

Análise e caracterização de superfícies de titânio em diferentes etapas do processo de silanização

André Aguiar Marques¹, andre.marques@ime.eb.br, ORCID: 0000-0003-1511-4038

Marcelo Henrique Prado da Silva¹, marceloprado@ime.eb.br, ORCID: 0000-0002-1182-5345

Álvaro José Boareto Mendes¹, boareto@ime.eb.br, ORCID: 0000-0003-1432-9045

Carlos Nelson Elias¹, elias@ime.eb.br, ORCID: 0000-0002-7560-6926

¹Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO: As principais modalidades de modificação física, química e topográfica das superfícies dos implantes metálicos já são amplamente estudadas e documentadas. Com os avanços da engenharia tecidual, novas abordagens de substituição ou reparo de órgãos e tecidos são possibilitadas por uma nova era de materiais bioativos com a combinação de biomateriais com biomoléculas. A associação de biomoléculas às superfícies de titânio pode ser realizada por meio do método de silanização, que viabiliza uma ligação covalente entre a biomolécula e o silano ancorado na superfície de titânio previamente funcionalizada. Este estudo propõe a análise, através de microscopia eletrônica de varredura e caracterização em interferometria a laser, de superfícies de titânio em três etapas que compõem o processo de silanização e precedem a associação da biomolécula. Para isso, foram utilizados discos de titânio Grau 4 com 6 mm de diâmetro e 2 mm de espessura e estudadas após as etapas de condicionamento ácido, de condicionamento alcalino e após a incorporação do silano. As superfícies de titânio dos discos das três etapas citadas do processo de preparação foram analisadas e caracterizadas, comparando o padrão de uniformidade e parâmetros de rugosidade e molhabilidade encontrados. Os resultados mostraram que todas as etapas do tratamento mantiveram uma superfície microrrugosa e uniforme, com parâmetros de rugosidade adequados e compatíveis com os parâmetros considerados ideais. No entanto, houve uma variação importante quanto à molhabilidade nos grupos estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Titânio, biomolécula, silanização, rugosidade, molhabilidade.

ABSTRACT: The main methods of physical, chemical and topographical modification of the surfaces of metallic implants have already been widely studied and documented. With advances in tissue engineering, new approaches to replacing or repairing organs and tissues are made possible by a new era of bioactive materials with the combination of biomaterials with biomolecules. The association of biomolecules with titanium surfaces can be carried out through the silanization method, which enables a covalent bond between the biomolecule and the silane anchored on the previously functionalized titanium surface. This study proposes the analysis, through scanning electron microscopy and characterization in laser interferometry, of titanium surfaces in three stages that make up the silanization process and precede the association of the biomolecule. For this, Grade 4 titanium discs with 6 mm in diameter and 2 mm in thickness were used and studied after the acid etching and alkaline etching stages and after the incorporation of silane. The titanium surfaces of the discs from the three mentioned stages of the preparation process were analyzed and characterized, comparing the uniformity standard and roughness and wettability parameters found. The results showed that all stages of the treatment maintained a micro-rough and uniform surface with adequate roughness parameters compatible with the parameters considered ideal. However, there was an important variation regarding wettability in the groups studied.

KEYWORDS: Titanium, biomolecule, silanization, roughness, wettability.

1. Introdução

A pesar da taxa de sucesso dos implantes de titânio ser da ordem de 95-98%, novas técnicas de modificação de superfície são continuamente desenvolvidas para melhorar a rugosidade, molhabilidade, adesão, fixação de célula, proliferação celular e a osseointegração [1]. Procura-se, com os tratamentos, obter a rugosidade adequada dos implantes para aumentar a ancoragem óssea e melhorar a biocompatibilidade dos implantes [2]. Paralelamente, as alterações na camada de óxidos das

superfícies metálicas, como a do titânio, e as técnicas de funcionalização de superfícies com materiais bioativos têm sido investigadas e desenvolvidas [3]. A funcionalização das superfícies metálicas é bastante relevante na área de biomateriais, uma vez que esta é capaz de controlar a molhabilidade do material [4], a energia de superfície [5], a adsorção de proteínas [6], a liberação de drogas [7] e a interação das células com o implante [8].

A funcionalização da superfície através silanos é um dos métodos mais comumente usados para preparar monocamadas. A principal vantagem do uso de

silanos em superfícies metálicas é a rápida formação de uma ligação covalente entre o substrato e o grupo de ancoragem. Essa ligação covalente estabiliza a monocamada e permite modificações químicas posteriores, como a associação de biomoléculas, sem comprometer a integridade da monocamada [9].

Diante da possibilidade de conferir a atividade antimicrobiana à superfície do titânio, ou até mesmo algum nível de bioatividade em um metal considerado inicialmente inerte, este estudo realizou análise através de Microscópio Eletrônico de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG) e caracterização em Interferometria a laser de superfícies de titânio em três etapas diferentes do processo de silanização, com objetivo de analisar e caracterizar o padrão de uniformidade e parâmetros de rugosidade encontrados.

2. Revisão de literatura

diversas modificações da superfície dos implantes metálicos foram desenvolvidas usando métodos subtrativos e aditivos. Entre esses métodos, os mais utilizados são o jateamento de partículas, o ataque ácido e a anodização. Essas técnicas aumentam a rugosidade e melhoram o sucesso clínico, com taxas de cicatrização mais rápidas e potencialmente menores intervalos de tempo para carregamento. No entanto, cada procedimento gera uma superfície rugosa com características topográficas ligeiramente diferentes, mesmo quando possuem valores iguais em suas médias aritméticas de rugosidade (Ra). Além disso, como resultado dessas modificações, a molhabilidade e as características químicas da superfície do implante também são frequentemente alteradas e podem mudar drasticamente a resposta celular inicial a um material implantado [10].

A maior parte dos trabalhos disponíveis na literatura que analisam a influência da rugosidade na osseointegração utilizam, convencionalmente, somente os valores de Ra. Alguns trabalhos correlacionam o valor de Ra com outras propriedades das superfícies, como a molhabilidade, adesão das células *in vitro* e adsorção de proteínas. Além do fato da escolha de Ra como parâmetro de análise da rugosidade não ser justificada nesses trabalhos, a avaliação isolada de um parâmetro

da rugosidade do implante não constitui a análise ideal para sua caracterização, pois superfícies com valores semelhantes de Ra podem apresentar morfologias diferenciadas. Portanto, há necessidade de correlacionar entre si os diversos parâmetros que caracterizam a rugosidade, bem como analisar a interferência com outras propriedades da superfície dos implantes [11].

