

Avaliação da biocompatibilidade do polímero PCL recobrando a liga Ti-30Ta
Biocompatibility evaluation of the PCL polymer covering the Ti-30Ta alloy
Evaluación de biocompatibilidad del polímero PCL que cubre la aleación Ti-30Ta

Recebido: 23/06/2020 | Revisado: 13/07/2020 | Aceito: 15/07/2020 | Publicado: 20/07/2020

Patrícia Capellato

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6397-5820>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil

E-mail: pcapellato@gmail.com

Gilbert Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3923-3982>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil

E-mail: gilbert@unifei.edu.br

Maria Gabriela Araújo Ranieri

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8631-020X>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil

E-mail: gabirani@unifei.edu.br

Mirian de Lourdes Noronha Motta Melo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9668-7799>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil

E-mail: mirianmottamelo@unifei.edu.br

Samira Esteves Afonso Camargo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2527-0651>

Universidade Estadual Paulista, Brasil

E-mail: seacamargo@gmail.com

Cecilia Amélia de Carvalho Zavaglia

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2272-1306>

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

E-mail: czavaglia@uol.com.br

Ana Paula Rosifini Alves Claro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3353-4247>

Universidade Estadual Paulista, Brasil

E-mail: paula.rosifini@unesp.br

Tainara Aparecida Nunes Ribeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0589-8513>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil

E-mail: tainaraan@yahoo.com.br

Mariana da Silva Novakoski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8061-2258>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil

E-mail: mariana.novakoski@icloud.com

Daniela Sachs

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3767-2455>

Universidade Federal de Itajubá, Brasil, Brasil

E-mail: danisachs@unifei.edu.br

Resumo

Nos últimos anos, diversas pesquisas têm sido realizadas buscando o desenvolvimento de materiais para aplicações biomédicas. E, um dos objetivos desses estudos, é otimizar o comportamento da interface material/meio biológico. Dentre os materiais mais utilizados, estão o titânio e suas ligas devido às suas propriedades como resistência à corrosão e biocompatibilidade. Estudos constataram que o comportamento celular pode ser influenciado por alterações na morfologia das superfícies. Dessa maneira, o objetivo deste estudo foi associar a deposição de fibras poliméricas de PCL com o crescimento de nanotubos de TiO₂ na superfície da liga Ti-30Ta para aplicações biomédicas. O processo de eletrofição foi usado para a produção de nanofibras de polímero com 200 nm, devido em grande parte, ao aumento do interesse em propriedades e tecnologias em nanoescala. O uso de polímeros biocompatíveis para a viabilidade do crescimento celular é uma alternativa promissora para melhorar a osseointegração. Técnicas de caracterização como microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG) foi usado para investigar a superfície das amostras. Também foram utilizadas células-tronco adultas derivadas de tecido adiposo humano (ADSC) para estudar a resposta celular desses biomateriais. A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio Cell Titer-Blue após 1 e 7 dias. Os resultados indicaram que as alterações na nanoarquitetura das características morfológicas das nanoestruturas na micro-topografia, podem ser promissoras no campo biomédico devido à modulação da resposta celular.

Palavras-chave: Liga Ti-30Ta; Nanotubos de TiO₂; Nanofibras de PCL; Viabilidade celular.

Abstract

Nowadays, researches have been investigated new materials for biomedical applications. The aim of this study is to optimize the behavior of the material / biological environment interface. Among the most used materials are titanium and its alloys due to properties such as resistance to corrosion and biocompatibility. Studies have shown cellular behavior can be influenced by surface morphology. Therefore, the objective of this study was to associate the deposition of PCL polymer fibers with the growth of TiO₂ nanotubes on the surface of the Ti-30Ta alloy for biomedical applications. The electrospinning process was used for the production of 200nm polymer nanofibers. The use of biocompatible polymers for the viability of cell growth is a promising alternative to improve osseointegration. Characterization techniques such as scanning electron microscopy (SEM-FEG) were used to investigate the surface of the samples. Adult stem cells derived from human adipose tissue (ADSC) were also used to study the cellular response of these biomaterials. Cell viability was determined by the Cell Titer-Blue assay after 1 and 7 days. The results indicated the nanoarchitecture of the nanostructures in the micro-topography has a promising in the biomedical field.

