

REVESTIMENTO DE SUPERFÍCIES DE TITÂNIO COM HIDROXIAPATITA ATRAVÉS DE SISTEMA DE DEPOSIÇÃO ELETROFORÉTICA¹

COATING OF TITANIUM SURFACES WITH HYDROXYAPATITE BY ELECTROPHORETIC DEPOSITION SYSTEM

Etiene de Souza Farias², Angelina Souza Leonardi², Tiago Moreno Volkmer³, Leonardo Fantinel³, Christian Viezzer³ e Luiz Fernando Rodrigues Júnior⁴

RESUMO

O titânio (Ti) é um dos principais metais aplicados em dispositivos para uso em sistemas biológicos. Contudo, a geração de tecido fibroso; a possibilidade de corrosão e a não formação de ligações químicas com o tecido reduzem a sua biofuncionalidade. De maneira a melhorar a biofuncionalidade, o titânio pode ser revestido com hidroxiapatita (HA), porém, muitos métodos apresentam um elevado custo e complexidade de processamento. Nesse sentido, o processo de revestimento por eletroforese mostra-se mais acessível e de menor complexidade. Para o trabalho foram sintetizadas quatro formulações de HA: HA normal, HA dopada com ferro, estrôncio e zinco e essas foram usadas no revestimento de Ti comercialmente puro pelo método de eletroforese. Os revestimentos com HA(Zn) se comparado com as outras formulações não formaram filmes com qualidade. Foram feitos DRX das amostras, em que se verificou a formação das fases de HA e β -TCP nos pós e nos revestimentos obtidos. Pelo teste de potencial zeta verificou-se que todos os pós apresentaram carga superficial negativa. Pelo teste MTT, avaliou-se que os revestimentos com HA dopadas com ferro e estrôncio apresentaram maior viabilidade celular do que os revestimentos com HA normal. Pode-se concluir que tanto a metodologia para a síntese como para o revestimento via eletroforese, com exceção do revestimento com HA(Zn), mostraram-se eficazes. E dentre as amostras, a revestida com HA(Fe) foi a que apresentou melhor viabilidade celular ($120 \pm 7,2\%$).

Palavras-chave: biocompatibilidade, dopagem, viabilidade celular.

ABSTRACT

Titanium (Ti) is one of the main metals used in biological systems, however, the generation of fibrous tissue, the corrosion possibility and the non-formation of chemical bonds with the tissue reduces their biofunctionality. In order to improve it, titanium can be coated with hydroxyapatite (HA), although many methods have high processing cost and complexity. In this sense, the electrophoresis coating process is more accessible and less complex. For the work, four formulations of normal HA, HA doped with iron, strontium and zinc were synthesized, and these were used to coating commercially pure Ti by the electrophoresis methodology. Coatings with HA (Zn) did not form film with quality compared to the other formulations. XRD of the samples was made, in which the formation of the HA and β -TCP phases was verified in the powders and coatings obtained. The zeta potential test showed that all powders had a negative surface charge. From the MTT test, it was evaluated that the coatings with iron and strontium doped HA presented higher cell

¹ Trabalho Final de Graduação - TFG.

² Acadêmicas do curso de Engenharia Biomédica - Centro Universitário Franciscano. E-mails: eti.farias@gmail.com; angelinaleonardi.eng@gmail.com

³ Colaboradores - Centro Universitário Franciscano. E-mails: tiagovolkmer@gmail.com; leonardofantinel@unifra.br; chviezzer@yahoo.com.br

⁴ Orientador - Centro Universitário Franciscano. E-mail: luiz.fernando@unifra.br

viability than the pure HA coatings. It can be concluded that both the methodology for the synthesis and the coating via electrophoresis, with the exception of HA (Zn) coating, have proved to be effective. Among the samples, that with HA (Fe) was the one with the best cell viability ($120 \pm 7.2\%$).

Keywords: *biocompatibility, doping, cell viability.*

INTRODUÇÃO

Devido a suas boas propriedades mecânicas, alta resistência a corrosão e ótima biocompatibilidade, o titânio - e suas ligas - são amplamente utilizados em implantes e próteses odonto-médicas, porém, não são favoráveis a formar ligações químicas com o tecido vivo (WIJESINGHE et al., 2016). De maneira a contornar essa desvantagem dos implantes de titânio, pode-se realizar a alternativa de tratamentos superficiais, para que se possa acrescentar a característica de bioatividade ao implante; ou seja, a capacidade de promover uma ligação tecido-implante (ASRI et al., 2016).

