DNA-binding activity: implications for models of hypoxia signal transduction. **Blood**, v. 82, n. 12, p. 3610–3615, dez. 1993.

WANG, M. et al. Association of parameters of mineral bone disorder with mortality in patients on hemodialysis according to level of residual kidney function. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 12, n. 7, p. 1118–1127, maio 2017.

WANG, W.; YEUNG, K. W. K. **Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. Bioactive Materials** KeAi Communications Co., , 2017.

WANG, Y. et al. The hypoxia-inducible factor alpha pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development. **J Clin Invest**, v. 117, 2007a.

WANG, Y. et al. The hypoxia-inducible factor α pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 6, p. 1616–1626, 1 jun. 2007b.

WANG, Y. et al. Novel application of HA-TCP biomaterials in distraction osteogenesis shortened the lengthening time and promoted bone consolidation. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 27, n. 4, p. 477–82, abr. 2009.

WARDEN, S. J. et al. Bone adaptation to a mechanical loading program significantly increases skeletal fatigue resistance. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 20, n. 5, p. 809–816, maio 2005.

WEBB, P. A.; ORR, C. Modern Methods of Particle Characterization. 2000.

WIKHOLM, N. W.; BEEBE, R. A.; KITTELBERGER, J. S. Kinetics of the conversion of monetite to calcium pyrophosphate. **Journal of Physical Chemistry**, v. 79, n. 8, p. 853–856, 1975.

WILLIAMS, D. F. The Language of Biomaterials-Based Technologies. **Regenerative Engineering and Translational Medicine**, v. 5, n. 1, p. 53–60, 15 mar. 2019.

WILSON, A.; TRUMPP, A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. . fev. 2006, p. 93–106.

WILSON, C. J. et al. **Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: A review.** *Tissue Engineering*, jan. 2005.

WOOD, P. F. et al. The Action of Angiocrine Molecules Sourced from Mechanotransduction-Related Endothelial Cell Partially Explain the Successful of Titanium in Osseointegration. *Journal of functional biomaterials*, v. 14, n. 8, p. 415, 8 ago. 2023.

WOPENKA, B.; PASTERIS, J. D. **A mineralogical perspective on the apatite in bone.** *Materials Science and Engineering C. Anais...Elsevier*, 28 abr. 2005.

XIONG, J. et al. Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nature medicine*, v. 17, n. 10, p. 1235–1241, set. 2011.

XIONG, X. et al. Effect of substrate temperature on CaHPO₄ coating on HT-C/C composites prepared by ultrasonic induction heating method. *Xiyou Jinshu Cailiao Yu Gongcheng/Rare Metal Materials and Engineering*, v. 43, n. 7, p. 1594–1599, 1 jul. 2014.

XIONG, X. BO et al. A study of monetite precipitation on HT-C/C composites by induction heating method at different substrate temperatures. *Surface and Coatings Technology*, v. 223, p. 6–10, 25 maio 2013.

XU, N. et al. Hypoxia inhibits the differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts by activation of Notch signaling. *Experimental and Molecular Pathology*, v. 94, n. 1, p. 33–39, 2013.

XUE, W. et al. **Synthesis and characterization of tricalcium phosphate with Zn and Mg based dopants.** *Journal of Materials Science: Materials in Medicine. Anais...* jul. 2008.

YAN, T. et al. **Role of nitric oxide in orthodontic tooth movement (Review).** *International Journal of Molecular Medicine* Spandidos Publications, , 1 set. 2021.

YANG, D. C. et al. Hypoxia inhibits osteogenesis in human mesenchymal stem cells through direct regulation of RUNX2 by TWIST. *PLoS ONE*, v. 6, n. 9, 2011.

YANG, Y. Q. et al. **The role of vascular endothelial growth factor in ossification.** *International Journal of Oral Science*, jun. 2012.

YASHIMA, M. et al. Crystal structure analysis of b-tricalcium phosphate Ca₃(PO₄)₂ by neutron powder diffraction. *Journal of Solid State Chemistry*, v. 175, p. 272–277, 2003.

YASUDA, H. et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 95, n. 7, p. 3597–3602, mar. 1998.

YE, X. et al. Ectopic bone regeneration by human bone marrow mononucleated cells, undifferentiated and osteogenically differentiated bone marrow mesenchymal stem cells in beta-tricalcium phosphate scaffolds. *Tissue Engineering - Part C: Methods*, v. 18, n. 7, p. 545–556,

jul. 2012.

YILDIRIM, M. et al. Maxillary sinus augmentation using xenogenic bone substitute material Bio-Oss® in combination with venous blood. A histologic and histomorphometric study in humans. **Clinical Oral Implants Research**, v. 11, n. 3, p. 217–229, 2000.

YOSHIDA, K. et al. Effect of substitutional monovalent and divalent metal ions on mechanical properties of β -tricalcium phosphate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 88, n. 8, p. 2315–2318, ago. 2005.