Keywords: Nanomaterials; Ti-30Ta alloy; TiO₂ nanotubes; Biocompatible polymers; Cell cultures.

Resumen

En los últimos años, se han llevado a cabo varias investigaciones en busca del desarrollo de materiales para aplicaciones biomédicas. Y uno de los objetivos de estos estudios es optimizar el comportamiento de la interfaz material / entorno biológico. Entre los materiales más utilizados se encuentran el titanio y sus aleaciones debido a sus propiedades como la resistencia a la corrosión y la biocompatibilidad. Los estudios han encontrado que el comportamiento celular puede verse influenciado por los cambios en la morfología de la superficie. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue asociar la deposición de fibras poliméricas de PCL con el crecimiento de nanotubos de TiO₂ en la superficie de la aleación Ti-30Ta para aplicaciones biomédicas. El proceso de electrohilado se utilizó para la producción de nanofibras de polímero de 200 nm, debido en gran parte al mayor interés en las propiedades y tecnologías a nanoescala. El uso de polímeros biocompatibles para la viabilidad del crecimiento celular es una alternativa prometedora para mejorar la osteointegración. Se utilizaron técnicas de caracterización como la microscopía electrónica de barrido (SEM-FEG) para investigar la superficie de las muestras. Las células madre adultas derivadas del tejido adiposo humano (ADSC) también se utilizaron para estudiar la respuesta celular de estos biomateriales. La viabilidad celular se determinó mediante el ensayo Cell Titer-Blue después de 1 y 7 días. Los resultados indicaron que los cambios en la nanoarquitectura de las características morfológicas de las nanoestructuras en la micro-topografía, pueden ser prometedores en el campo biomédico debido a la modulación de la respuesta celular.

Palabras clave: Nanomateriales; Aleación Ti-30Ta; Nanotubos de TiO₂; Polímeros biocompatibles; Culturas celulares.

1. Introdução

Nos últimos anos diversas pesquisas têm sido realizadas buscando o desenvolvimento de materiais para aplicações biomédicas tendo como objetivo a otimização do comportamento do material quando em meio biológico (Verma, 2020). O titânio e suas ligas têm sido utilizados devido às suas propriedades, como resistência à corrosão e biocompatibilidade (Jawed et al., 2020). Entretanto, as ligas de titânio, por exemplo Ti6Al4V apresentam efeitos não desejáveis como a liberação de íons que podem levar a doença de Alzheimer (Walker et al., 1989). Além disso, o módulo de elasticidade do titânio puro ($E=105\text{GPa}$) e suas ligas apresentam-se alto quando comparados ao do osso ($E=15$ a 25GPa). Por este motivo novas ligas com módulo de elasticidade próximo ao osso têm sido estudadas, entre elas a liga Ti-30Ta que apresenta módulo de elasticidade de $E=69\text{GPa}$ (Domingues Goncalves et al., 2020; Zhou et al., 2005).

Além das propriedades de volume encontramos a interface implante/tecido determinante para o sucesso de dispositivos ósseos implantáveis. Modificações na morfologia de superfície de um biomaterial que imitem a arquitetura do tecido natural têm demonstrado melhorar as interações celulares e promover a formação de tecido saudável (Devgan & Sidhu, 2019; Liu et al., 2020).

Diferentes técnicas de modificação de superfície para biomateriais metálicos foram propostas nos últimos anos buscando uma melhor resposta biológica após a sua implantação. Abordagens de modificação de superfície incluem técnicas como tratamento alcalino e térmico (Miyazaki et al., 2002), SFB (Capellato et al., 2014), plasma spray (Capellato et al., 2015), eletrofição (Capellato et al., 2020) e nanotubos (Capellato et al., 2012). Estudos mostram que as células do corpo humano estão predispostas a interagir com superfícies nanoestruturadas tais como superfícies nanorugosas e materiais em nanoescala interagem com algumas proteínas de forma mais eficaz do que os materiais convencionais.