Os parâmetros para análise e caracterização de rugosidade caracterizam a superfície implantar. No entanto, o papel específico de cada parâmetro da rugosidade na osseointegração ainda não é conclusivo [11]. Uma melhor avaliação da rugosidade e adesão celular pode ser obtida por meio da associação dos valores de pelo menos um parâmetro de altura, um espacial, e um híbrido [12]. A rugosidade da superfície pode ser dividida em três níveis, dependendo da escala dos recursos: topologias macro, micro e nano-dimensionadas [13]. O nível macro é definido para características topográficas como estando na faixa de milímetros a dezenas de microns. Essa escala está diretamente relacionada com a geometria do implante, com parafusos rosqueados e tratamentos de superfície macroporosa dando rugosidade superficial superior a 10 μm . A alta rugosidade resulta em intertravamento mecânico entre a superfície do implante e o osso adjacente. No entanto, um grande risco com alta rugosidade da superfície pode ser um aumento na peri-implantite [14].

A rugosidade micrométrica dos implantes dentários está na faixa de 1-10 μm . Essa faixa de rugosidade maximiza o intertravamento entre o osso mineralizado e a superfície do implante. Nessas superfícies, as irregularidades permitem que células osteogênicas se unam e depositem osso, produzindo a interface osso-implante e por isso considera-se que as microrrugosidades atuam no nível celular da osseointegração [15].

Perfis de superfície na faixa nanométrica desempenham um papel importante na adsorção de proteínas, adesão de células osteoblásticas e na taxa de osseointegração. No entanto, a rugosidade da superfície reproduzível na faixa nanométrica é difícil de produzir com tratamentos químicos. Além disso, a nano topografia de superfície ideal para adsorção seletiva de proteínas levando à adesão de células osteoblásticas e aposição óssea rápida ainda é desconhecida [14].

Vários métodos foram desenvolvidos para criar uma superfície rugosa e melhorar a osseointegração de implantes dentários de titânio. Esses métodos usam pulverização de plasma de titânio, jateamento com partículas cerâmicas, ataque ácido e anodização [10, 14].

As técnicas de modificação da superfície podem ser utilizadas individualmente, ou combinadas, e podem ser classificadas em três categorias: físicas, químicas e biológicas [2].

Superfícies nano rugosas com características semelhantes às dos receptores e proteínas da membrana celular têm um papel crucial na melhoria do desempenho do implante e da osseointegração. Em uma condição de nanoescala, os receptores de membrana celular, integrinas e proteínas estão envolvidos e melhoram a qualidade geral da osseointegração e outras reações biológicas entre osso e implante [16].

Embora os biomateriais metálicos possam diferir em diversas propriedades físicas e químicas, muitos deles compartilham o potencial de funcionalização da superfície por meio da reatividade da superfície grupos -OH ligados como pontos de ancoragem para a formação de monocamadas densamente empacotadas. A ativação pode ser obtida por ataque a úmido, ataque a seco e ativação por plasma. A superfície terminada por grupos hidroxila torna possível a ligação com outras moléculas por meio de reações de condensação [9].

Diversos grupos funcionais reagem com a hidroxila terminal, levando à formação de camadas conhecidas como *self assembled monolayers* (SAMs) ou monocamadas auto-organizadas. Por meio de interações químicas específicas, moléculas orgânicas podem se organizar espontaneamente sobre vários tipos de superfície [17].

A preparação de monocamadas de silano a partir de solução é padronizada atualmente para obter de forma mais reprodutível e rápida SAM's de silano através da imersão de um metal em uma solução do precursor APTES (3-aminopropil) trietoxissilano em diferentes concentrações e temperaturas. O APTES é comumente usado para obter superfícies terminadas em amina que são aplicadas para promover adesão de proteínas e crescimento celular em implantes biológicos [9].

A reação tem o potencial de formar uma superfície modificada ou funcionar como um intermediário na ligação de ligantes orgânicos a superfícies de titânio [4].

3. Materiais e métodos

o preparo das amostras foi realizado em conjunto no laboratório de Biomateriais – SE/8 e Laboratório de Processos Biotecnológicos – SE/5 do Instituto Militar de Engenharia, RJ.

Um total de 15 amostras foi dividido em três grupos com cinco discos de titânio grau 4, medindo 6X2 mm e inicialmente com superfície polida. Os grupos formados foram: titânio após a etapa de condicionamento (Ti-Etc), titânio após a etapa de condicionamento alcalino (Ti-Alk) e o titânio após a etapa de silanização (Ti-Sil).

Todos os discos foram submetidos ao mesmo condicionamento ácido com solução composta por H_2SO_4 / HF / HCl e para formar uma superfície microrrugosa uniforme semelhante à microtextura dos implantes osseointegráveis disponíveis no mercado, sendo esta, portanto, a superfície inicial de trabalho para o presente estudo. Após esse tratamento, os discos foram lavados com água destilada, secos em N_2 .

As amostras dos grupos Ti-Alk e Ti-Sil foram ativadas com tratamento alcalino por imersão em 20 ml de solução com NaOH 5M durante 8h à temperatura de 60°C para a formação dos grupos funcionais hidroxila (OH^-) necessários para a união covalente entre o titânio e o silano.

Depois dessa etapa, foram lavadas com água destilada por 30 min e secas individualmente em N_2 . Apesar dessa etapa tornar possível a ligação do silano na superfície do titânio, ela tem como possível consequência a formação de uma camada de titanato de sódio amorfa na superfície do metal, que se imersa em fluido com condições iônicas ideais, poderá sofrer cristalização em apatita, conferindo, assim, algum nível de bioatividade ao material.

Para o procedimento de silanização, são necessários um silano, uma base e um solvente. O silano escolhido foi o CPTES de 3(cloropropil)-trietoxissilano, devido à presença do grupo terminal cloro em sua porção organofuncional, o que facilita a interação do silano com o peptídeo a um pH de 11. O solvente escolhido foi o pentano anidro e a base a N,N-diisopropiletilamina (DIPEA). Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-AldrichBrasil.

Para a criação do grupo Ti-Sil, cinco amostras previamente ativadas foram imersas em solução contendo 7 ml de pentano anidro, 1,2 ml de 3(cloropropil)-trietoxissilano e 0,6ml da base N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) sob uma atmosfera saturada de N₂ durante 1h. Ao final desse período, as amostras foram lavadas três vezes com água destilada e secas com nitrogênio.