YU, X. et al. **Cellular hypoxia promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and bone defect healing via STAT3 signaling**. **Cellular and Molecular Biology Letters**, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6889321/>>

ZAGORAC, D. et al. Recent developments in the Inorganic Crystal Structure Database: Theoretical crystal structure data and related features. **Journal of Applied Crystallography**, v. 52, n. 5, p. 918–925, 23 set. 2019.

ZAMAN, G. et al. Mechanical strain stimulates nitric oxide production by rapid activation of endothelial nitric oxide synthase in osteocytes. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 14, n. 7, p. 1123–1131, 1999.

ZAMBUZZI, W. F. Mecanismos de transdução de sinal envolvidos com a diferenciação de osteoblastos e osteócitos. 2008.

ZAMBUZZI, W. F. et al. Modulation of Src activity by low molecular weight protein tyrosine phosphatase during osteoblast differentiation. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 22, n. 5–6, p. 497–506, 2008.

ZAMBUZZI, W. F. et al. **Ascorbate-induced osteoblast differentiation recruits distinct MMP-inhibitors: RECK and TIMP-2**. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18989628/>>. Acesso em: 8 fev. 2023a.

ZAMBUZZI, W. F. et al. On the road to understanding of the osteoblast adhesion: Cytoskeleton organization is rearranged by distinct signaling pathways. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 108, n. 1, p. 134–144, 1 set. 2009b.

ZAMBUZZI, W. F. et al. Intracellular signal transduction as a factor in the development of “Smart” biomaterials for bone tissue engineering. . 1 jun. 2011, p. 1246–1250.

ZAMBUZZI, W. F. et al. Nanometer scale titanium surface texturing are detected by signaling pathways involving transient FAK and Src activations. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. e95662, 7 jul. 2014.

ZAMBUZZI, W. F.; MILANI, R.; TETI, A. Expanding the role of Src and protein-tyrosine phosphatases balance in modulating osteoblast metabolism: Lessons from mice. . 1 abr. 2010, p. 327–332.

ZAVGORODNIY, A. V. et al. Mechanical stability of two-step chemically deposited hydroxyapatite coating on Ti substrate: Effects of various surface pretreatments. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 99B, n. 1, p. 58–69, 28 out. 2011.

ZAVGORODNIY, A. V. et al. Adhesion of a chemically deposited monetite coating to a Ti substrate. **Surface and Coatings Technology**, v. 206, n. 21, p. 4433–4438, 15 jun. 2012.

ZDOROVETS, M. V.; PRMANTAYEVA, B. A.; KOZLOVSKIY, A. L. Synthesis and Properties of SrTiO₃ Ceramic Doped with Sm₂O₃. **Materials**, v. 14, n. 24, p. 7549, 9 dez. 2021.

ZELZER, E. et al. Tissue specific regulation of VEGF expression during bone development requires Cbfa1/Runx2. **Mechanisms of Development**, v. 106, n. 1–2, p. 97–106, 2001.

ZHANG, K. et al. Application of hydroxyapatite nanoparticles in tumor-associated bone segmental defect. **Science Advances**, v. 5, n. 8, 2 ago. 2019.

ZHANG, X.; WILLIAMS, D. F. **Definitions of biomaterials for the Twenty-First Century: Proceedings of a Consensus Conference held in Chengdu, People's Republic of China, June 11th and 12th 2018, organized under the auspices of the International Union of Societies for Biomaterials Sci.** [s.l.: s.n.].

ZHONG, X. et al. Bezafibrate enhances proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells via AMPK and eNOS activation. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 32, n. 5, p. 591–600, maio 2011.

ZHOU, H. et al. **Injectable biomaterials for translational medicine. Materials Today** Elsevier B.V., , 1 set. 2019.

ZHOU, H. et al. Monetite (Dcpa), an Important Calcium Phosphate Compound - its Structure, Processing, and Applications. **SSRN Electronic Journal**, 22 out. 2020.

ZHOU, H. et al. Monetite, an important calcium phosphate compound–Its synthesis, properties and applications in orthopedics. **Acta Biomaterialia**, v. 127, p. 41–55, 1 jun. 2021a.

ZHOU, L. et al. 3D printing monetite-coated Ti-6Al-4V surface with osteoimmunomodulatory function to enhance osteogenesis. **Materials Science and Engineering C**, n. November, p. 112562, 2021b.

ZHOU, Y. et al. Protonic Conduction in the BaNdInO₄ Structure Achieved by Acceptor Doping. **Chemistry of Materials**, v. 33, n. 6, p. 2139–2146, 23 mar. 2021c.

ZHU, Y. et al. Bone regeneration with micro/nano hybrid-structured biphasic calcium phosphate bioceramics at segmental bone defect and the induced immunoregulation of MSCs. **Biomaterials**, v. 147, p. 133–144, 1 dez. 2017.

ZUNINO, J. H. et al. Immunologic and osteogenic properties of xenogeneic and allogeneic demineralized bone transplants. **Cell and Tissue Banking**, v. 5, n. 3, p. 141–148, 2004.