Observamos também o aumento em pesquisas com nanofibras, pois estas mimetizam a matriz extracelular e podem ser fabricadas de diversos materiais como polímeros, compósitos, semicondutores e cerâmicas. Entretanto, os materiais mais comumente usados, são os polímeros solubilizados como o polímero biocompatível Poly (ϵ -caprolactona (PCL) (Pham et al., 2006). Neste estudo buscou-se associar a deposição de fibras poliméricas de PCL com o crescimento de nanotubos de TiO_2 na superfície da liga Ti-30Ta para aplicações biomédicas.

2. Metodologia

2.1 Obtenção da liga Ti-30Ta

As amostras da liga Ti-30Ta foram obtidas a partir da fusão de titânio CP (Sandinox) e tântalo CP (Sigma-Aldrich) em forno a arco voltaico com atmosfera inerte (gás argônio) e cadinho de cobre refrigerado a água. Antes da fusão os metais foram limpos empregando decapagem química em solução formada por 50 mL de H₂SO₄, 20 mL de HF, 20 mL de HNO₃ e 10 mL de água destilada e pesada de acordo com a composição estudada. O botão obtido com a fusão foi refundido de 7 a 10 vezes com o objetivo de homogeneizar a liga.

Após a fusão, foi feito o tratamento térmico para garantir a uniformidade da estrutura e estabilizar uma fase mais suscetível à deformação mecânica. O tratamento térmico de homogeneização foi realizado em forno tubular, os lingotes foram colocados sobre cadinho de alumina, colocado dentro de um tubo de quartzo e mantido dentro do forno. Foi então iniciada a purga. O forno foi aquecido a 1000°C sob uma taxa de aquecimento de 10°C/min, mantido nesta temperatura por 24 horas e o resfriamento dos lingotes foi feito dentro do forno até chegar a temperatura ambiente. O tratamento térmico de solubilização foi realizado também em forno tubular, mediante o aquecimento da liga a 900°C (15,5°C/min) por 2 horas seguido de resfriamento brusco em água e gelo. Os tarugos foram forjados em forja rotativa FENN. Os lingotes foram deformados por meio da aplicação de forças de compressão de forma radial, sendo em cada passe estabelecida uma redução de cerca de 20% no diâmetro, permitindo um tarugo com diâmetro final de 6,0 mm.

Devido ao elevado grau de encruamento na etapa de forjamento, fez-se necessário a repetição do tratamento térmico de solubilização. Cada tarugo foi cortado em discos de 3 mm de espessura e 6 mm de diâmetro (Capellato et al., 2013).

2.2 Recobrimento das amostras e crescimento de nanotubos de TiO₂

Os nanotubos foram obtidos a partir da metodologia desenvolvida em estudos anteriores por Capellato et al., 2013. Brevemente podemos descrever que antes do início da oxidação anódica as amostras foram lavadas com acetona, álcool isopropílico, sabão e água deionizada com posterior secagem com gás nitrogênio. Foi utilizado contra eletrodo de platina e, como eletrodo de trabalho, a liga Ti-30Ta conectados a uma fonte de energia. O eletrólito utilizado foi composto por glicerol e água (1:1) com adição de 0,27% m/v de NH₄F,

submetido a uma tensão de 30 V e tempo de 6 horas a temperatura ambiente. Ao término do processo, as amostras foram lavadas três vezes em álcool isopropílico e secas com ar comprimido livre de óleo. Após a oxidação anódica, as amostras foram calcinadas em forno resistivo a 530°C (5°C/min) pelo período de 1 hora. Após essa etapa, todas as amostras foram mantidas em um dessecador até o momento da caracterização e avaliação biológica (Capellato et al., 2012).