Amostras dos três grupos foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e caracterizadas em Interferometria a laser Zygo no Laboratório de Biomateriais do Instituto Militar de Engenharia (IME).

A molhabilidade foi quantificada pela medida do ângulo de contato com água destilada. Neste trabalho, foi empregado o goniômetro FTA100 (First Ten Angstroms, Portsmouth, VA, USA). Quanto menor o ângulo de contato, maior a molhabilidade. A redução do ângulo de contato indica que a superfície é mais hidrofílica.

4. Resultados e discussão

após o condicionamento ácido com solução composta por H₂SO₄ / HF / HCl, todos os discos formaram uma superfície microrrugosa com parâmetro Ra aproximadamente entre 1 e 2 µm, semelhante à microtextura dos implantes osseointegráveis disponíveis no mercado, conforme verificado nas **figuras 1 e 2**, o que confirmou a uniformidade do tratamento realizado ao longo de toda a sua extensão.

A superfície das amostras ativadas através do condicionamento com NaOH (**figura 3**) e das amostras submetidas à incorporação do silano (**figura 4**) também foram analisadas em MEV/FEG e caracterizadas por meio do Interferômetro a laser Zygo, confirmando a uniformidade da microtextura superficial e parâmetros de rugosidade alcançados após o condicionamento ácido.

Fig. 1 - Micrografia (MEV/FEG) da superfície da amostra de titânio do grupo Ti-Etc após condicionamento ácido. Aumento de 500X, 1000X, 2500X, 5000X.

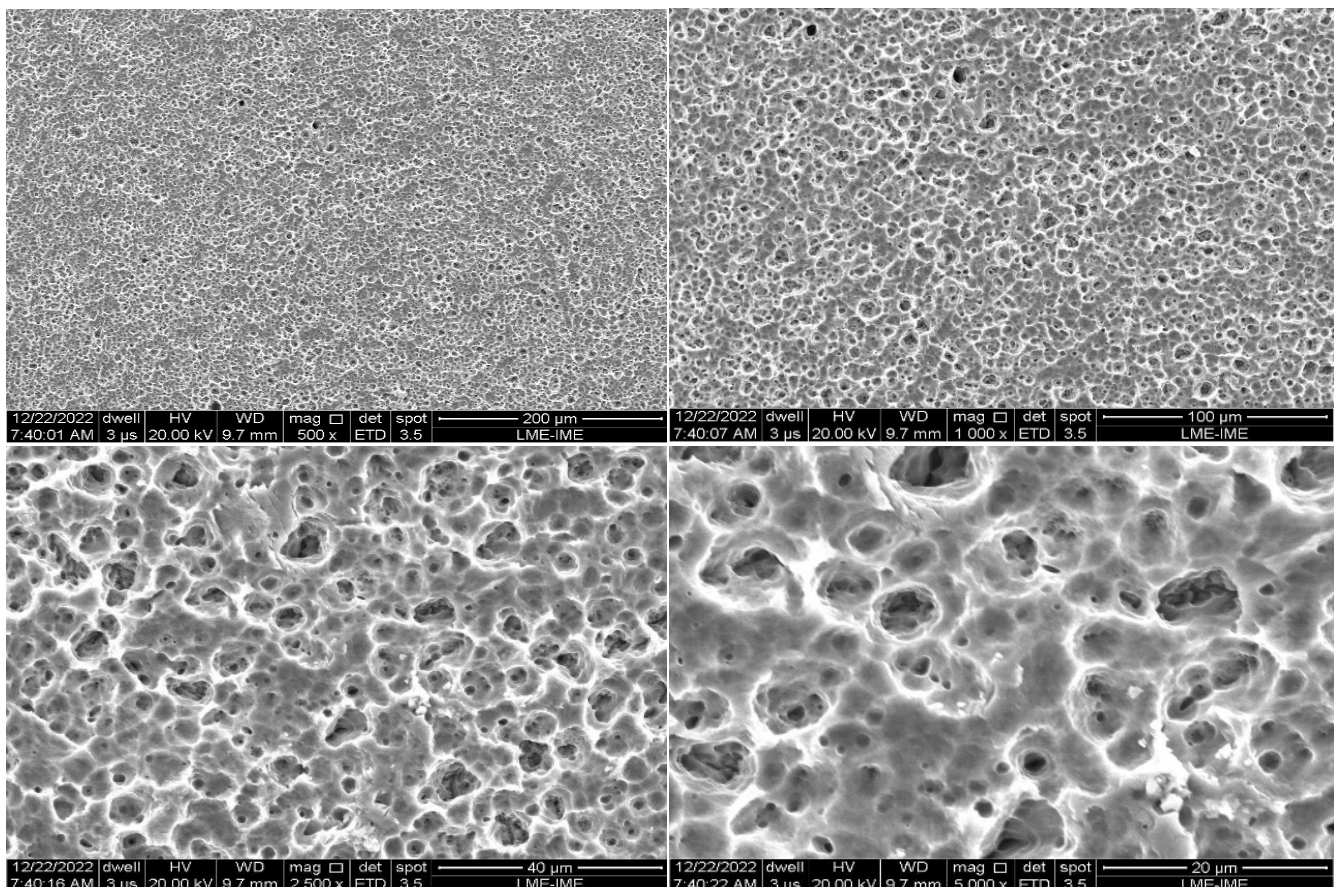


Fig. 2 - Micrografia (MEV/FEG) da superfície da amostra de titânio do subgrupo Ti-Etc após condicionamento ácido. Aumento de 10.000X, 40.000X.