Anexo I: Atividades Desenvolvidas no Período

Disciplinas Cursadas no Doutorado

- . Dinâmica Molecular de Tecidos Mineralizados
- . DOHaD: Do conceito à prática clínica
- . Fundamentos sobre Ética e Prática na Experimentação Animal
- . Isótopos Estáveis Ambientais – Aplicação Biotecnológica
- . Metodologias avançadas e aplicadas em tecidos mineralizados
- . O cientista e o professor universitário
- . Tópicos Especiais em Biologia Geral e Aplicada
- . Tópicos Especiais em Biologia Geral e Aplicada: "Seminários de Pesquisa – Avaliação de projetos de pesquisa"

Disciplinas Aproveitadas do Mestrado

- . Prática Pedagógica no Ensino Superior (II): Recursos de Ensino-Aprendizagem;
- . Química Metabólica da Célula: Carboidratos;
- . Sinalização Celular;
- . Tópicos em Biossegurança e Organismos Geneticamente Modificados (OGMs e AnGMs);
- . Tópicos Especiais em Biologia Geral e Aplicada: 3D-printing; medical applications.

Atividades de Docência

1. **Aprimoramento Didático nos Cursos de Graduação da Unesp** – Estágio na disciplina Física Radiológica do Departamento de Biofísica e Farmacologia, sob supervisão do Prof. Assoc. Vladimir Eliodoro Costa – 2020
2. **Programa institucional de Aperfeiçoamento e Apoio à Docência no Ensino Superior- PAADES** - Realizado na disciplina Física Radiológica do Departamento de Biofísica e Farmacologia, sob supervisão do Prof. Assoc. Vladimir Eliodoro Costa – 2021

Cursos

1. IV Escola de Inverno em Física Aplicada à Medicina e Biologia - Departamento de Física da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – 2020;
2. Citometria de fluxo, princípios e aplicações – 2020;
3. Toxicologia aplicada na área da saúde - realizado pelo Ceatox - Centro de Assistência Toxicológica do Instituto de Biociências – UNESP – 2020;
4. Introduction to the Biology of Cancer - Johns Hopkins University – 2020;

5. Treinamento Preparo de Soluções Químicas, realizado pelo Ceatox - Centro de Assistência Toxicológica do Instituto de Biociências – UNESP – 2020;
6. Comunicação e escrita científica – 2020;
7. Biologia Estrutural Aplicada à Biotecnologia – 2020;
8. Docência no ensino superior: fundamentos e práticas pedagógicas - Instituto de Educação e Pesquisa em Práticas Pedagógicas - IEP³; – 2021;
9. Implant Dentistry - The University of Hong Kong, – 2021;
10. Anatomy: Musculoskeletal and Integumentary Systems – University of Michigan – 2021;
11. Técnicas Aplicadas al Estudio de Materiales Porosos – Micrometics – 2021;
12. Análise de Dados em Linguagem R – Enap – 2021;
13. Advanced Functional Ceramics – Yonsei University – 2021;
14. VIII Curso de Oncologia Integrada – Hospital Sírio Libanês – 2021;
15. Plágio e Turnitin - Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação-Unesp-Campus de Botucatu-Rubião Jr – 2021;
16. Boas Práticas de Laboratório e Biossegurança – Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP – 2021;
17. Vigésimo Curso de Radioterapia de Última Geração e Controle de Qualidade – Hospital Sírio-Libanês – 2021;
18. Teranóstico em Medicina Nuclear – Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – 2021;
19. Workshop: PCR em Tempo Real Sem Segredos – Universo da Biologia Molecular – 2022;
20. Gestão de Projetos e Aplicativos de Impacto – Recode – 2022;
21. Technical Support Fundamentals – Coursera – Google – 2022;
22. Toxinologia básica & Aplicada: Biotecnologias de Toxinas Úteis à Saúde – 2022 – FIOCRUZ;
23. XXI Curso de Radioterapia de Última Geração e Controle da Qualidade – Hospital Sírio Libanês – 2022;
24. Radiação na saúde: aplicações em medicina nuclear – Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – 2023;
25. Mini-Curso de Braquiterapia - Braquiterapia de baixa taxa de dose de próstata - Hospital Sírio Libanês – 2023;
26. Comunicação e Escrita Científica” – American Chemical Society – 2023;

