RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 30/06/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
CAMPUS DE GUARATINGUETÁ

ANDRE LUIZ REIS RANGEL

MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DA LIGA Ti15Mo APÓS CRESCIMENTO DE NANOTUBOS DE TiO_2 A PARTIR DA FORMAÇÃO DE FILMES DE POLÍMEROS BIOATIVOS

Guaratinguetá - SP
2017

ANDRE LUIZ REIS RANGEL

MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DA LIGA Ti15Mo APÓS CRESCIMENTO DE NANOTUBOS DE TiO_2 A PARTIR DA FORMAÇÃO DE FILMES DE POLÍMEROS BIOATIVOS

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Doutor em Engenharia Mecânica na área de Materiais.

Orientadora: Ana Paula Rosifini Alves Claro

Guaratinguetá – SP
2017

FICHA CATALOGRAFICA

R196m

Rangel, André Luiz Reis

Modificação da superfície da liga Ti15Mo após crescimento de nanotubos de TiO_2 a partir da formação de filmes de polímeros bioativos / André Luiz Reis Rangel – Guaratinguetá, 2017

97 f.: il.

Bibliografia: f. 88-97

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2017.

Orientadora: Profª Drª Ana Paula Rosifini Alves Claro

1.Materiais biomédicos. 2. Ligas de titânio. 3.Oxidação. I. Título

CDU 620.1(043)

unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE GUARATINGUETÁ

ANDRÉ LUIZ REIS RANGEL

ESTA TESE FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
"DOUTOR EM ENGENHARIA MECÂNICA"

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA
ÁREA: MATERIAIS

APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

Profª. Drª. Ana Paula Rosifini Alves Claro
Coordenadora

BANCA EXAMINADORA:

Profª. Drª. ANA PAULA ROSIFINI ALVES CLARO
Orientadora / UNESP/FEG

Prof. Dr. ROBERTO ZENHEI NAKAZATO
UNESP/FEG

Prof. Dr. RONALDO SPEZIA NUNES
UNESP/FEG

Profª. Drª. CECÍLIA AMELIA DE CARVALHO ZAVAGLIA
UNICAMP

Prof. Dr. RODRIGO DE OLIVEIRA FRANÇA
University of Manitoba, CA

Junho / 2017

DADOS CURRICULARES

ANDRE LUIZ REIS RANGEL

NASCIMENTO	17.10.1989 – Guaratinguetá / SP
FILIAÇÃO	Andre Luiz Correard Rangel Graça de Fatima Xavier Reis Rangel
2008/2012	Curso de Graduação Engenharia de Materiais – Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá
2013/2017	Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, nível de Doutorado, na Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá da Universidade Estadual Paulista.

Dedico este trabalho à Deus e minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus que concede cada oportunidade da minha vida;

à minha orientadora *Profª. Drª. Ana Paula Rosifini Alves Claro* pela oportunidade, apoio, motivação e dedicação durante todos esses anos, mesmo antes do início de minha tese;

aos meus pais, *Andre* e *Graça*, que fizeram de tudo para minha formação, educacional e ética, à minhas irmãs, *Vitoria, Rita e Ana*, pelo amor e carinho;

à minha esposa *Laura*, pelo amor, suporte e paciência;

aos amigos do Grupo de Biomateriais do Departamento de Materiais e Tecnologia da Faculdade de Engenharia de Guaratingueta e do Laboratoire de biomatériaux pour la Santé da Universidade Paris 13 pelo companheirismo ;

ao Departamento de Materiais e Tecnologia - UNESP/FEG, especialmente aos técnicos e pessoal admistrativo, pela dedicação e colaboração na realização das etapas deste trabalho;

ao *Prof. Dr. Roberto Zenhei Nakazato*, ao *Prof. Dr. Luís Rogério de Oliveira Hein e ao Prof. Dr. Ronaldo Spezia Nunes* pela ajuda e conselhos durante o desenvolvimento do trabalho;

ao *Prof. Dr. Ketul Popat* e à *prof. Drª. Veronique Miggoney* pelo aprendizado e colaboração nas análises *in vitro*;

ao *Prof. Rogerio Pinto Mota*, pela disponibilização do Laboratório de Plasmas, do Departamento de Física, da Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá

aos meus amigos e alunos de pós-graduação *Reginaldo Toshihiro Konatu, João Carobolante, Celso Bortolini Junior, Adelvam Pereira Junior e Felipe Vicente de Paula Koidara*, pela colaboração no processamento da liga e deposições de filmes a plasma;

à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP- DD 2013/00317-4) pelo suporte financeiro.

“Eu acho perturbadora a sua falta de fé.”

(Anakin Skywalker)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi obter superfícies antimicrobianas em liga de Ti15Mo após crescimento de nanotubos de TiO_2 associados a filmes poliméricos. A liga Ti15Mo foi obtida em forno de fusão a arco sob atmosfera inerte de argônio. Os lingotes foram submetidos a tratamento térmico e depois foram trabalhados a frio. Após o crescimento de nanotubos de TiO_2 por oxidação anódica, as amostras foram divididas em dois grupos para diferentes técnicas de deposição de polifmeros: grafitização UV com poliestireno sulfonato (NaSS) e deposição química de vapor por plasma (PECVD) com incorporação de clorexidina. As superfícies anodizadas foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura, medições de ângulo de contato, difração de raios-X (DRX) e espectrometria de fotoelétrons por raios X (XPS). As superfícies cobertas com polímeros foram avaliadas quanto à molhabilidade, composição química por espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e quantidade de polímero depositado. Todas as superfícies foram submetidas a ensaios de cultura de células para avaliar sua resposta *in vitro*. A oxidação anódica foi capaz de criar uma camada homogênea de nanotubos TiO_2 para diferentes potenciais utilizados e ambos os métodos físicos e químicos foram eficientes para incorporar polímeros sobre suas superfícies. Nem os revestimentos de nanotubos ou polímeros utilizados apresentaram efeito citotóxico, por outro lado as superfícies com clorexidina foram responsáveis pela morte das células. As superfícies cobertas de PoliNaSS apresentaram melhor proliferação, morfologia e adesão celular, além disso, ensaios de diferenciação de osteoblastos confirmaram a alta atividade da fosfatase alcalina e deposição de cálcio / fosfato sobre essas amostras.

PALAVRAS-CHAVE: Biomateriais. Ligas de titânio. Oxidação anódica. Modificação de superfície. Polímeros bioativos. Osseointegração.