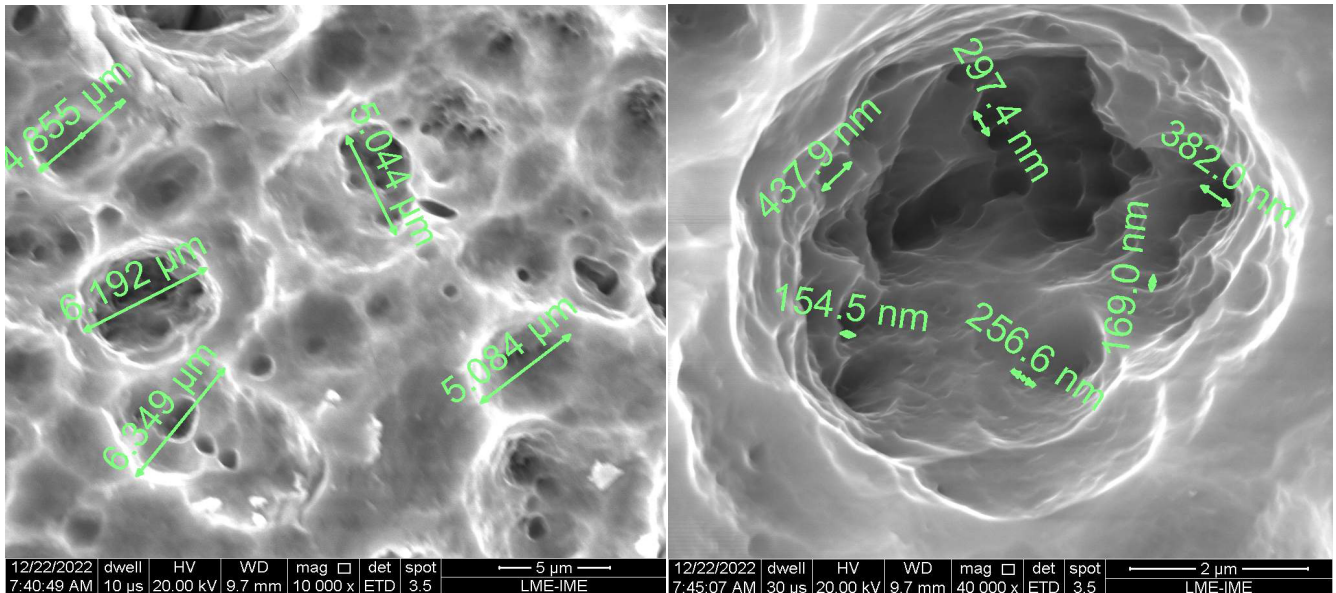


Fig. 3 - Micrografia (MEV/FEG) da superfície da amostra de titânio do grupo Ti-Alk após condicionamento alcalino. Aumento de 500X, 1000X, 2500X, 5000X.

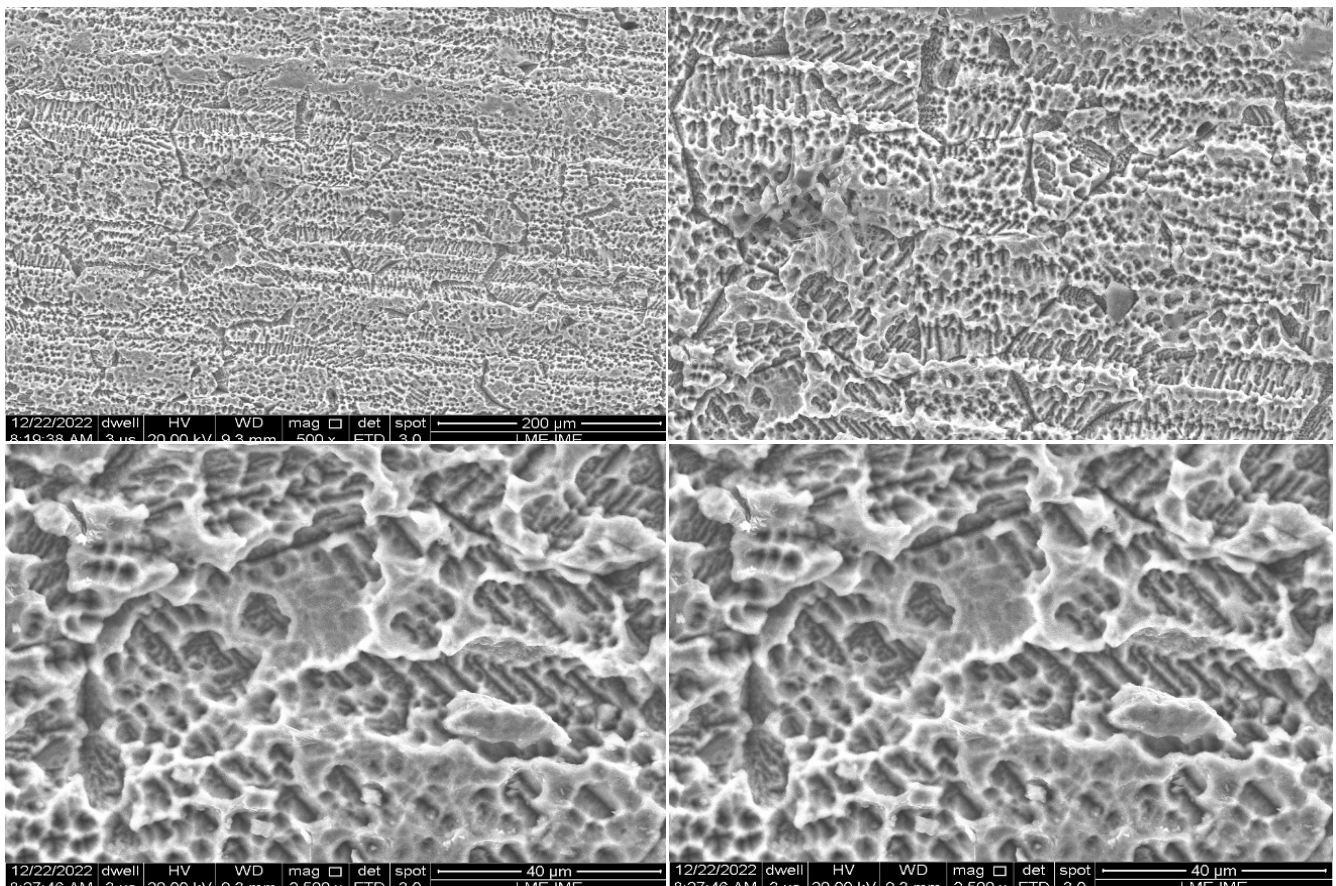
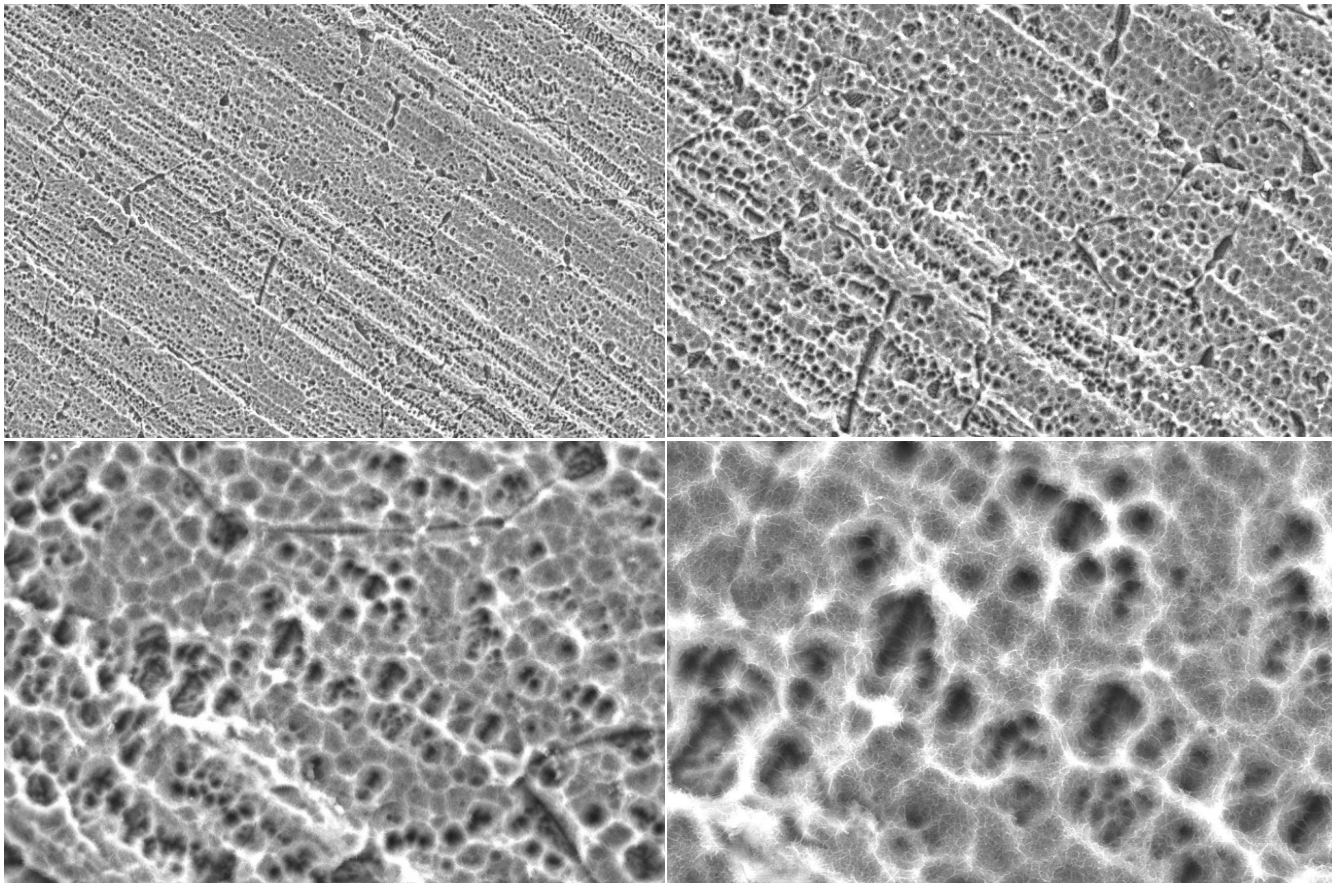