2.3 Eletrofiação do polímero PCL

Para a fabricação de nanofibras por meio do processo de eletrofiação foi utilizado o polímero PCL (MM 70.000 - 90.000) que pode ser adquirido da empresa Sigma Aldrich, desenvolvido em uma mistura de Clorofórmio /acetona (Merck 99,0%) e (Synth 99,5%), na proporção 1:1 em massa. Para as soluções, uma concentração de 13,6% em massa de PCL foi dissolvida para eletrofiação de PCL, mantidas sob agitação mecânica por 24h de preparação da solução. Para o processo de eletrofiação por seringa capilar foi empregado uma fonte de alimentação de alta tensão (até 30 kV), uma seringa, uma agulha de ponta plana e um coletor. Como anteparo coletor foi utilizado uma placa de alumínio com alojamento para as amostras e como saída do material foi utilizado uma seringa de 20 mL, conectada a uma agulha com Ø 1,0 mm no capilar em aço inox. Após essa etapa, todas as amostras foram mantidas em um dessecador até o momento da caracterização e avaliação biológica (Capellato et al., 2020).

2.4 Caracterização das amostras

A morfologia da superfície das amostras foi avaliada empregando microscopia eletrônica de varredura (MEV) por meio de um equipamento da marca Zeiss (Modelo Evoma-15) sendo as amostras revestidas em ouro no equipamento Sputter Coater, Bal-Tec (Modelo SCD-O50).

2.5 Estudo *in vitro*

2.5.1 Cultura celular

Células-tronco derivadas do tecido adiposo (ADSC) foram utilizadas para a avaliação da biocompatibilidade. Células de segunda passagem a -80°C foram descongeladas em banho-

maria a 37°C antes da cultura celular. Células ADSC foram cultivadas em 13 mL de meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) com 10% de soro fetal de bovino e solução de gentamicina/anfotericina e incubadas em garrafas de cultivo de 75 cm² a 37°C e 5% CO₂. A primeira troca do meio de cultura foi realizada entre 24-36 horas após a cultura inicial; alterações posteriores foram realizadas em dias alternados até que a população celular alcançou 50% de confluência, após o qual o meio de cultura passou a ser trocado integralmente todos os dias. A adesão e crescimento celular foram acompanhados em microscópio óptico invertido. Quando a população celular atingiu 70% de confluência as células foram removidas da garrafa de cultura utilizando-se solução de tripsina (0,025% de tripsina / EDTA) para digestão enzimática. Após um destacamento completo da superfície celular, um neutralizador de tripsina (0,5% soro fetal bovino em tampão fosfato salino (PBS)) foi adicionado para interromper a reação de tripsina. Uma concentração celular foi formada por centrifugação a 180 g por 7 minutos, o sobrenadante foi aspirado e as células foram ressuspensas em meio de cultura em uma nova garrafa de cultura. Para determinar a densidade celular foi utilizado corante azul de tripano e contadas em um hemocitômetro.

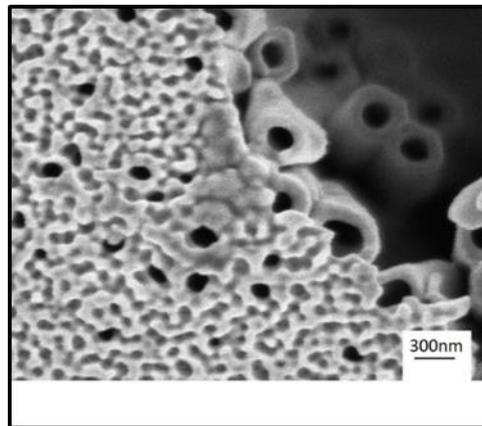
2.5.2 Viabilidade Celular

A viabilidade celular foi investigada após 1 e 7 dias de cultura celular com um kit comercial Cell Titer-BlueCell (Promega G808A, Madison, WI). Antes da realização do teste, as células não aderidas foram removidas do meio de cultura dos discos por aspiração e lavados com PBS. O protocolo padrão fornecido pelo fabricante foi seguido. Os discos foram transferidos para uma nova placa de 24 poços e incubados em solução de 50µL de corante CellTiter-Blue por cada 500µL de meio de cultura e as amostras foram incubadas durante 4 horas a 37°C e 5% de CO₂. A absorbância da solução foi medida no comprimento de onda de 570nm e 600nm usando um leitor de placa (Molecular Devices Spectra Max M3, Sunnyvale, CA). Cada experimento foi realizado em três diferentes discos ($n_{\min} = 5$). Todos os resultados quantitativos foram analisados através de uma análise de variância (ANOVA). O valor de significância estatística considerado foi $p < 0,05$. Durante a análise, as variações entre cada grupo não foram consideradas iguais e uma amostra com dois testes-t abordagem foi utilizada para testar a significância entre as amostras anodizadas do grupo I e a manta polimérica do grupo II.