ABSTRACT

The purpose of this study was to obtain antibacterial surfaces on Ti15Mo alloy from TiO_2 nanotubes growth associated with polymeric films. Ti15Mo alloy was obtained in arc melting furnace under argon atmosphere. Ingots were subjected to heat treatment and then cold worked. After TiO_2 nanotubes growth by anodic oxidation samples were divided in two groups for different depositions technique: UV grafting with NaSS and plasma enhanced chemical vapor deposition (PECVD) with chlorhexidine incorporation. The anodized surfaces were characterized with scanning electron microscopy, contact angle measurements, x-rays diffraction and x-ray photoelectron spectroscopy. The surfaces covered with polymers were assessed for wettability, chemical composition by Fourier transform InfraRed spectroscopy and polymer deposition rate. All surfaces were subjected to cells culture essays to evaluate its *in vitro* response. The anodic oxidation was able to create a homogeneous TiO_2 nanotubes layer for different voltages and both physical and chemical methods were efficient to incorporate polymers over its surfaces. Neither nanotubes or polymers coatings presented cytotoxic effect, in the other hand surfaces with chlorhexidine were responsible for cells death. PolyNass covered surfaces showed better cells proliferation, morphology and adhesion, in addition, osteoblast differentiation essays confirmed high alkaline phosphatase activity and Calcium/Phosphate deposition over these samples.

KEYWORDS: Biomaterials. Titanium alloys. Anodic oxidation. Surface Modification. Bioactive polymers. Osseointegration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema teórico do crescimento de nanotubos de TiO_2 e morfologia obtida para oxidação anódica do Ti-cp. 18
Figura 2 - Nanotubos preenchidos por micelas poliméricas carregados de medicamentos e recoberto por polímeros a plasma. 20
Figura 3 - Representação esquemática dos efeitos antimicrobianos por liberação (a) e por contato (b). 20
Figura 4 - Classificação de materiais biomédicos por Chen e Thouas (2015). 22
Figura 5 - Diferentes aplicações de materiais biomédicos no corpo humano. 23
Figura 6 - Principais falhas em biomateriais metálicos e suas respectivas causas. 24
Figura 7 - Diagrama de fases do sistema titânio-molibdênio. 27
Figura 8 - Representação de uma célula de oxidação anódica de dois eletrodos, um cátodo metálico a ser anodizado e um anodo inerte. 30
Figura 9 - Micrografias eletrônicas de varredura para amostras de titânio puro após 48 de incubação nas condições: a) Polida, b) Anodizada. 32
Figura 10 - Micrografias dos osteoblastos após 11 dias de crescimento. A) TiCP, B) Titânio anodizado e c) Detalhe da interação dos pseudópodes e nanotubos. 33
Figura 11 - Deposição de cálcio sobre diferentes superfícies estudadas após intervalo de 3 semanas de cultura de osteoblastos. 33
Figura 12 - Crescimento de osso cortical de coelhos sobre superfícies de TiCP e anodizadas. 34
Figura 13 - Representação esquemática de uma câmara de tratamento à plasma. 36
Figura 14 -Redução do diâmetro de nanotubos por deposição de polímeros a plasma. A) diâmetro inicial, b) 50 segundos de deposição, c) 120 segundos de deposição, d) 200 segundos de deposição. 37
Figura 15 - Crescimento de fibroblastos (dia 3) em superfícies tratadas por filmes a plasma de POx. I) Superfície sem tratamento, II) Deposição de Poli metil oxazolina, III) poli etil oxazolina. 38
Figura 16 - Processo de grafitização do NaSS sobre superfícies metálicas. 39
Figura 17 - Porcentagem de inibição de aderência de Staphylococcus aureus em amostras grafitizados com Poli-NaSS. 40
Figura 18 - Cultura de osteoblastos após 4 horas sobre amostras tratadas com poliNaSS em presença de diferentes proteínas. a) Soro fetal bovino, b) soro fetal bovino livre de vitronectina, c) Soro fetal bovino livre de fibronectina. 40

Figura 19 - Cinéticas de liberação teóricas tradicionais e moduladas por superfícies tratadas. 42
Figura 20 - TNT preenchidas por micelas poliméricas carregadas de medicamentos e recoberto por polímeros à plasma. 43
Figura 21 - Fluxograma das atividades desenvolvidas no trabalho. 44
Figura 22 - Forno arco voltaico utilizado na fusão da liga Ti- 15Mo: (a) vista do forno; (b) interior do forno; (c) Forno de tratamento térmico. 45
Figura 23 - Forja rotativa utilizada na conformação a frio dos tarugos. 46
Figura 24 - Amostra na célula de oxidação anódica e porta-amostra utilizado no tratamento. 47
Figura 25 - Diferentes métodos físicos e químicos de deposição de filmes bactericidas. 48
Figura 26 - Lâmpada UV utilizada na grafitização do NaSS. 49
Figura 27 - Reator utilizado na deposição de polímeros à plasma. 50
Figura 28 - Microscópios Eletrônicos de Varredura utilizados na obtenção de imagem. a) Zeiss EVO LS15/LAIMat e b) Philips XL-30 FEG/LCE. 51
Figura 29 - Goniômetro modelo DAS 100E utilizado na avaliação de molhabilidade. Em detalhe uma gota de água deionizada sendo depositada. 51
Figura 30 - Difratômetro Empyrean Panalytical (EEL- USP) no qual as fases cristalinas das amostras foram analisadas. 52
Figura 31 - XPS utilizado para a avaliação da composição superficial das amostras (Laboratório de Biomaterias e Bioengenharia da Université Laval, Canadá). 53
Figura 32 - Espectrômetro utilizado para avaliar os revestimentos poliméricos realizados. .. 53
Figura 33 - Microscópio confocal utilizado para avaliação de espessuras dos filmes de PMOXA. 54
Figura 34 - Superfície de uma amostra após incubação em azul de toluidina. 55
Figura 35 - Câmara de fluxo laminar utilizada nos ensaios. 56
Figura 36 -Micrografias de Microscópio Eletrônico de Varredura de emissão de campo para amostras tratadas a 5 V, 10 V e 20 V. a) Vista frontal, b) Vista de um corte lateral. 62
Figura 37 - Espectros de raios-X obtidos após oxidação anódica da liga Ti15Mo para 5, 10 e 20 V por 24 horas. Todas as amostras anodizadas foram submetidas à calcinação a 450° C por 1 hora. 64
Figura 38 - Varredura XPS da liga Ti15Mo antes e após crescimento de nanotubos. 64
Figura 39 - Espectros de alta resolução para C, O e Ti da superfície da liga Ti15Mo antes e depois da oxidação anódica. 65