Fig. 4 - Micrografia (MEV/FEG) da superfície da amostra de titânio do grupo Ti-Sil após silanização. SEM/FEG. Aumento de 500X, 1000X, 2500X, 5000X.



A análise em MEV/FEG dos subgrupos Ti-Alk e Ti-Sil em maior aumento, especialmente em 40.000X (figuras 5 e 6), evidenciou superfícies com características nanométricas ao longo da superfície, o que pode significar uma melhor adsorção de proteínas e um aprimoramento na osseointegração de implantes

A caracterização das superfícies em Interferômetro a laser Zygo, das amostras dos três grupos estudados (figuras 7, 8, 9; tabelas 1, 2, 3), mostrou uma superfície com parâmetros de rugosidade compatíveis com os implantes osseointegráveis comerciais, inclusive com média do parâmetro Ra entre 1 e 2 μm .

Pode-se observar que não houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros de rugosidade entre os grupos estudados. Entretanto, verificou-se diferença estatística entre os demais grupos.

Um estudo comparativo em amostras de titânio com superfície anodizadas, com ataque ácido e fluoreto sobre o valor de Ra e o ângulo de contato, concluíram que os ângulos de contato foram influenciados por Ra nos grupos de amostras. Apesar da pequena diferença entre Ra dos grupos, a molhabilidade apresentou a tendência de reduzir com o aumento de Ra [18].

Diferentes tratamentos aplicados com objetivo de aumentar a rugosidade superficial e a molhabilidade das amostras de titânio, e analisados com medidas de perfilometria e ângulo de contato, mostraram que a molhabilidade não é o parâmetro crítico para adesão e proliferação celular, e que a topografia da superfície desempenha o papel principal [19].

Fig. 5 - Micrografia (MEV/FEG) da superfície da amostra de titânio do grupo Ti-Sil após condicionamento alcalino. SEM/FEG. Aumento de 10.000X, 40.000X.