Eventos

1. Unesp Conecta 2020 - "Reflexões sobre Inovação, Empoderamento e Empreendedorismo” – 2020

2. I Fórum On-line de Tecnologias da Luz na Saúde – 2020
3. XI Congresso Internacional de Uro-Oncologia – 2020
4. IV Simpósio de Fotobiofísica: UV e Vírus – 2020
5. II Congresso Brasil–Germânico de Oncologia – 2020
6. Congresso de Biociências – 2020
7. VI simpósio internacional de câncer de mama oncologia D'OR – 2020
8. V simpósio internacional de câncer de pulmão oncologia D'OR – 2020
9. XIX Semana da Física Médica – 2020
10. I Simpósio Digital de Genética e Biotecnologia da UFJF – 2020
11. III Semana de Biotecnologia USP – 2020
12. 1º Encontro Internacional de Metrologia e Examinologia em Química – 2020
13. V Congresso de Urologia da USP – 2020
14. IV Simpósio Internacional GU-REVIEW 2020
15. VIII Simpósio Internacional de Melanoma e VI Simpósio Internacional de Imuno-oncologia – 2020
16. Global Fórum – Fronteiras da Saúde – 2020
17. XXII Congresso da Sociedade Brasileira de Radioterapia – 2020
18. IX Simpósio Internacional Multidisciplinar de Câncer de Mama – 2020
19. III Simpósio "Bases da Carcinogênese: da célula às repercussões clínicas" – 2020
20. IV Simpósio Câncer de Pulmão – 2020
21. I Congresso {Virtual} Brasileiro de Engenharia de Tecidos – 2020
22. XX Congress of the Brazilian Society for Cell Biology (SBBC) – 2021
23. IV Simpósio Internacional de Onco-Hematologia – 2021
24. 9º Simpósio Internacional do Câncer de Pulmão – 2021
25. Conferência Brasileira de Câncer de Mama - LACOG-GBECAM – 2021
26. 5º Congresso Brasileiro de Qualidade em Laboratórios – 2021
27. III Simpósio de Atualização no Tratamento dos Tumores Ginecológicos – 2021
28. VI Simpósio de Biotecnologia do IFRJ – 2021
29. II Congresso Digital de Nanobiotecnologia e Bioengenharia (II CDNB) – 2021
30. SNMMI 2021 Virtual Annual Meeting – 2021
31. 3rd Industrial Biotechnology and Synthetic Biology Workshop (IBSB) – 2021
32. Virtual Educational Symposium – Oncoclínicas e Dana-Farber Cancer Institute – 2021
33. XII Congresso Internacional de Uro Oncologia – 2021
34. II ASCO em contexto – 2021
35. III Workshop de Física da Unesp Bauru – 2021

36. XII Board Review in Medical Oncology: Atualização, Discussão e Inovação – 2021
37. 6º Simpósio Internacional de Tumores Gastrointestinais – 2021
38. V Workshop de Biotecnologia – 2021
39. XIX Brazilian MRS Meeting – 2021
40. Genomic Summit – 2021
41. IX Simpósio Internacional de Melanoma e VII Simpósio Internacional de Imuno-oncologia – 2021
42. I Simpósio Internacional de Oncologia de Precisão – 2021
43. XAYNAN Workshop - International Sirius Workshop on X-ray Nanospectroscopy, Nanodiffraction and Nanoimaging – 2021;
44. X Proteomics Workshop – 2021;
45. 31st LNLS Annual Users' Meeting (RAU) – 2021;
46. IV Semana de Biotecnologia da USP – 2021;
47. Planetary Health Annual Meeting and Festival – 2021;
48. X Simpósio Internacional Multidisciplinar de Câncer de Mama – 2021;
49. I Simpósio de Física Aplicada a Medicina – UFU – 2021;
50. I Encontro de Extensão Universitária do IBB – UNESP – 2022;
51. I Simpósio de Radioproteção e Qualidade de Imagem do HCFMB – 2022;
52. XIII Congresso Internacional de Uro-oncologia / VIII Simpósio Multiprofissional – 2022
53. Best Practices in Breast Oncology BPBO – 2022;
54. V Simpósio Internacional de Onco-Hematologia – SINTOMA – 2022;
55. V Simpósio Nacional EVA de Oncologia Ginecológica – 2022;
56. Algoritmos Globais em Oncologia e Hematologia – 2022;
57. 7º Simpósio Internacional de Tumores Gastrointestinais – 2022;
58. 10º Simpósio Internacional Oncoclínicas e Dana-Farber Cancer Institute – 2022;
59. Simpósio Anual do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada – 2022;
60. 7º Workshop de Biotecnologia – 2022;
61. International Sirius Workshop on Heterogeneous and Hierarchical Materials (H2Mat) – 2022;
62. Congresso Internacional de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento – 2022;
63. XI Proteomics Workshop – 2022;
64. VI Simpósio Internacional GU - Review e IV Simpósio Multiprofissional – LACOG – 2022;
65. Congresso de Ciência e Tecnologia dos Biomateriais – BIOMAT22 – 2022;

66. 1st International Symposium in Bioscience and Biotechnology: Innovations and Trends – 2022;
67. II Simpósio de Física Aplicada à Medicina – SIFAM – 2022;
68. I Congresso Brasileiro em Biociências Aplicadas à Saúde – 2023;
69. Journées de la recherche de la Faculté de médecine et de ses centres de recherche affiliés – 2023;
70. VIII Workshop de Biotecnologia – 2023;
71. Algoritmos Globais e Controvérsias 2ª edição – 2023;
72. XII Congresso de Biociências – 2023;
73. XXXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp – 2023;

Palestra Ministrada

Palestra “O Papel do Físico Médico na Medicina Nuclear e na Pesquisa: da clínica para a academia”, organizada pela Liga Acadêmica de Física Médica - LiFiM do Instituto de Biociências de Botucatu – 2022.