Figura 40 - Gráfico de barras representando o ângulo de contato de superfícies após o crescimento de filmes a plasma em diferentes potencias de deposição. 67
Figura 41 - Espectros FTIR para filmes de PMOXA depositados em diferentes potências antes e após imersão por meia hora em solução de clorexidina. 68
Figura 42 - Evolução da espessura dos filmes de PMOXA depositados de acordo com a potência de deposição. 69
Figura 43 - Valores de ângulos de contato obtidos pelo método da gota séssil de superfícies anodizadas e lamínulas de vidro revestidas por filme de PMOXA. 70
Figura 44 - Espectros FTIR dos filmes de PMOXA depositados sobre superfícies anodizadas e folhas de alumínio. 71
Figura 45 - Comparação entre ângulo de contato pelo método da gota séssil para amostras polidas (TiMo), anodizadas (TNT) e grafitizadas (TNT G). 72
Figura 46 - Espectros FTIR-ATR de amostras de Ti15Mo, Ti15Mo após crescimento de nanotubos e Ti15Mo após crescimento de nanotubos e grafitização. 73
Figura 47 - Medida da eficiência de polimerização do NaSS sobre amostras de Ti15Mo, TNT e TNT grafitizado. 74
Figura 48 - Curva de crescimento de células da linhagem MC3T3-E1 subclone 4 a densidade de semeio 50.000 células por poço. 75
Figura 49 - Absorbância medida após teste de MTT sobre as diversas superfícies avaliadas. 76
Figura 50 - Gráfico de crescimento celular de osteoblastos MC3T3-E1 SC4 em diferentes superfícies. 77
Figura 51 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura após 1 dia de crescimento de osteoblastos MC3T3-E1 sobre A) Ti15Mo, B) TNT, C) TNT G, D)PMOXA, E) PMOXA + CH. 79
Figura 52 - - Em detalhes morfologia das células após 1 dia cultura sobre A) Ti15Mo, B) TNT, C) TNTG, D) PMOXA e E) PMOXA + CH 81
Figura 53 - - Porcentagem de células MC3T3-E1 aderidas sobre diferentes superfícies após 15 minutos de incubação. 82
Figura 54 - Porcentagem de células aderidas após aplicação de 10 dyn/cm2 por 15 minutos sobre diferentes superfícies. 83
Figura 55 - Absorbância de p-nitropenol pela ação da enzima ALP sobre as diferentes superfícies estudadas. 84
Figura 56 – Produção de cálcio e fosfato por osteoblastos após 3 e 4 semanas de incubação sobre diferentes superfícies. 85

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Ligas de titânio e suas principais propriedades mecânicas. 17
Quadro 2 - Resumo de vantagens e desvantagens associadas à biomateriais metálicos. 25
Quadro 3 - Materiais da primeira (1950-1990) e segunda gerações (1990-2000) de biomateriais metálicos e suas propriedades mecânicas. 26
Quadro 4 - Resultados obtidos por Chen et al. (2006) em seus estudos de propriedades mecânicas de ligas do sistema Ti-Mo. 28
Quadro 5 - Técnicas de grafitização, suas vantagens e princípios de funcionamento..... 38
Quadro 6 - Cinética de liberação de medicamentos após dip coating em polímeros biodegradáveis. 43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TNT	Nanotubos de titania
TNT G	Nanotubos grafitizados
PMOXA	Poli metil oxazolina
NaSS	Estireno sulfonato
PECVD	Deposição química de vapor por plasma
FTIR	Espectroscopia de infravermelhos por trasnformada de Fourier
DRX	Difratometria de raios X
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
FE – MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura por emissão de campo
MTT	Metil tiazol tetrazolium
MEM	Meio de cultura celular “eagle”
ALP	Fosfatase alcalina
CH	Clorexidina
CCC	Cúbica de Corpo Centrado
PLGA	Poli(ácido lático-co-ácido glicólico)
POx	Poli oxazolinas
AT	Azul de toluidina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17

1.1 OBJETIVOS 21

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 22

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS 22

2.2 LIGAS DE TITÂNIO 25

2.3 TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIES PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS 28

2.4 MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE POR OXIDAÇÃO ANÓDICA 29

2.5 MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE POR MÉTODOS FÍSICOS 34

2.6 MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE POR MÉTODOS QUÍMICOS 38

2.7 UTILIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES ANTIMICROBIANAS 41

3 MATERIAIS E MÉTODOS 44

3.1 PROCESSAMENTO DA LIGA 45

3.2 TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE 46

3.2.1 Oxidação anódica 46

3.2.2 Recobrimento com filmes antimicrobianos 47

3.2.2.1 Métodos químicos: Grafitização por NaSS 48

3.2.2.2 Método Físico: Deposição de PMOXA / incorporação de CH 49

3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES ANODIZADAS 50

3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 50

3.3.2 Ângulo de Contato 51

3.3.3 Análise de Difração de Raios-X (XRD) 52

3.4 CARACTERIZAÇÃO APÓS RECOBRIMENTO COM FILMES POLIMÉRICOS 53

3.4.1 Espessura dos filmes 54

3.4.2 Colorimetria por azul de toluidina 54

3.5 CULTURA CELULAR 55

3.5.1 Viabilidade celular 57

3.5.2 Morfologia celular 57

3.5.3 Proliferação celular 57

3.5.4 Adesão celular a curto período 58

3.5.5 Diferenciação celular 58

3.5.5.1 Fosfatase Alcalina (ALP) 59
3.5.5.2 Mineralização 59

4 RESULTADOS 61

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES ANODIZADAS 61
4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura 61
4.1.2 Ângulo de Contato e Energia de Superfície 63
4.1.3 Análise de Difração de Raios-X 63
4.1.4 Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X 64
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE APÓS RECOBRIMENTO POLIMÉRICO 66
4.2.1 Método Físico: Polimerização a Plasma 66
4.2.1.1 Escolha dos parâmetros para deposição a plasma 66
4.2.1.2 Interação filme/Superfície anodizada 70
4.2.2 Método químico: grafitização por NaSS 71
4.3 ESTUDOS *IN VITRO* 75
4.3.1 Linhagem celular e curva de crescimento 75
4.3.2 Viabilidade celular por metil tiazol tetrazolium (MTT) 76
4.3.3 Proliferação celular 77
4.3.4 Morfologia celular por microscopia eletrônica de varredura 78
4.3.5 Adesão celular a curto período e Intensidade de Adesão a curto período 82
4.3.6 Diferenciação 83
4.3.6.1 Fosfatase Alcalina 84
4.3.6.2 Mineralização 85

5 CONCLUSÃO 87

REFERÊNCIAS 88

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos materiais para aplicações biomédicas concentra esforços e estudos por toda parte do mundo, sendo o principal desafio dos pesquisadores unir propriedades de volume favoráveis com superfícies que exibam boas respostas biológicas.

Dentre os biomateriais mais estudados se destacam o titânio comercialmente puro e suas ligas, em especial a liga Ti6Al4V, a qual vem sido preterida ultimamente devido a efeitos indesejados com a sua aplicação associado aos elementos de liga vanádio e alumínio.

Dessa forma, novas ligas a base de titânio foram estudadas nas últimas décadas visando aplicações biomédicas. A liga Ti15Mo apresenta papel de destaque devido a seu baixo módulo de elasticidade (70 GPa) e elevada resistência/módulo. Além disso, apresenta elevada ductilidade e tenacidade devido a sua estrutura cristalina (CCC) justificando seu emprego na área biomédica (HO et al., 1999). O Quadro 1 expõe alguns exemplos de ligas de titânio e suas respectivas propriedades mecanicas.

Quadro 1 - Ligas de titânio e suas principais propriedades mecânicas.