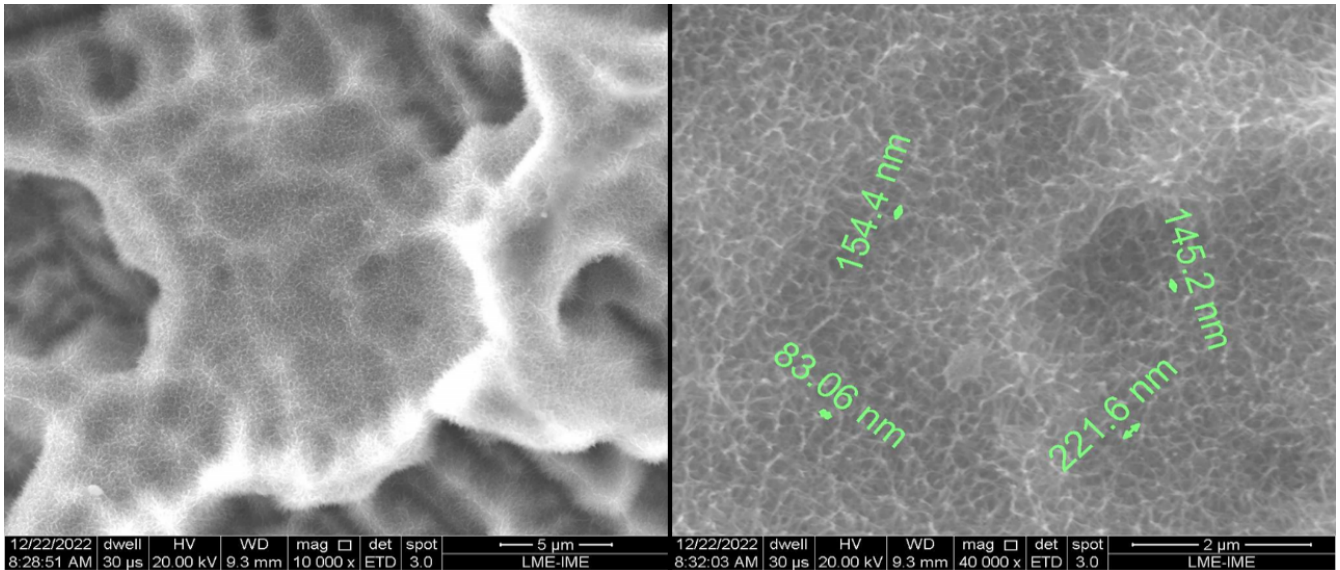
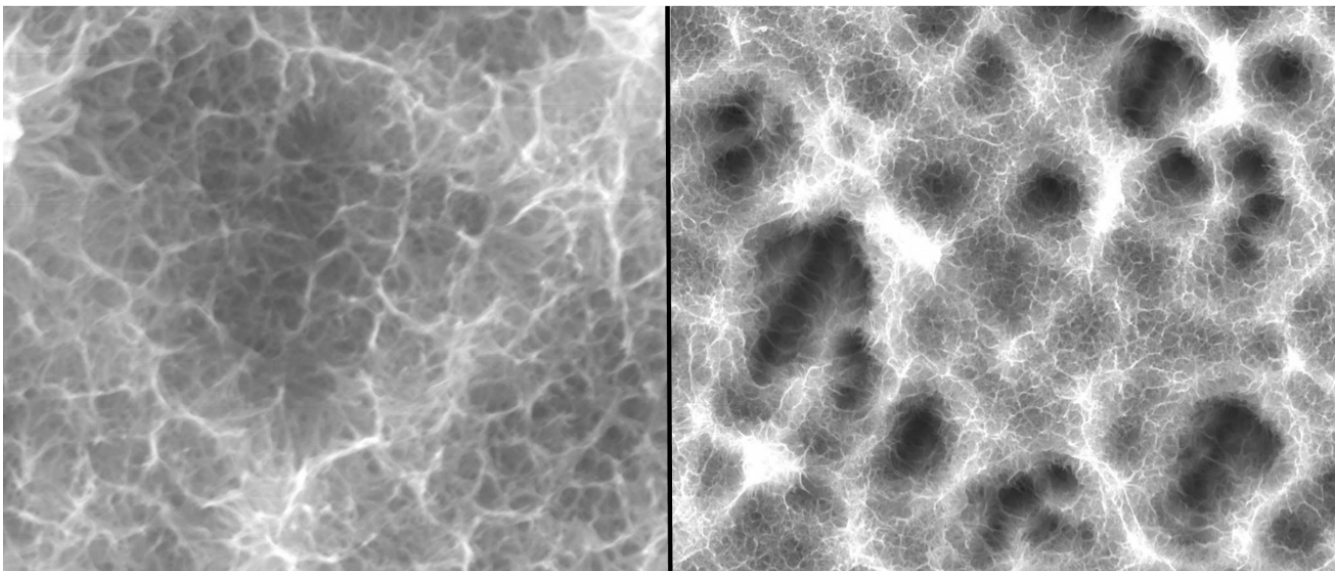


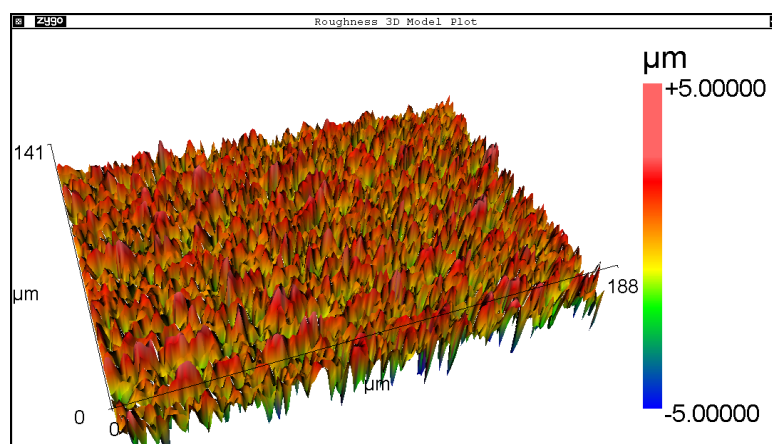
Fig. 6 - Micrografia da superfície da amostra de titânio do subgrupo Ti-Sil após silanização. SEM/FEG. Aumento de 10.000X, 40.000X.



No presente estudo, os maiores valores médios de Ra foram encontrados no grupo Ti-Alk, ou seja, após a etapa de tratamento alcalino, quando comparado com os outros dois subgrupos. No entanto, diferente

do relatado por Coutinho e Elias [18], o grupo que apresentou maiores valores médios de Ra também apresentou menores valores de ângulo de contato e maior molhabilidade.

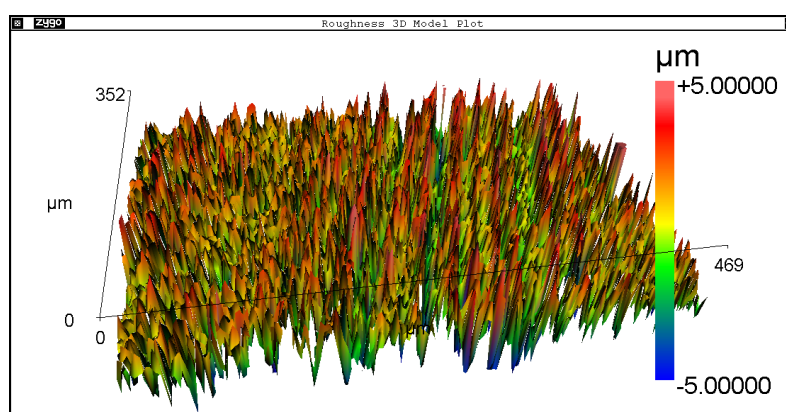
Fig. 7 - Imagem 3D da microtopografia da superfície da amostra após condicionamento ácido – Interferômetro Zygo