3. Resultados e Discussão

Na Figura 1 pode ser observada a micrografia obtida em microscópio eletrônico de varredura para a superfície da liga Ti-30Ta após anodização com aplicação de tensão de 30V durante 6 horas. Para esta condição de anodização obteve-se nanotubos em formato ovalado e comprimento significativo recobrimdo toda a superfície da amostra de maneira homogênea e regular. Sendo estes resultados próximos ao verificados por Allam, 2008 para o tântalo CP com tensão de 20V (Gulati et al., 2020).

Figura 1. Micrografia obtida em MEV-FEG para nanotubos de TiO₂ obtidos após anodização da liga Ti-30Ta em eletrólito 0.2M NH₄F + glicerol á 30V pelo período de 06 horas e calcinação a 530°C durante 1 h.

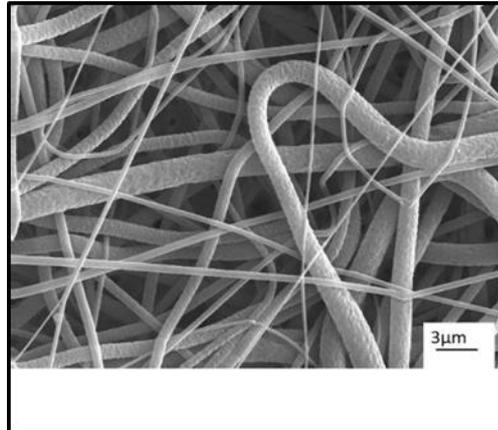


Fonte: Autores.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura podemos observar, na Figura 2, que as fibras se mostraram homogêneas, cobrindo toda a superfície da amostra e de formato cilíndrico demonstrando que o processo de eletrofiação foi contundente com a literatura. As fibras se mostram com disposição aleatória, vários trabalhos disponíveis em literatura revelam que a orientação mais favorável para a interação celular são as fibras aleatórias (LAN-XIN-LÜ et al., 2011).

Em relação ao diâmetro das fibras neste estudo foram obtidos valores na escala de nanômetros com prevalência entre 800nm e 1200nm. Entretanto, várias pesquisas mostram que os diâmetros cada vez menores das fibras poliméricas propiciam uma melhor adesão e proliferação das células (Ravichandran et al., 2012).

Figura 2. Microscopia eletrônica de varredura de nanofibras poliméricas eletrofiadas pelo método seringa com capilar

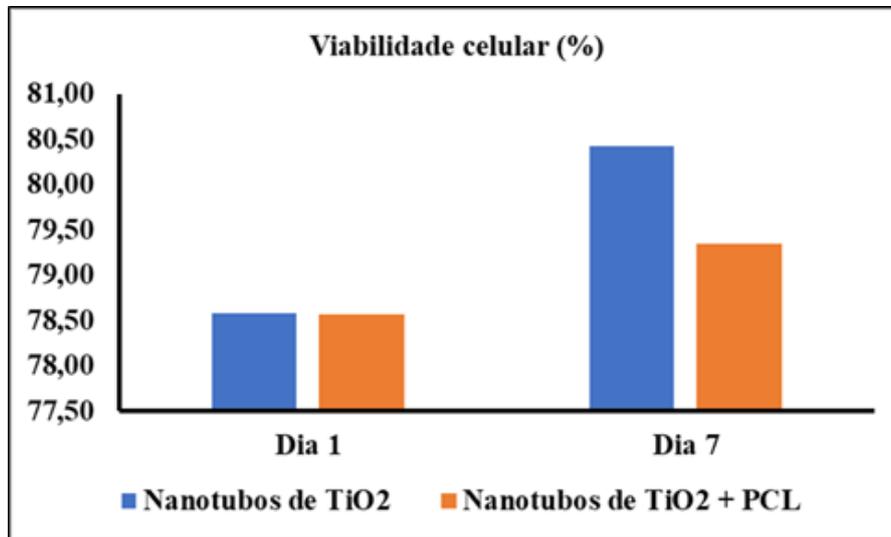


Fonte: Autores.