Material	Módulo (GPa)	Resistência à tração (MPa)	Fase
Ti-cp	100	240-250	α
Ti6Al4V	112	895-930	α + β
Ti5Al2.5Fe	110	1020	α + β
Ti12Mo6Zr2Fe	74-85	1060-1100	β
Ti15Mo	70	1380	β

(fonte: adaptado de Rack, 2006)

Além do comportamento mecânico favorável, é igualmente importante para o sucesso de um implante que sua superfície seja adequada ao meio no qual será implantada. Quando um material é inserido no corpo humano uma série de reações em cascata ocorre, o que pode levar a sua integração. A primeira etapa desse processo é chamada de estabilidade primária e está relacionada à ancoragem do implante ao osso, porém com o passar do tempo essa relação perde importância em detrimento de uma segunda etapa, a ligação biológica entre as partes envolvidas (LAVENUS, 2010).

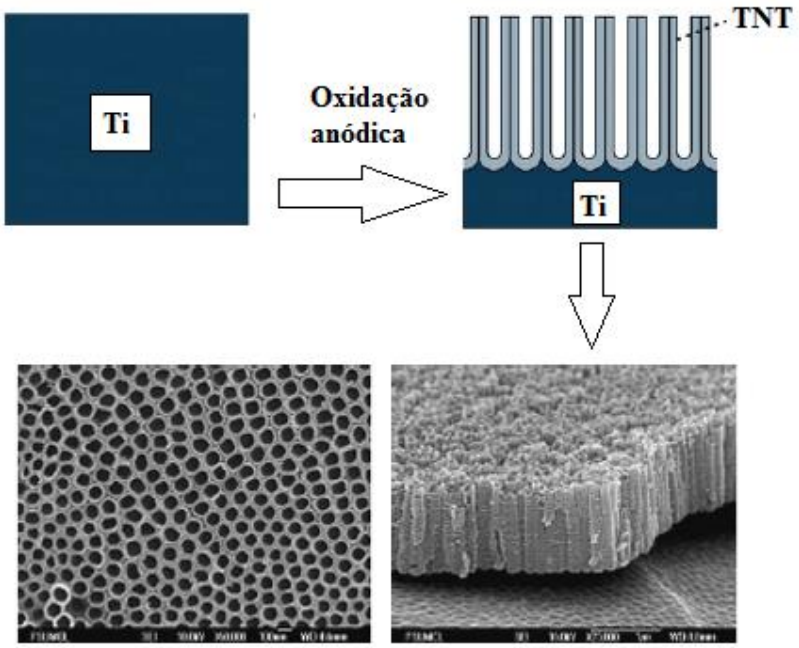
Nos últimos anos, diversos tratamentos de superfície buscando maior interação biológica foram desenvolvidos. Os tratamentos de superfície podem ser classificados em

mecânicos, físicos e químicos, de acordo com o mecanismo de modificação superficial do material (LIU et al.., 2004; MIYAZAKI et al.., 2002; FUKUMOTO et al.., 1999; LEI et al.., 2001; KIM et al.., 2002; LIU; CHU; DING, 2004; RIEDEL; WILLIAMS; POPAT, 2011; ZHU et al.., 2011; ALLAM; FENG; GRIMES, 2008; WANG,1996).

Dentre as diversas técnicas de modificação utilizadas pode-se ressaltar o tratamento de oxidação anódica. Neste processo dois eletrodos (um anodo de trabalho e um catodo de platina) são imersos em um eletrólito e empregando uma diferença de potencial promove-se a adsorção do oxigênio da solução no metal, formando uma camada óxida sobre o substrato (BRUNETTE et al., 2001).

Dependendo de fatores do processo (potencial aplicado, viscosidade do eletrólito, distância entre os eletrodos) e/ou propriedades do material anodizado o resultado pode variar de formação de nanoporos à nanotubos desalinhados e finalmente nanotubos alinhados.

Figura 1 – Esquema teórico do crescimento de nanotubos de TiO_2 e morfologia obtida para oxidação anódica do Ti-cp.



(fonte: Ketul, 2007)

A criação de nanoestrutura de morfologia tubular na superfície do metal, segundo Balla et al.. (2010) apresenta maior grau de oxidação e de energia de superfície, bem como melhora considerável da biocompatibilidade em comparação com superfícies lisas. Estudos também apontam que superfícies nanoestruturadas se assemelham à estrutura da matriz extracelular (CHANG, 2012) e essa morfologia favorece a adesão celular de maneira direta e

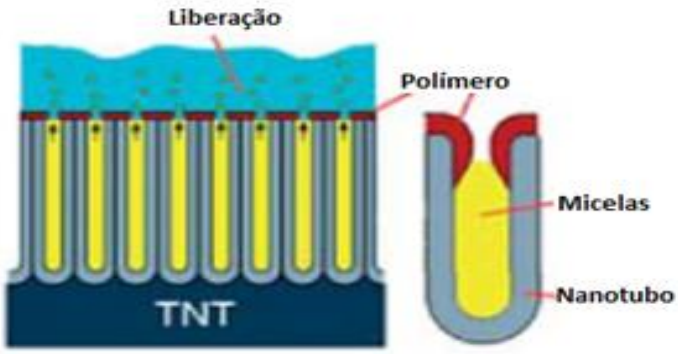
indireta (CHOE, 2011; POPAT, 2007 a,2007 b; SMITH, 2010, 2011). É importante ressaltar que a morfologia dos nanotubos, seja comprimento, diâmetro e/ou espessura da parede tem papel fundamental na estabilização da fase constituinte do dióxido de titânio (BAUER, 2011) o que por sua vez pode também influenciar o crescimento celular.

É de vital importância para a caracterização de um biomaterial a sua resposta biológica e se propõem duas vias para essa avaliação: estudos *in vitro* (por cultura de célula em laboratório) e *in vivo* (com implantação do material em um hospedeiro animal). Tal sequência é proposta já que os primeiros ensaios obtêm respostas confiáveis sem a necessidade de sacrifício de animais (BRAMMER, 2008). Assim sendo ensaios de cultura de células sobre discos de biomateriais metálicos são amplamente utilizados para essa finalidade.

Durante tais ensaios células de linhagem adequadas são cultivadas sobre biomaterial e deverão se fixar e proliferar sobre a superfície. No entanto, Smith et al.. (2010, 2011) constataram que essa proliferação é muito mais eficaz em superfícies recobertas por nanotubos, com maior atividade mitocondrial de células, como verificado por testes de viabilidade celular (OH et al.. 2006). Os mesmos autores atribuem esse comportamento ao estímulo no alongamento celular exercido por superfícies nano-organizadas e ainda, segundo Altankov (1996), materiais ultra-hidrofílicos (característica comum em superfícies anodizadas) são mais favoráveis à adesão e proliferação celular.