Tab. 1 - Parâmetros de rugosidade em cinco regiões diferentes na superfície da amostra após condicionamento ácido – Interferômetro Zygo

| | Ra | Rq | Picos | Valles | Densidade picos | Densidade vales | Distância picos |
|--------|-------|-------|-------|--------|-------------------|-------------------|-----------------|
| | µm | µm | | | 1/mm ² | 1/mm ² | µm |
| 1 | 1,013 | 1,380 | 84 | 480 | 3.185,323 | 18.201,848 | 17,718 |
| 2 | 0,990 | 1,303 | 85 | 457 | 3.223,391 | 17.330,467 | 17,613 |
| 3 | 1,002 | 1,313 | 87 | 464 | 3.299,397 | 17.596,782 | 17,409 |
| 4 | 1,105 | 1,453 | 86 | 403 | 3.261,101 | 15.281,670 | 17,511 |
| 5 | 1,083 | 1,424 | 92 | 418 | 3.491,314 | 15.862,711 | 16,924 |
| Média | 1,038 | 1,374 | 87 | 444 | 3.292,105 | 16.854,696 | 17,435 |
| Desvio | 0,052 | 0,066 | 3 | 32 | 119,188 | 1.229,869 | 0,308 |

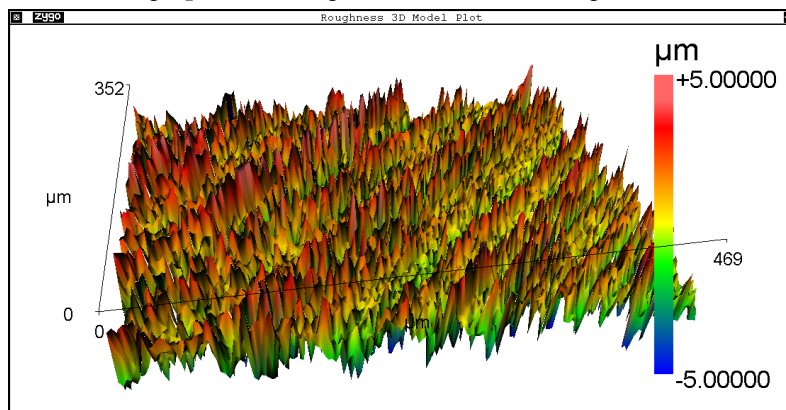
Fig. 8 - Imagem 3D da microtopografia da superfície da amostra após condicionamento alcalino – Interferômetro Zygo



Tab. 2 - Parâmetros de rugosidade em cinco regiões diferentes na superfície da amostra após condicionamento alcalino – Interferômetro Zygo

| | Ra | Rq | Picos | Valles | Densidade picos | Densidade vales | Distância picos |
|--------|-------|-------|-------|--------|-------------------|-------------------|-----------------|
| | µm | µm | | | 1/mm ² | 1/mm ² | µm |
| 1 | 1,497 | 1,881 | 335 | 653 | 2.074,292 | 4.043,321 | 21,957 |
| 2 | 1,463 | 1,848 | 484 | 922 | 3.133,691 | 5.969,552 | 17,864 |
| 3 | 1,457 | 1,842 | 713 | 1374 | 4.980,133 | 9.597,060 | 14,170 |
| 4 | 1,522 | 1,895 | 396 | 569 | 2.429,805 | 3.491,310 | 20,287 |
| 5 | 1,550 | 1,927 | 295 | 626 | 1.797,977 | 3.815,368 | 23,583 |
| Média | 1,498 | 1,879 | 445 | 829 | 2.883,180 | 5.383,322 | 19,572 |
| Desvio | 0,039 | 0,035 | 166 | 334 | 1274,508 | 2.546,225 | 3,687 |

Fig. 9 - Imagem 3D da microtopografia da superfície da amostra após silanização – Interferômetro Zygo



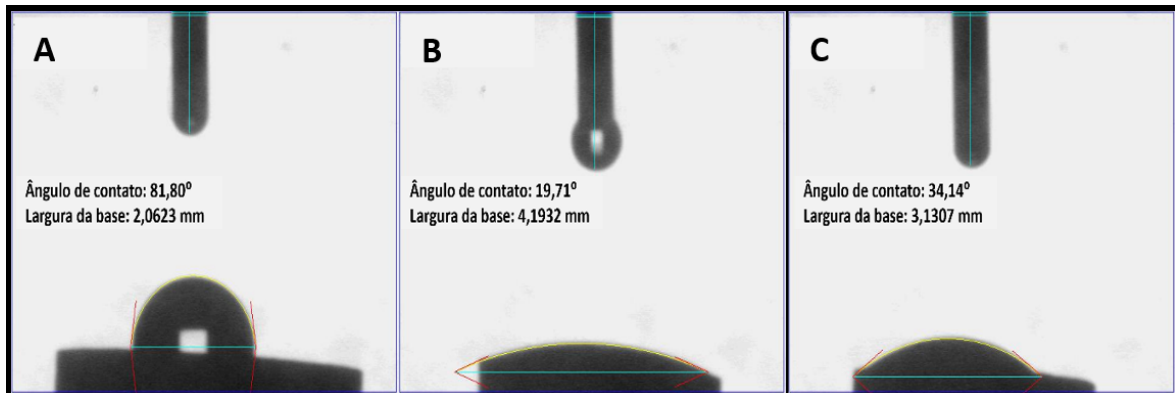
Tab. 3 - Parâmetros de rugosidade em cinco regiões diferentes na superfície da amostra após silanização – Interferômetro Zygo

| | Ra | Rq | Picos | Valles | Densidade picos | Densidade vales | Distância picos |
|--------|-------|-------|-------|--------|-------------------|-------------------|-----------------|
| | µm | µm | | | 1/mm ² | 1/mm ² | µm |
| 1 | 1,231 | 1,619 | 621 | 620 | 3.769,170 | 3.763,101 | 16,288 |
| 2 | 1,157 | 1,554 | 676 | 634 | 4.101,644 | 3.846,808 | 15,614 |
| 3 | 1,365 | 1,828 | 667 | 498 | 4.053,691 | 3.026,594 | 15,706 |
| 4 | 1,255 | 1,664 | 765 | 551 | 4.641,971 | 3.343,433 | 14,677 |
| 5 | 1,213 | 1,622 | 617 | 651 | 3.743,953 | 3.950,265 | 16,343 |
| Média | 1,244 | 1,657 | 669 | 591 | 4.062,086 | 3.586,040 | 15,726 |
| Desvio | 0,076 | 0,103 | 60 | 64 | 362,253 | 388,538 | 0,673 |

A molhabilidade quantificada pela medida do ângulo de contato com água destilada evidenciou menores valores nas superfícies dos grupos Ti-Alk e Ti-Sil,

fazendo com que as superfícies estudadas dessas duas etapas apresentem características mais hidrofílicas em comparação com as superfícies do subgrupo somente com o tratamento ácido (**figura 10**).