Resumos em eventos

1. Efeitos metabólicos do meio enriquecido com Co-Cr no acoplamento de células endoteliais submetidas a shear-stress e osteoblastos, de autoria de **Almeida, G.S.**; Fernandes, C.J.C.; Pinto, T.S.; Bezerra, F.J.; Zambuzzi, W.F., no I Simpósio Digital de Genética e Biotecnologia da UFJF (I SDGB) - 2020
2. Coupling of shear-stressed endothelial cell and osteoblasts in responding to Co-Cr-enriched medium. **Gerson Santos de Almeida**, Célio Junior da Costa Fernandes, Thaís Silva Pinto, Fábio José Bezerra, Willian Fernando Zambuzzi, no XX Congress of the Brazilian Society for Cell Biology - 2021.
3. Meio enriquecido com hidroxiapatita altera a expressão de genes relacionados ao fenótipo osteoblástico de células MG63. **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Célio Junior da Costa Fernandes, Willian Fernando Zambuzzi – II CDNB – 2021
4. Hipóxia induzida por hidroxiapatita dopada com cobalto modula a expressão de genes de diferenciação osteoblástica, **Almeida, G.S.**; Moraes, J.F.; Ferreira, M.R.; Fernandes, C.J.C.; Feltran, G.S.; Pinto, T.S; Moraes, P.B; Zambuzzi, W.F. – VI Workbiotec - 2021
5. Avaliação da resposta de osteoblastos ao meio enriquecido com titânio, Moraes, P. B.; Fernandes, C. J.C.; **Almeida, G. S.**; Zambuzzi, W. F. – V Workbiotec - 2021
6. Cellular response of MG-63 cells in Hydroxyapatite/TCP enriched medium with different thermal treatments, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Célio Junior

- da Costa Fernandes, Carlos Alberto Oliveira de Biagi Junior, Willian Fernando Zambuzzi - XIX SBPMat - 2021
7. Effect of the Niobium Substitutional Element on the Mechanical Properties and Biocompatibility of Ti-25Ta-Nb Alloys, Fernanda de Freitas Quadros, Célio Junior da Costa Fernandes, **Gerson Santos de Almeida**, Willian Fernando Zambuzzi, Carlos Roberto Grandini – XIX SBPMat - 2021
 8. Cytotoxicity of new Ti-based alloys aiming at biomedical applications, Dante Oliver Guim Corrêa, Fernanda de Freitas Quadros, Giovana Collombaro Cardoso, **Gerson Santos de Almeida**, Willian Fernando Zambuzzi, Carlos Roberto Grandini - XIX SBPMat – 2021
 9. Síntese e caracterização do filme de Hidroxiapatita, depositado sobre titânio recoberto com titanato de cálcio, Maria Gabriela Jacheto Carra, João Ícaro Miranda Moraes Garcia, **Gerson Santos de Almeida**, Margarida Juri Saeki - XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp – 2021
 10. Efeito do meio condicionado por células endoteliais HUVEC e cloreto de cobalto na diferenciação de células mesenquimais: Um olhar aos lncRNAs HOTAIR e HOTTIP, Aron Roger de Oliveira, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Georgia da Silva Feltran, Willian Fernando Zambuzzi - XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp – 2021
 11. Avaliação da citotoxicidade de novas ligas de titânio para uso biomédico, Dante Oliver Guim Corrêa, **Gerson Santos de Almeida**, Carlos Roberto Grandini - XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp – 2021
 12. Efeito do meio enriquecido com hidroxiapatita dopada com cobalto em células osteoblásticas, Luísa Camilo Suter, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Julia Ferreira de Moraes, Willian Fernando Zambuzzi, Congregio – 2021;
 13. Effect of heat treatments on some properties of Ti-10Mo-Mn for biomedical applications, Mariana Luna Lourenço, Dante Oliver, **Gerson Santos de Almeida**, Carlos Roberto Grandini, XI Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials – 2021;
 14. Chemical, biological and mechanical characterization of Zr-25Ta-5Ti Alloy, Edriely Saraiva, Dante Oliver, Pedro Akira Bazaglia Kuroda, **Gerson Santos de Almeida**, Carlos Roberto Grandini, XI Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials – 2021;
 15. New alloys of the Ti-5Mo-Nb system, with low elastic modulus, for biomedical applications, Giovana Collombaro Cardoso, Dante Oliver, **Gerson Santos de Almeida**, Carlos Roberto Grandini, XI Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials – 2021;