Mais recentemente, pesquisadores tem buscado utilizar superfícies com nanotubos para liberação de medicamentos *in situ*. Entretanto, a liberação por superfícies com nanotubos simplesmente preenchidos por medicamentos é de difícil controle o que torna essencial o emprego de um tratamento que auxilie esse processo (SONG, 2009). Dentre as alternativas propostas, pode-se destacar o recobrimento de nanotubos com camadas poliméricas. Aw et al. (2011) obtiveram sucesso em seus estudos a partir do preenchimento de TNTs com micelas poliméricas anfifílicas contendo medicamentos no seu interior e posterior recobrimento por uma camada de polímero (alilamina) à plasma (Figura 2). A combinação dessas técnicas possibilitou a liberação controlada do medicamento reduzindo a velocidade em mais de 200%.

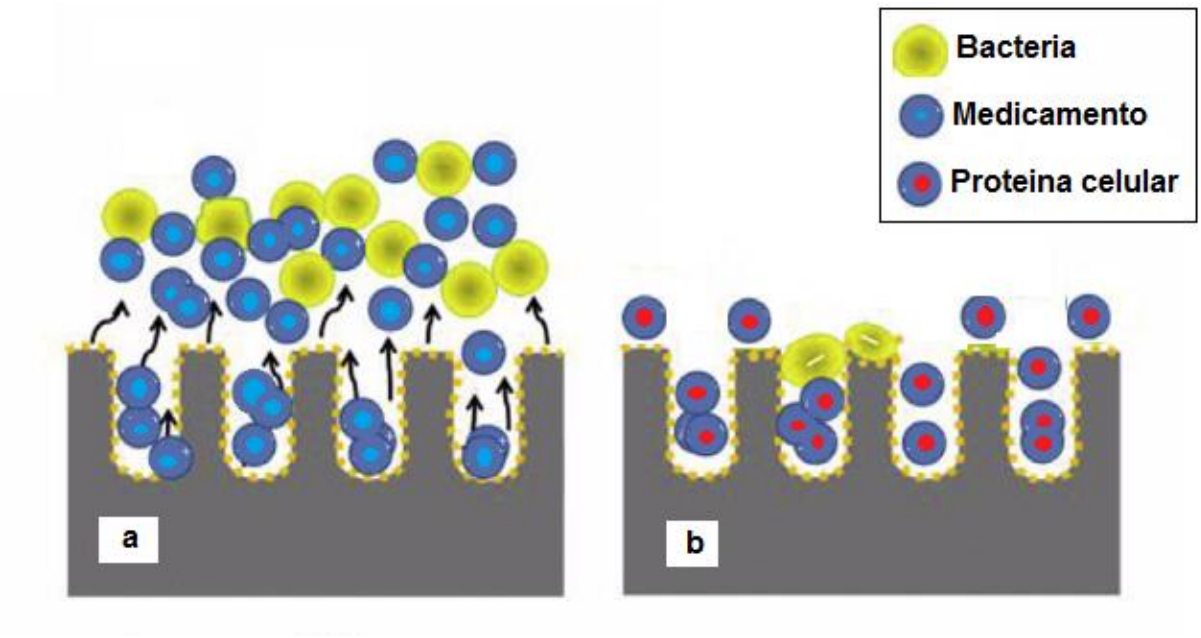
Figura 2 - Nanotubos preenchidos por micelas poliméricas carregados de medicamentos e recoberto por polímeros a plasma.



(fonte: adaptado de Aw, 2011)

Outra possibilidade promissora que vem sendo explorada no combate a infecções sobre implantes é o recobrimento de superfícies por polímeros bioativos (CHOUIRFA, 2016). Ao contrário do que acontece em superfícies carregadas de medicamentos o objetivo desta técnica não é destruir possíveis bactérias aderidas e sim impedir a adesão inicial ao facilitar a ligação com proteínas celulares. A Figura 3 ilustra a diferença no mecanismo de ação das duas técnicas.

Figura 3 - Representação esquemática dos efeitos antimicrobianos por liberação (a) e por contato (b).



(fonte: adaptado de Jia, 2016)

Dessa forma a associação de materiais metálicos com propriedades de volume reconhecidamente viáveis, superfícies nanoestruturadas e recobrimentos poliméricos representa uma promissora opção na pesquisa de materiais para aplicações biomédicas.

5 CONCLUSÃO

O objetivo deste trabalho foi a modificação da superfície da liga Ti15Mo por oxidação anódica e sua associação a polímeros bioativos para aplicação biomédica. Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

a) A oxidação anódica permite o crescimento de nanotubos de TiO_2 sobre liga Ti15Mo em eletrólito de NH_4F/glicerol sob potencial de anodização de 5V, 10V e 20V.

b) Nanotubos formados a 10V são compostos de oxido na fase anatase, apresentam ultra-hidrofilicidade, homogeneidade da camada e baixo diâmetro interno. A combinação dessas características é favorável ao crescimento celular e fez com que tal condição fosse escolhida para o recobrimento por polímeros e posteriores estudos *in vitro.*

c) A deposição de PMOXA pelo método físico (PECVD) pode ser realizada sob diferentes condições de potencia e todas apresentam interação positiva com o antiséptico clorexidina, porém por apresentar molhabilidade e espessura favoráveis deposições a 15W foram escolhidas para a sequência do trabalho.

d) O TiO_2 formador dos nanotubos pode ser efetivamente grafitizado com poliNaSS sem necessidade de oxidação química requerida para superfícies não anodizadas. Comparando os resultados obtidos para a taxa de grafitização das superfícies com nanotubos com as taxas reportadas na literatura para superfícies não anodizadas é possivel afirmar que a nanoestruturação do óxido levou a maior grafitização da superfície.

e) As superfícies da liga Ti15Mo, anodizadas ou não, antes ou depois de recobrimento polimérico não indicam citotoxicidade. Todavia, superfícies contendo clorexidina foram responsáveis por morte celular. Estudos mais aprofundados serão necessários para confirmar se a citotoxicidade desta condição esta ligada a dose de medicamento ou cinética de liberação.

f) Dentre todas as condições estudadas os nanotubos de TiO_2 revestidos de poliNaSS apresentam melhor comportamento *in vitro* no que diz respeito a viabilidade celular a 24 horas, proliferação celular a 7 dias, morfologia celular e adesão a curto termo.

g) A atividade da enzima fosfatase alcalina e deposições de cálcio e fosfato confirmam a diferenciação de osteoblasto superior em superfícies contendo poliNaSS.

Finalmente, a liga Ti15Mo contendo nanotubos e recoberta por polímeros ativos é viavel para aplicações biomédicas podendo futuramente representar uma alternativa superior aos produtos disponiveis no mercado.

REFERÊNCIAS

AINSLIE, K. M. et al.. In vitro inflammatory response of nanostructured titania, silicon oxide, and polycaprolactone. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 91, n. 3, p. 647–655, 2009.

AISSA, I. BEN; HELARY, G.; MIGONNEY, V. Le greffage radicalaire de polymères bioactifs sur le titane pour prèvenir l'infection sur prothèse articulaire. **Irbm**, v. 32, n. 5, p. 322–325, 2011.