O ensaio de viabilidade celular Cell Titer-Blue revelou que as células proliferaram e permaneceram viáveis no grupo I: nanotubos de TiO_2 e grupo II: nanotubos de TiO_2 recobertos com nanofibras de PCL por até 7 dias de cultura (Figura 3).

Ao analisar o gráfico, apresentado na Figura 3, observa-se que para as amostras do grupo I houve aumento da viabilidade celular por até 7 dias de cultivo, mostrando diferença significativa apenas entre o primeiro dia e o dia 7 ($p = 0,0005$). Após 1 e 7 dias, não foi encontrada diferença estatística significativa para as amostras do grupo I e II. Não houve diferença na viabilidade celular entre os grupos I e II, independente dos dias de cultura ($p > 0,005$) (Ding et al., 2018; Fan & Guo, 2020; Souza et al., 2017).

Figura 3. Viabilidade celular de células ADSC na superfície do Grupo I- Ti-30Ta recoberto com nanotubos de TiO₂ e Grupo II- Ti-30Ta com nanotubos de TiO₂ recoberto com nanofibras de PCL após 1 e 7 dias. * Não indica diferença significativa ($p > 0,005$).



Fonte: Autores.

4. Considerações Finais

A partir da análise dos resultados podemos concluir que foi possível produzir superfície em nanoescala a partir de nanotubos de TiO₂ recobertos com nanofibras de PCL. A viabilidade celular de células-tronco adultas derivadas de tecido adiposo humano (ADSC) foi investigada no grupo I (nanotubos de TiO₂) e grupo II (nanotubos de TiO₂ recobertos com nanofibras de PCL), sendo que ambos os grupos mostram resultados semelhantes de viabilidade celular. Novos estudos são agora direcionados para a compreensão e avaliação dos efeitos do PCL sobre os nanotubos de TiO₂.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer o apoio financeiro fornecido pelo Capes, Cnpq (201271 / 2010-9 e 486352-2013-7) e Fapesp (2014 / 14533-3).

Referências

Capellato, P., Riedel, N. A., Williams, J. D., Machado, J. P. B., Ketul Popat, K. C., & Alves

Claro, A. P. R. (2015). Ion beam etching on ti-30ta alloy for biomedical application. In *Materials Science Forum* (Vol. 805). <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.805.57>

Capellato, P., Smith, B. S., Popat, K. C., & Claro, A. P. R. A. (2012). Fibroblast functionality on novel Ti30Ta nanotube array. *Materials Science and Engineering C*, 32(7). <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.05.013>

Capellato, Patricia, Escada, A. L. A. A. L. A., Popat, K. C. K. C., & Claro, A. P. R. A. A. P. R. A. (2014). Interaction between mesenchymal stem cells and Ti-30Ta alloy after surface treatment. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 102(7), 2147–2156. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34891>

Capellato, Patricia, Riedel, N. A., Williams, J. D., Machado, J. P. B., Popat, K. C., & Claro, A. P. R. A. (2013). Surface Modification on Ti-30Ta Alloy for Biomedical Application. *Engineering*, 05(09), 707–713. <https://doi.org/10.4236/eng.2013.59084>

Capellato, Patrícia, Silva, G., Popat, K., Simon-Walker, R., Alves Claro, A. P., & Zavaglia, C. (2020). Cell investigation of Adult Human dermal fibroblasts on PCL nanofibers/TiO₂ nanotubes Ti-30Ta alloy for biomedical application. *Artificial Organs*, aor.13713. <https://doi.org/10.1111/aor.13713>

Devgan, S., & Sidhu, S. S. (2019). Evolution of surface modification trends in bone related biomaterials: A review. *Materials Chemistry and Physics*, 233, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.05.039>