16. Study of new titanium-based alloys as biomaterials and their cytotoxic potentials, Dante Oliver, **Gerson Santos De Almeida**, Carlos Roberto Grandini, XI Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials – 2021;
17. Deposição de hidroxiapatita sobre titânio recoberto com titanato de cálcio: caracterização e ensaio biológico, Carra, M.G.J.; Garcia, J.I.M.M.; **Almeida, G.S.**; Zambuzzi, W.F.; Saeki, M.J. Congresso Brasileiro de Cerâmica (65-66 CBC) – 2022;
18. Design and characterization of TiZrNbTaMo/Mn HEAs for potential use as orthopedical implants, Jhulienne Elen Torrento, Tiago Santos Pereira de Sousa, Conrado Ramos Moreira Afonso, Carlos Roberto Grandini, **Gerson Santos de Almeida**, Willian Fernando Zambuzzi and Diego Rafael Nespeque Correa. XX B-MRS Meeting – 2022;
19. Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio bifásico (BCP) composto por monetita (CaP) e fosfato tricálcico (β -TCP), Luisa Camilo Suter, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Geórgia da Silva Feltran, Maria Gabriela Jacheto Carra e Willian Fernando Zambuzzi. 7º Workshop de Biotecnologia – 2022;
20. Desenvolvimento de um modelo de scaffolds ósseo a base de hidrogéis poliméricos naturais, Julia F. Moraes, Marcel R. Ferreira, Geórgia S. Feltran, **Gerson S. Almeida** e Willian F. Zambuzzi, 7º Workshop de Biotecnologia – 2022;
21. Construção e caracterização de um modelo de *scaffolds* ósseos a base de hidrogéis, Julia F. Moraes, Marcel R. Ferreira, Guilherme S. Sousa, Geórgia S. Feltran, **Gerson S. Almeida** e Willian F. Zambuzzi, 11º Congresso de Biociências – 2022;
22. Construção e caracterização de um modelo de esferoide ósseo a base de hidrogéis, Júlia F. Moraes. Marcel R. Ferreira, **Gerson S. Almeida**, Geórgia S. Feltran, Willian F. Zambuzzi, XXXIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP – 2022;
23. Síntese e caracterização físico-química de Fosfato de Cálcio Bifásico (BCP) dopado com cobalto (Co), Luisa Camilo Suter, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Geórgia da Silva Feltran, Maria Gabriela Jacheto Carra e Willian Fernando Zambuzzi XXXIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP – 1ª e 2ª fase – 2022;
24. Desenvolvimento e caracterização de novas ligas de Ti-Mo-Nb para aplicações biomédicas, Giovana Collombaro Cardoso, **Gerson Santos de Almeida**, Dante Oliver Guim Corrêa, Willian Fernando Zambuzzi e Carlos Roberto Grandini, Congresso de Biomateriais – 2022;
25. Síntese e caracterização de fosfato de cálcio bifásico (BCP) dopado com cobalto para aplicação biotecnológica, Luisa Camilo Suter, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Rodrigues Ferreira, Margarida Juri Saeki, Willian Fernando Zambuzzi, XXXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp – 2023;

26. Constituição de Unidades Biomiméticas com Perspectiva de Regeneração do Tecido Ósseo, Júlia Ferreira de Moraes, Marcel Rodrigues Ferreira, **Gerson Santos de Almeida**, Geórgia da Silva Feltran, Anderson Moreira Gomes, Willian Fernando Zambuzzi, XXXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp – 2023;
27. Titanium surface modified by oxide films containing calcium and apatite to improve bone integration, João Ícaro Miranda Morais Garcia, Maria Gabriela Jacheto Carra, Diego Rafael Nespeque Correa, Nilson C. Cruz, **Gerson Santos de Almeida**, Vicente Amigó Borrás e Margarida Juri Saeki - XXI B-MRS Meeting – 2023;
28. Effects of CoCr-enriched medium on shear-stressed endothelial cell and osteoblasts, **Gerson Santos de Almeida**, Maria Gabriela Jacheto Carra, Célio Junior da Costa Fernandes, Thaís Silva Pinto e Willian Fernando Zambuzzi, XXI B-MRS Meeting – 2023;

Artigos Submetidos e em Revisão

1. Influence of Nb and Zr additions on microstructure, elastic modulus, and cytotoxicity of β -Ti-25Ta alloys for biomedical applications. Pedro Akira Bazaglia Kuroda, Rafael Formenton Macedo dos Santos, **Gerson Santos de Almeida**, Willian Fernando Zambuzzi, Carlos Roberto Grandini and Conrado Ramos Moreira Afonso;
2. Influence of Zr addition in β Ti-25Ta-xZr alloys on oxide formation by MAO-treatment. Pedro Akira Bazaglia Kuroda^a, Rafael Formenton Macedo dos Santos^b, Mariana Rossi Correa^a, **Gerson Santos de Almeida**^c, Willian Fernando Zambuzzi^c, Diego Rafael Nespeque Correa^d, Carlos Roberto Grandini^e and Conrado Ramos Moreira Afonso^a;
3. Gamma-oryzanol (γ Oz) rich rice bran promotes osteogenic phenotype of bone marrow-obtained stromal cells. Thaís Silva Pinto, Jéssica Leite Garcia, Anderson Moreira Gomes, Amanda Fantini de Camargo Andrade, **Gerson Santos de Almeida**, Camila Renata Correa, Willian Fernando Zambuzzi;
4. Preparation and characterization of Ti-10Mo-5Mn-Ag alloys for biomedical applications, Melissa Daniela de Almeida Nespeque¹, Mariana Rocha Correa¹, Dante Oliver Guim Corrêa¹, Mariana Luna Lourenço¹, **Gerson Santos de Almeida**², Willian Fernando Zambuzzi², Marília Afonso Rabelo Buzalaf³, James Venturini⁴, Diego Rafael Nespeque Correa¹, Carlos Roberto Grandini¹;
5. Development of Novel β -type Zr-25Ta-5Ti Alloy for Biomedical Applications. Edriely de Oliveira Saraiva¹, **Gerson Santos de Almeida**², Willian Fernando Zambuzzi², Pedro Akira Bazaglia Kuroda³, Carlos Roberto Grandini¹.
6. Modulation of HIF-1 α and TNF- α in pre-osteoblasts treated with alcohol extract of propolis: implications for cellular response and signaling pathways. Paula Bertin de Moraes, **Gerson**