ALLAM, N. K.; FENG, X. J.; GRIMES, C. A. Self-Assembled Fabrication of Vertically Oriented Ta2O5 Nanotube Arrays, and Membranes Thereof, by One-Step Tantalum Anodization. **Chemistry of Materials,** v. 20, n. 20, p. 6477-6481, 2008.

ALCHEIKH, A. et al.. PolyNaSS grafting on titanium surfaces enhances osteoblast differentiation and inhibits Staphylococcus aureus adhesion. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**. 24: 1745–1754, 2013

ALTANKOV, G. et al.. Studies on the biocompatibility of materials: Fibroblast reorganization of substratum-bound fibronectin on surfaces varying in wettability. **Journal of Biomedical Materials Research**, Vol. 30, 385391 (1996).

AMBRICO, M. et al.. Engineering polydopamine films with tailored behaviour for next-generation eumelanin -related hybrid devices . **Journal of Materials Chemistry C**, v. 1, n. 5, p. 1018–1028, 2013.

ANAGNOSTOU, F. et al.. Osteoblast functions on functionalized PMMA-based polymers exhibiting Staphylococcus aureus adhesion inhibition. **Biomaterials**, v. 27, n. 21, p. 3912–3919, 2006.

AW, M. S. et al.. a) Polymeric micelles in porous and nanotubular implants as a new system for extended delivery of poorly soluble drugs. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 20, p. 7082, 2011 .

AW, M. S.; ADDAI-MENSAH, J.; LOSIC, D. Magnetic-responsive delivery of drug-carriers using titania nanotube arrays. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 14, p. 6561, 2012.

BALLA, V. K. et al.. Direct laser processing of a tantalum coating on titanium for bone replacement structures. **Acta Biomaterialia,** v. 6, n. 6, p. 2329-2334, 2010. ISSN 1742-7061.

BARBOUR, M. et al.. Differential adhesion of Streptococcus gordonii to anatase and rutile titanium dioxide surfaces with and without functionalization with chlorhexidine. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. Volume 90A, Issue 4, 2008.

BAUER, S. et al.. Size-effects in TiO_2 nanotubes: Diameter dependent anatase/rutile stabilization. **Electrochemistry Communications**, v. 13, n. 6, p. 538–541, 2011.

BERGMAN, C. P., STUMPF, A. Biomaterials. In: **Dental Ceramics, microstructure, properties and degradation.** 84p, VII , 2013.

BUSER, D. et al.. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. **Journal of biomedical materials research**, v. 25, n. 7, p. 889–902, 1991.

CAPELLATO, P, et al. Fibroblast functionality on novel Ti-30Ta nanotube array. **Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems, Materials Science and Engineering C** 32, 2060, 2012.

CAVALLARO, A., MACGREGOR-RAMIASA, M., VASILEV, K. Antibiofouling Properties of Plasma-Deposited Oxazoline-Based Thin Films. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 8 (10), pp 6354–6362, 2016.

CHAVES, J. M. et al.. Characterization of the structure, thermal stability and wettability of the TiO_2 nanotubes growth on the Ti-7.5Mo alloy surface. **Applied Surface Science**, v. 370, p. 76–82, 2016.

CHEN, C.-H.; YANG, M.-R.; WU, S.-K. Polymerized hexamethyldisilazane coated on equiatomic TiNi shape memory alloy using DC-pulsed plasma assisted chemical vapor deposition. **Surface and Coatings Technology**, v. 202, n. 12, p. 2709–2714, 2008.

CHEN, Y. Y. et al.. Microstructures and properties of titanium alloys Ti-Mo for dental use. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)**, v. 16, n. SUPPL., p. 2–6, 2006.

CHEN, Q., THOUAS, G. Metallic implant biomaterials. **Materials Science and Engineering R** ,87, 1–57, 2015.

CHOUIRFA, H., MIGONNEY, V., FALENTIN-DAUDRÉ C. Grafting bioactive polymers onto titanium implants by UV irradiation. **Royal Society of Chemistry Advances**, 6, 13766–13771, 2016.

CHU, P. et al.. Plasma-surface modification of biomaterials. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, v. 36, n. 5-6, p. 143–206, 2002.

CLOUTIER, M. et al.. On the long term antibacterial features of silver-doped diamondlike carbon coatings deposited via a hybrid plasma process. **Journal Biointerphases**, 2014, Volume 9 Issue 2.

DAS, K., BOSE, S., BANDYOPADHYAY, A. TiO_2 nanotubes on Ti: Influence of nanoscale morphology on bone cell–materials interaction. **Journal of Biomedical Materials Research**

Part A, 90(1):225-37 2009.

DE LA ROSA, V. Poly(2-oxazoline)s as materials for biomedical applications. **J Mater Sci: Mater Med**, 25:1211–1225 2014.

EISENBARTH, E. et al.. Biocompatibility of β-stabilizing elements of titanium alloys. **Biomaterials**, v. 25, n. 26, p. 5705–5713, 2004.

ESCADA, A. L. A.; NAKAZATO, R. Z.; CLARO, A. P. R. Growth of TiO_2 nanotubes by anodization of Ti–7.5Mo in NH_4F solutions. **Nanoscience and Nanotechnology Letters**, [S.l.], v. 5, n. 4, p. 510-512, 2013.

ESCADA, A. L., et al.. Hman dermal fibroblast adhesion on Ti-7.5Mo after TiO_2 nanotubes growth. **Materials Science Forum,** v 889, pp195-200, 2017.

FEI, B. et al.. Coating carbon nanotubes by spontaneous oxidative polymerization of dopamine. **Carbon**, v. 46, n. 13, p. 1795–1797, 2008.

FELGUEIRAS, H., MIGONNEY, V. Original article Presence of sulfonate groups on Ti6Al4V surfaces enhances osteoblastic attachment strength at the interface. **IRBM** 34, 371–37 2013.

FELGUEIRAS, H., MIGONNEY, V. Sulfonate groups grafted on Ti6Al4V favor MC3T3-E1 cell performance in serum free medium conditions. **Materials Science and Engineering C,** 39, 196–202, 2014

FELGUEIRAS, H. P.; EVANS, M., MIGONNEY, V. Contribution of fibronectin and vitronectin to the adhesion and morphology of MC3T3-E1 osteoblastic cells to poly(NaSS) grafted Ti6Al4V. **Acta Biomaterialia**, v. 28, p. 225-233, 2015.

FELGUEIRAS, H. et al.. Bone tissue response induced by bioactive polymer functionalized Ti6Al4V surfaces: In vitro and in vivo study. **Journal of Colloid and Interface Science** 491, 44–54, 2017.

GEETHA, M. et al.. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. **Progress in Materials Science**, v. 54, n. 3, p. 397–425, 2009.

GIANELLI, M. et al.. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. **Toxicol In Vitro**. Mar;22(2):308-17, 2008.

GULATI, K. et al.. Biocompatible polymer coating of titania nanotube arrays for improved drug elution and osteoblast adhesion. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 1, p. 449–456, 2012.