Ding, D., Xie, Y., Li, K., Huang, L., & Zheng, X. (2018). Micro/Nano Structural Tantalum Coating for Enhanced Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow Stem Cells. *Materials*, 11(4), 546. <https://doi.org/10.3390/ma11040546>

Domingues Goncalves, A., Balestri, W., & Reinwald, Y. (2020). Biomedical Implants for Regenerative Therapies. In *Biomaterials [Working Title]*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91295>

Fan, H., & Guo, Z. (2020). Bioinspired surfaces with wettability: biomolecule adhesion

behaviors. *Biomaterials Science*, 8(6), 1502–1535. <https://doi.org/10.1039/c9bm01729a>

Gulati, K., Moon, H.-J., Kumar, P. T. S., Han, P., & Ivanovski, S. (2020). Anodized anisotropic titanium surfaces for enhanced guidance of gingival fibroblasts. *Materials Science and Engineering: C*, 110860. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110860>

Jawed, A., Saxena, V., & Pandey, L. M. (2020). Engineered nanomaterials and their surface functionalization for the removal of heavy metals: A review. In *Journal of Water Process Engineering* (Vol. 33, p. 101009). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.101009>

Liu, Y., Rath, B., Tingart, M., & Eschweiler, J. (2020). Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 108(3), 470–484. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36829>

Miyazaki, T., Kim, H. M., Kokubo, T., Ohtsuki, C., Kato, H., & Nakamura, T. (2002). Mechanism of bonelike apatite formation on bioactive tantalum metal in a simulated body fluid. *Biomaterials*, 23(3), 827–832. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00188-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00188-0)

Pham, Q. P., Sharma, U., & Mikos, A. G. (2006). Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review. *Tissue Engineering*, 12(5), 1197–1211. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.1197>

Ravichandran, R., Ng, C. C. H., Liao, S., Pliszka, D., Raghunath, M., Ramakrishna, S., & Chan, C. K. (2012). Biomimetic surface modification of titanium surfaces for early cell capture by advanced electrospinning. *Biomedical Materials*, 7(1). <https://doi.org/10.1088/1748-6041/7/1/015001>

Souza, M. A., Carobolante, J. P. A., Almeida, R. dos S., d'Ávila, M. A., Walker, R. S., Popat, K. C., & Claro, A. P. R. A. (2017). Immobilisation of apatite on Ti30Ta alloy surface by electrospinning of PCL. *Surface Innovations*, 5(2), 68–74. <https://doi.org/10.1680/jsuin.16.00011>

Trillo, E. A., Ortiz, C., Dickerson, P., Villa, R., Stafford, S. W., & Murr, L. E. (2001). Evaluation of mechanical and corrosion biocompatibility of TiTa alloys. *Journal of Materials*

Science: Materials in Medicine, 12(4), 283–292. <https://doi.org/10.1023/A:1011210101895>

Verma, R. P. (2020). Materials Today : Proceedings Titanium based biomaterial for bone implants : A mini review. *Materials Today: Proceedings*, xxxx, 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.649>

Walker, P. R., LeBlanc, J., & Sikorska, M. (1989). Effects of aluminum and other cations on the structure of brain and liver chromatin. *Biochemistry*, 28(9), 3911–3915. <https://doi.org/10.1021/bi00435a043>

Zhou, Y. L., Niinomi, M., Akahori, T., Fukui, H., & Toda, H. (2005). Corrosion resistance and biocompatibility of Ti-Ta alloys for biomedical applications. *Materials Science and Engineering A*, 398(1–2), 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2005.03.032>

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Patrícia Capellato – 10%

Gilbert Silva– 10%

Maria Gabriela Araújo Ranieri – 10%

Mirian de Lourdes Noronha Motta Melo – 10%

Samira Esteves Afonso Camargo-10%

Cecília Amélia de Carvalho Zavaglia –10%

Ana Paula Rosifini Alves Claro -10%

Tainara Aparecida Nunes Ribeiro-10%

Mariana da Silva Novakoski-10%

Daniela Sachs – 10%

-