- Santos de Almeida**, Amanda Fantini de Camargo Andrade, Ricardo de Oliveira Orsi, Willian Fernando Zambuzzi, Célio Jr. Da Costa Fernandes.
7. Synthesis of apatite-CaTiO₃ bilayer films on cp-Ti by sol-gel/dip-coating and plasma electrolytic oxidation and its effects on mechanical, electrochemical, and biological properties - João Miranda Morais Garcia, Maria Jacheto Carra, Diego N Correa, **Gerson Almeida**, Geórgia Feltran, Paula Chiachia Pasta, Gustavo Rocha de Castro, Elidiane Cipriano Rangel, Nilson Cristiano Cruz, Willian Fernando Zambuzzi, Vicente Amigó Borás, Margarida Juri Saeki.
 8. Cobalt-doped monetite induces biomimetic hypoxia and rapidly camouflages bone healing environment - **Gerson Santos de Almeida**¹, Thais Silva Pinto¹, Luísa Camilo Suter¹, Geórgia da Silva Feltran¹, Maria Gabriela Jacheto Carra¹, Paula Bertin de Moraes¹, Diego Rafael Nespeque Corrêa², Margarida Juri Saeki¹, Paulo Noronha Lisboa Filho³, Willian Fernando Zambuzzi¹.
 9. The biological properties of Co-doped monetite are influenced by thermal treatment - **Gerson Santos de Almeida**¹, Luisa Camilo Suter¹, Thais Silva Pinto¹, Geórgia da Silva Feltran¹, Maria Gabriela Jacheto Carra², Diego Rafael Nespeque Corrêa³, Margarida Juri Saeki², Paulo Noronha Lisboa-Filho⁴, Willian Fernando Zambuzzi¹
 10. Optimizing titanium osseointegration using thermally modified Co-doped monetite coatings - **Gerson Santos de Almeida**^{1*}, Maria Gabriela Jacheto Carra^{2*}, Luisa Camilo Suter¹, Julia Bucci², Diego Rafael Nespeque Corrêa³, Margarida Juri Saeki², Willian Fernando Zambuzzi¹.

Artigos publicados

1. 2020 - GSVA score reveals molecular signatures from transcriptome for biomaterials comparison. Ferreira MR¹; **Almeida GS**¹; Biagi CA²; Silva WA jr²; Zambuzzi WF¹ - DOI:10.1002/jbm.a.37090
2. 2021 - Metabolic effects of CoCr-enriched medium on shear-stressed endothelial cell and osteoblasts: a possible mechanism involving a hypoxic condition on bone healing. Célio Junior da Costa Fernandes, **Gerson Santos de Almeida**, Thais Silva Pinto, Fábio J Bezerra, Willian Zambuzzi - DOI: 10.1016/j.msec.2021.112353
3. 2022 - Preparation and characterization of novel as-cast Ti-Mo-Nb alloys for biomedical applications. Giovana Collombaro Cardoso, **Gerson Santos de Almeida**, Dante Oliver Guim Corrêa, Willian Fernando Zambuzzi, Marília Afonso Rabelo Buzalaf, Diego Rafael Nespeque Correa, Carlos Roberto Grandini – DOI:10.1038/s41598-022-14820-8