GULATI, K.; AW, M. S.; LOSIC, D. Drug-eluting Ti wires with titania nanotube arrays for bone fixation and reduced bone infection. **Nanoscale research letters**, v. 6, n. 1, p. 571, 2011.

GULATI, K.; AW, M. S.; LOSIC, D. Nanoengineered drug-releasing Ti wires as an

alternative for local delivery of chemotherapeutics in the brain. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, n. November, p. 2069–2076, 2012.

HANAWA, T. In vivo metallic biomaterials and surface modification. **Materials Science and Engineering A**, v. 267, n. 2, p. 260–266, 1999.

HAYAKAWA, T.; YOSHINARI, M.; NEMOTO, K. Characterization and protein-adsorption behavior of deposited organic thin film onto titanium by plasma polymerization with hexamethyldisiloxane. **Biomaterials**, v. 25, n. 1, p. 119–127, 2004.

HO, W. F.; JU, C. P.; LIN, J. H. C. Structure and properties of cast binary Ti - Mo alloys. **Biomaterials**, v. 20, n. May, p. 2115–2122, 1999.

IMBERT-LAURENCEAU, E. et al.. Surface modification of polystyrene particles for specific antibody adsorption. **Polymer**, v. 46, n. 4 SPEC. ISS., p. 1277–1285, 2005.

JIA, Z. et al.. Additively Manufactured Macroporous Titanium with Silver-Releasing Micro-/Nanoporous Surface for Multipurpose Infection Control and Bone Repair – A Proof of Concept. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 8 (42), pp 28495–28510, 2016a.

JIA, Z. et al.. Bioinspired anchoring AgNPs onto micro-nanoporous TiO orthopedic coatings: Trap-killing of bacteria, surface-regulated osteoblast functions and host responses. **Biomaterials.** Jan;75:203-22, 2016 b.

KOWALCZYŃSKA, H., NOWAK-WYRZYKOWSKA, M. Modulation of adhesion, spreading and cytoskeleton organization of 3T3 fibroblasts by sulfonic groups present on polymer surfaces. **Cell biology international.** Volume 27, Issue 2, 101–114 2003.

KOWALSKI, D., KIM, D. AND SCHMUKI, P. TiO_2 Nanotubes, Nanochannels and Mesosponge: Self-Organized Formation and Applications. **Nano Today**, 8, 235-264, 2013.

KENER, S. et al.. Bone tissue response to titanium implant surfaces modified with carboxylate and sulfonate groups. **J Mater Sci: Mater Med**. 21:707–715, 2010.

KHUDHAIR, D. et al.. Anodization parameters influencing the morphology and electrical properties of TiO_2 nanotubes for living cell interfacing and investigations. **Materials Science and Engineering C**, 59 (2016) 1125–1142.

KULKARNI, M. et al.. Titanium nanostructures for biomedical applications. **Nanotechnology**, v. 26, p. 62002 (1–18), 2015.

LAI, M. et al.. Surface Functionalization of TiO 2 Nanotubes with Bone Morphogenetic Protein 2 and Its Synergistic Effect on the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. **Biomacromolecules**, v. 12, p. 1097–1105, 2011.

LANGER, R. Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: One laboratory's experience. **Accounts of Chemical Research**, v. 33, n. 2, p. 94–101, 2000.

LANGER, R. S.; PEPPAS, N. A. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. **Biomaterials**, v. 2, n. 4, p. 201–214, 1981.

LARSSON, C. et al.. Bone response to surface modified titanium implants: Studies on the early tissue response to machined and electropolished implants with different oxide thicknesses. **Biomaterials**, v. 17, n. 6, p. 605–616, 1996.

LAVENUS, S. et al.. Cell interaction with nanopatterned surface of implants. **Nanomedicine,** vol.5, no.6, 2010.

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

LEONHARDT, A; DAHLEN, G. Effect of titanium on selected oral bacterial species in vitro. **European journal of oral sciences**, v. 103, n. 6, p. 382–7, 1995.

LI, G. et al.. Effect of calcination temperature on the morphology and surface properties of TiO_2 nanotube arrays. **Applied Surface Science**, v.255, n. 16, p.7323-7328, 2009.

LIU, Y.; DE GROOT, K.; HUNZIKER, E. B. Osteoinductive implants: The mise-en-scène for drug-bearing biomimetic coatings. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 3, p. 398–406, 2004.

LIU, X.; CHU, P. K.; DING, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: R: Reports,** v. 47, n. 3-4, p. 49-121, 2004.

LOCKMAN, Z., SREEKANTAN, S., ISMAIL, S., MENDE, L.S., MACMANUS-DRISCOLL, J.L. Influence of anodisation voltage on the dimension of titania nanotubes. **Journal of Alloys and Compounds**,v.503, p.359–364, 2010.

LONG, M.; RACK, H. J. Titanium alloys in total joint replacement--a materials science perspective. **Biomaterials**, v. 19, n. 18, p. 1621–1639, 1998.

LUO, H. et al.. Facile synthesis of novel size-controlled antibacterial hybrid spheres using silver nanoparticles loaded with poly-dopamine spheres. **RSC Adv.**, v. 5, n. 18, p. 13470–13477, 2015.

MAHAPATRO, A. Bio-functional nano-coatings on metallic biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 55, p. 227–251, 2015.

MAYINGI, J. et al.. Synthèse et greffage de polymères bioactifs sur des surfaces en titane pour favoriser l'ostéointégration Grafting of bioactive polymers onto titanium surfaces and human osteoblasts response. **ITBM-RBM** 29, 1–6, 2008.

MIYAZAKI, T. et al.. Enhancement of bonding strength by graded structure at interface between apatite layer and bioactive tantalum metal. **Journal of Materials Science: Materials**

in Medicine, v. 13, n. 7, p. 651-655, 2002. ISSN 0957-4530.

MIGONNEY, V. et al.. Controlled cell Adhesion and aCtivity onto TAl6V titanium alloy by grafting of the SURFace: Elaboration of orthopaedic implants capable of preventing joint prosthesis infection. **Irbm**, v. 34, n. 2, p. 180–185, 2013.

MINAGAR, S. et al.. Cell response of anodized nanotubes on titanium and titanium alloys - A review. **J Biomed Mater Res Part A**, 101A:2726–2739, 2013.

NEUPANE, M. P. et al. Synthesis and Morphology of TiO2 Nanotubes by Anodic Oxidation Using Surfactant Based Fluorinated Electrolyte. **Journal of Electrochemical Society**. 158(8): C242-C245; 2011.

NIINOMI, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. **Materials Science and Engineering: A**, v. 243, n. 1-2, p. 231–236, 1998.

OH, S.H., JIN, S. Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth. **Materials Science and Engineering C**, v.26, p.1301 – 1306, 2006.

OUGHLIS, S. et al.. Development of proteomic tools to study protein adsorption on a biomaterial, titanium grafted with poly(sodium styrene sulfonate). **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 879, n. 31, p. 3681–3687, 2011.