Fig. 10 - Molhabilidade das amostras dos grupos Ti-Etc (A), Ti-Alk (B) e Ti-Sil (C).



5. Conclusão

De acordo com os resultados encontrados, pode-se concluir que:

- Não houve diferença significativa entre as médias dos parâmetros de rugosidade entre as amostras com superfície nos três grupos estudados;
- As amostras de todos os grupos estudados apresentaram valores de rugosidade média, compatíveis com os parâmetros recomendados em estudos anteriores;
- As amostras do grupo Ti-Alk apresentaram molhabilidade significativamente superior às

- amostras com apenas o condicionamento ácido;
- Nas amostras estudadas, não foi observada a tendência da redução linear da molhabilidade com o aumento da rugosidade;
- As características encontradas nas superfícies do titânio após etapas de condicionamento alcalino e silanização mantêm parâmetros de rugosidade adequados e sugerem ainda uma melhora na molhabilidade, conferindo maior hidrofiliabilidade a essas superfícies, quando comparadas ao grupo inicial de trabalho usado como referência (Ti-Etc).

Referências

- JEMAT, A.; GHAZALI, M. J.; RAZALI, M.; OTSUKA, Y. Surface modifications and their effects on titanium dental implants. **BioMed Research International**, [s. l.], 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/791725>
- LIU, Y.; RATH, B.; TINGART, M.; ESCHWEILER, J. Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, [s. l.], v. 108, n. 3, p. 470-484. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36829>
- ZAVAGLIA, C. A. C.; PRADO-SILVA M. H. **Biomateriais**. São Paulo: Elsevier Inc., 2016.
- PESEK, J. J.; MATYSKA, M. T. Methods for the modification and characterization of oxide surfaces. **Interface Science**, [s. l.], v. 5, p. 103-117, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1008648923962>
- RYU, D. Y.; SHIN, K.; DROCKENMULLER, E.; HAWKER, C. J.; RUSSELL, T. P. A generalized approach to the modification of solid surfaces. **Science**, [s. l.], v. 308, n. 5719, p. 236-239, 2005. <https://doi.org/10.1126/science.1106604>
- LIU, X.; CHU, P. K.; DING, C. Surface nano-functionalization of biomaterials. **Materials Science and Engineering: R: Reports**, [s. l.], v. 70, n. 3-6, p. 275-302, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2010.06.013>

- [7] ZAFAR, M. S.; FAREED, M. A.; RIAZ, S.; LATIF, M.; HABIB, S. R.; KHURSHID, Z. Customized therapeutic surface coatings for dental implants. **Coatings**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 568, 2020. <https://doi.org/10.3390/coatings10060568>
- [8] SAFONOV, V.; ZYKOVA, A.; SMOLIK, J.; ROGOWSKA, R.; LUKYANCHENKO, V.; KOLESNIKOV, D. Modification of implant material surface properties by means of oxide nano-structured coatings deposition. **Applied Surface Science**, [s. l.], v. 310, [s. l.], p. 174-179, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.04.110>
- [9] PUJARI, S. P.; SCHERES, L.; MARCELIS, A. T.; ZUILHOF, H. Covalent surface modification of oxide surfaces. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 53, n. 25, p. 6322-6356, 2014. <https://doi.org/10.1002/anie.201306709>
- [10] HOTCHKISS, K. M.; SOWERS, K. T.; OLIVARES-NAVARRETE, R. Novel in vitro comparative model of osteogenic and inflammatory cell response to dental implants. **Dental Materials**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 176-184, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.11.011>
- [11] LEITE, G. B.; FONSECA, Y. R.; GOMES, A. V.; ELIAS, C. N. Relação entre os parâmetros de rugosidade 3D e a molhabilidade do titânio com grãos micrométricos e sub-micrométricos. **Revista Matéria**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, 2020. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620200002.1055>
- [12] WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. **Clinical oral implants research**, [s. l.], v. 20, p. 172-184, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01775.x>
- [13] MATOS, G. R. M. Surface roughness of dental implant and osseointegration. **Journal of Maxillofacial and Oral Surgery**, [s. l.], v. 20, p. 1-4, 2021. <https://doi.org/10.1007/s12663-020-01437-5>
- [14] LE GUÉHENNEC, L.; SOUEIDAN, A.; LAYROLLE, P.; AMOURIQ, Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. **Dental Materials**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 844-854, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2006.06.025>
- [15] WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T.; ANDERSSON, B.; KROL, J. J. A histomorphometric study of screw-shaped and removal torque titanium implants with three different surface topographies. **Clinical Oral Implants Research**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 24-30, 1995. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.1995.060103.x>
- [16] LI, J.; ZHOU, P.; ATTARILAR, S.; SHI, H. Innovative surface modification procedures to achieve micro/nano-graded Ti-based biomedical alloys and implants. **Coatings**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 647, 2021. <https://doi.org/10.3390/coatings11060647>
- [17] FREIRE, R. S.; PESSOA, C. A.; KUBOTA, L. T. Emprego de monocamadas auto-organizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 381-389, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000300016>
- [18] COUTINHO, M. P.; ELIAS, C. N. Rugosidade e molhabilidade do titânio usado em implantes dentários com superfícies tratadas. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 2, p. 234-238, 2010. <http://dx.doi.org/10.18363/rbo.v66n2.p.234>
- [19] PORRELLI, D.; MARDIROSSIAN, M.; CRAPISI, N.; URBAN, M.; ULIAN, N. A.; BEVILACQUA, L.; MAGLIONE, M. Polyetheretherketone and titanium surface treatments to modify roughness and wettability—Improvement of bioactivity and antibacterial properties. **Journal of Materials Science & Technology**, [s. l.], v. 95, p. 213-224, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2021.04.023>