4. 2022 - Development of non-equiatomic Bio-HEAs based on TiZrNbTa - (Mo and Mn). Jhulienne Elen Torrento, Tiago dos Santos Pereira de Sousa, Nilson Cristino da Cruz, **Gerson Santos de Almeida**, Willian Fernando Zambuzzi, Carlos Roberto Grandini, Diego Rafael Nespeque Correa - DOI: 10.1063/5.0100465
5. 2023 - Epigenetic Differences Arise in Endothelial Cells Responding to Cobalt–Chromium. Célio Júnior Fernandes, Rodrigo A. Da Silva, **Gerson Santos de Almeida**, Marcel Ferreira Rodrigues, Paula Bertin De Moraes, Fábio Bezerra, Willian Fernando Zambuzzi – DOI: 10.3390/jfb14030127
6. 2023 - Titanium-Enriched Medium Promotes Environment-Induced Epigenetic Machinery Changes in Human Endothelial Cells. Célio Júnior da C. Fernandes; Rodrigo A. da Silva; Patrícia F. Wood; Marcel Rodrigues Ferreira; **Gerson Santos de Almeida**; Julia Ferreira de Moraes; Fábio Bezerra; Willian F. Zambuzzi – DOI: 10.3390/jfb14030131
7. 2023 - The Action of Angiocrine Molecules Sourced from Mechanotransduction-Related Endothelial Cell Partially Explain the Successful of Titanium in Osseointegration. Patrícia Fretes Wood, Célio Junior da Costa Fernandes; **Gerson Santos de Almeida**, Luísa Camilo Suter, João Paulo Ruiz Lucio de Lima Parra; Fábio J Bezerra; Willian Fernando Zambuzzi – DOI: 10.3390/jfb2301533
8. 2023 - Synthesis and characterization of different Cobalt (Co)-doped monetites for bone regeneration, **Gerson Santos de Almeida**¹, Marcel Rodrigues Ferreira¹, Célio Junior da Costa Fernandes¹, Luísa Camilo Surter¹, Maria Gabriela Jacheto Carra¹, Diego Rafael Nespeque Correa², Elidiane Cipriano Rangel³, Margarida Juri Saeki¹, Willian Fernando Zambuzzi¹ - DOI: 10.1002/jbm.b.35319
9. 2023 - Mechanosignaling-related angiocrine factors drive osteoblastic phenotype in response to zirconia, Célio Junior da Costa Fernandes; **Gerson Santos de Almeida**; Patrícia Fretes; Anderson M. Gomes; Fabio Bezerra; José C. S. Vieira; Pedro M. Padilha; Willian Fernando Zambuzzi – DOI: 10.1016/j.jtemb.2023.127337
10. 2024 - Obtaining of Antibacterial Nanoporous Layer on Ti7.5Mo Alloy Surface Combining Alkaline Treatment and Silver: In Vitro Studies, Barbara Lois Mathias de Souza, Ana Lúcia do Amaral Escada, Célio Junior da Costa Fernandes, **Gerson Santos de Almeida**, Willian Fernando Zambuzzi, Patrícia Capellato, Daniela Sachs, Ana Paula Rosifini Alves Claro – DOI: 10.3390/coatings14010052;
11. 2024 - Combination of in silico and cell culture strategies to predict biomaterial performance: effects of sintering temperature on the biological properties of hydroxyapatite. **Gerson Santos de Almeida**; Marcel Rodrigues Ferreira; Célio Junior da Costa Fernandes; Carlos Alberto Oliveira de Biagi Junior; Wilson Araújo Silva Júnior;

Membro de Órgão Colegiado

1. Membro discente titular do Conselho do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas (mandato 2021 – 2022), e membro discente suplente (mandato 2022 - 2023);
2. Membro discente do Conselho do Programa de Biologia Geral e Aplicada (mandato 2021 a 2022).

Atuação como Revisor em Periódicos, Comissão Julgadora e Bancas, e Avaliador em eventos

1. Revisor no periódico **Materials & Design** (ISSN: 0264-1275);
2. Revisor no periódico **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research** (ISSN - 2446-5410);
3. Membro da banca avaliadora do Trabalho de Conclusão de Curso de Luisa Camilo Suter, Curso de Engenharia de Bioprocessos de Biotecnologia – FCA/Botucatu – 2023;
4. Membro da banca avaliadora do Trabalho de Conclusão de Curso de Carla Cristina Albertini, Curso de Engenharia de Bioprocessos de Biotecnologia – FCA/Botucatu – 2023;
5. Membro da banca avaliadora do Trabalho de Conclusão de Curso de Julia Ferreira de Moraes, Curso de Física Médica - IBB – 2023;
6. Membro da banca avaliadora do Trabalho de Conclusão de Curso de Julia Bucci, Curso de Física Médica do IBB – 2023;
7. Avaliador de trabalhos no “**XX Congress of the Brazilian Society for Cell Biology**”;
8. Avaliador dos trabalhos no **XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp** - IB/Botucatu;

Doutorado no exterior (doutorado sanduiche)

Período de doutorado sanduiche com bolsa CapesPrInt, realizado no LBB: Laboratoire de biomatériaux et de bioingénierie da Universidade de Laval - Quebec - Canadá, sob a supervisão do Prof. Dr. Diego Mantovani, de setembro de 2022 a agosto de 2023.

Organização de eventos

Membro da Comissão Organizadora do Simpósio Anual do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada – 2022.

Prêmios e indicações

Certificado de “**Top Cited Article 2021-2022**”, do artigo “GSVA score reveals molecular signatures from transcriptomes for biomaterials comparison” como um dos artigos mais citados do “*Journal of Biomedical Materials Research Part A*”;

Artigo “Titanium-Enriched Medium Promotes Environment-Induced Epigenetic Machinery Changes in Human Endothelial Cells” selecionado como "**Editor's Choice Articles**", no *Journal of Functional Biomaterials* da MDPI – 2023.