PILLAY, V. et al.. A Review of Polymeric Refabrication Techniques to Modify Polymer Properties for Biomedical and Drug Delivery Applications. **AAPS PharmSciTech**, Vol. 14, No. 2, 2013

PONSONNET, L. et al.. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour. **Materials Science and Engineering C**, v. 23, n. 4, p. 551–560, 2003.

POPAT, K. C. et al.. Decreased Staphylococcus epidermis adhesion and increased osteoblast functionality on antibiotic-loaded titania nanotubes. **Biomaterials**, v. 28, n. 32, p. 4880–4888, 2007a.

POPAT, K. C. et al.. Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells. **Biomaterials**, v. 28, n. 21, p. 3188–3197, 2007b.

RACK, H. J.; QAZI, J. I. Titanium alloys for biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 26, n. 8, p. 1269–1277, 2006.

RANGEL, A. L. R.; MOREIRA SANTOS, G. R.; ALVES CLARO, A. P. R. Nanotubes Growth on Ti-15Mo Alloys by Anodization at Low Voltage. **Materials Science Forum**. Vol. 869, pp. 924-929, 2016.

REGONINI, D., JAROENWORALUCK, A., STEVENS, R., BOWEN, C.R. Effect of heat treatment on the properties and strucuture of TiO_2 nanotubes: phase compositions. **Surface and Interface Analysis**, v.42, pp.139-144, 2010.

RIEDEL, N.; WILLIAMS, J.; POPAT, K. Ion beam etching titanium for enhanced osteoblast response. **Journal of Materials Science,** v. 46, n. 18, p. 6087-6095, 2011.

SAIDIN, S. et al.. Polydopamine as an intermediate layer for silver and hydroxyapatite immobilisation on metallic biomaterials surface. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 8, p. 4715–4724, 2013.

SIMOVIC, S.; LOSIC, D.; VASILEV, K. Controlled drug release from porous materials by plasma polymer deposition. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 46, n. 8, p. 1317–9, 2010.

SMITH, B. S. et al.. Hemocompatibility of titania nanotube arrays. **Journal of Biomedical Materials Research Part A,** v. 95A, n. 2, p. 350-360, 2010.

SMITH, B. S. et al.. Dermal fibroblast and epidermal keratinocyte functionality on titania nanotube arrays. **Acta Biomaterialia,** v. 7, n. 6, p. 2686-2696, 2011. ISSN 1742-7061.

SOBIESZCZYK, S. Surface modification of Ti and its alloys. **Advances in Materials Science,** v.10, n.1, p.29-42, 2010.

SONG, Y. et al.. Amphiphilic TiO Nanotube Arrays : An Actively Controllable Drug Delivery System Amphiphilic TiO 2 Nanotube Arrays : An Actively Controllable Drug Delivery. p. 4230–4232, 2009.

STIGTER, M. et al.. Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy. **Journal of Controlled Release**, v. 99, n. 1, p. 127–137, 2004.

SUBASH, C., MANDAL, M., Current Status and Future Prospects of New Drug Delivery System. **Pharma Times** - Vol 42 - No. 04 - 2010

SUN, C. YING; CHE, Y. JUN; LU, S. JIN. Preparation and application of collagen scaffold-encapsulated silver nanoparticles and bone morphogenetic protein 2 for enhancing the repair of infected bone. **Biotechnology Letters**, v. 37, n. 2, p. 467–473, 2014.

TAVEIRA LV, MACAK JM, TSUCHIYA H, DICK LFP, SCHMUKI P. Initiation and Growth of Self-Organized TiO_2 Nanotubes Anódically Formed in NH4F(NH4)2SO4 Electrolytes. **Journal of Electrochemical Society** v.152, n.10 p.B405-B410, 2005.

UCHIDA, M. et al.. Structural dependence of apatite formation on titania gels in a simulated body fluid. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Volume 64A, Issue 1, pages 164–170, 1 January 2003.

VARGHESE, O. K. et al.. Crystallization and high-temperature structural stability of titanium oxide nanotube arrays. **Journal of Materials Research**, v. 18, n. 01, p. 156–165, 2003.

VASCONCELOS, D. et al.. Role of protein environment and bioactive polymer grafting in the S. epidermidis response to titanium alloy for biomedical applications. **Materials Science and Engineering C,** 45, 176–183, 2014.

VASILEV, K. et al.. Tailoring the surface functionalities of titania nanotube arrays. **Biomaterials**, v. 31, n. 3, p. 532–540, 2010.

WANG, R. R.; LI, Y. In vitro evaluation of biocompatibility of experimental titanium alloys for dental restorations. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 80, n. 4, p. 495–500, 1998.

WILLIAMS, D. F. Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials. **Elsevier Science Limited**, 1987.

WILLIAMS, D. F. **The Williams dictionary of biomaterials**. Liverpool University Press Liverpool, United Kingdom. 1999.

WU, C. et al.. Applied Surface Science Polydopamine-mediated surface functionalization of electrospun nanofibrous membranes : Preparation , characterization and their adsorption properties towards heavy metal ions. **Applied Surface Science**, v. 346, p. 207–215, 2015.

YANG, M.-R.; WU, S. . DC plasma-polymerized hexamethyldisilazane coatings of an equiatomic TiNi shape memory alloy. **Surface and Coatings Technology**, v. 127, n. 2-3, p. 273–280, 2000.

YAO, C.; SLAMOVICH, E. B.; WEBSTER, T. J. Enhanced osteoblast functions on anodized titanium with nanotube-like structures. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 85, n. 1, p. 157–166, 2008.

YOSHINARI, M. et al.. Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. **Biomaterials**, v. 22, n. 14, p. 2043–2048, 2001.

YU, F. et al.. Experimental and theoretical analysis of polymerization reaction process on the polydopamine membranes and its corrosion protection properties for 304 Stainless Steel. **Journal of Molecular Structure**, v. 982, n. 1-3, p. 152–161, 2010.

YU, J., WANG, B. Effect of calcination temperature on morphology and photoelectrochemical properties of anodized titanium dioxide nanotube arrays. **Applied Catalysis B: Environmental,** v. 94, p. 295-302, 2010.

ZANINI, S. et al.. Plasma polymerized 2-ethyl-2-oxazoline: Chemical characterization and study of the reactivity towards different chemical groups. **Materials and Design**, 108 791–800, 2016.

ZHAO, L. et al.. Antibacterial nano-structured titania coating incorporated with silver

nanoparticles. **Biomaterials** 32 (2011) 5706-5716.

ZHAO, L. et al.. The role of sterilization in the cytocompatibility of titania nanotubes. **Biomaterials**, v. 31, n. 8, p. 2055–2063, 2010.

ZORN, G. et al.. Characterization of Poly(sodium styrene sulfonate) Thin Films Grafted from Functionalized Titanium Surfaces. **American Chemical Society**. Langmuir, 27, 13104–13112, 2011.