A hidroxiapatita (HA) tem-se mostrado uma boa alternativa para esse fim, devido sua biocompatibilidade proporcionada pela sua similaridade química, biológica e cristalográfica com a fase mineral do osso humano, além das outras características como ausência de toxicidade. Apesar das baixas propriedades mecânicas, a HA usada como revestimento em implantes de titânio torna a sua utilização uma ótima combinação de propriedades, pois induz a osteointegração garantindo uma boa fixação da prótese ou implante (THANH et al., 2013).

Diversos métodos têm sido desenvolvidos para depositar HA sobre superfícies de metais, como por exemplo a aspersão térmica, que atualmente é a técnica usada na produção comercial, porém, é uma técnica que necessita de equipamentos mais complexos e caros, o que eleva o valor inicial de uma linha de produção e acaba resultando em um custo de produção mais elevado (VAHABZADEH et al., 2015).

A técnica de eletroforese, proposta neste trabalho, foi escolhida devido a seu baixo custo e por ser bem desenvolvida e possuir um grande embasamento científico. Esse método é bastante atrativo por possibilitar o controle da cristalinidade da HA a ser depositada, a facilidade em revestir superfícies irregulares e a possibilidade de trabalhar com baixas temperaturas (OLIVEIRA, 2012).

Assim, neste trabalho, foi empregada uma metodologia para o revestimento de superfícies de peças de titânio com hidroxiapatita através de deposição eletroquímica utilizando como eletrólito hidroxiapatita em solução com solvente orgânico isopropanol, e o eletrodo as amostras de titânio.

MATERIAL E MÉTODOS

SÍNTESE DAS HIDROXIAPATITAS

A síntese das hidroxiapatitas - com e sem a adição de íons - ocorreu pelo processo de precipitação via úmida. Para a obtenção da HA foram utilizados 0,122 mol de Ca(OH)_2 (hidróxido de cálcio) diluídos em 140 mL de água deionizada em um balão de fundo redondo. Essa solução foi mantida em banho-maria de óleo aquecido e mantido em agitação até que a solução atingisse 70 °C. Foi feita uma solução com 0,073 mol (5 mL) de H_3PO_4 (ácido fosfórico) diluídos em 40 mL de água deionizada. Essa solução foi adicionada à solução de cálcio por meio de gotejamento no instante em que a mesma chegou a 70 °C. Então, foi mantida em agitação constante de 125 rpm durante o período de 24 horas. Após, a suspensão passou por filtração a vácuo e secagem em estufa a 120 °C durante 24 horas. Os pós de hidroxiapatita produzidos foram calcinados em uma mufla com rampa de aquecimento de 5 °C por minuto iniciando em 50 °C até 1000 °C.

As HA dopadas foram obtidas pela mesma técnica de precipitação via úmida. Os elementos dopantes utilizados foram cloreto de zinco (ZnCl_2), nitrato de ferro nonahidratado ($\text{Fe(NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) e nitrato de estrôncio ($\text{Sr(NO}_3)_2$). Esses elementos foram incorporados na matriz da hidroxiapatita em uma concentração de 3 mol %, que foram calculados com a substituição de mol de Ca na solução principal para o Sr e Zn. Foram adicionados 0,004 mol de cada elemento na preparação da solução de cálcio. A solução principal com Sr foi feita com 0,118 mol de Ca(OH)_2 mais 0,004 mol de $\text{Sr(NO}_3)_2$ diluídos em 140 mL de água deionizada.

A dopagem de zinco foi preparada do mesmo modo, utilizando a mesma quantidade de mols de cada reagente. A solução com H_3PO_4 para o gotejamento foi preparada igualmente como descrita para a solução de HA. Para a dopagem com ferro foi feita uma solução com 0,118 mol de cálcio adicionados a 140 mL de água deionizada. A solução para o gotejamento foi feita com 0,073 mol de H_3PO_4 diluídos em 40 mL de água deionizada e nela foram adicionados 0,004 mol de nitrato de ferro nonahidratado. Os pós dopados obtidos passaram pelos mesmos processos de tratamento e aquecimento descritos para HA normal.

PREPARO DAS AMOSTRAS METÁLICAS

As amostras de titânio foram confeccionadas em formato circular com 15 mm de diâmetro e 1 mm de espessura. Todas as peças foram lixadas em lixas d'água com granulometria 220, 320, 400 e 600, seguidas de um polimento com pasta alumina, e limpas em banho ultrassônico por 15 min (SRIDHAR; KAMACHI MUDALI; SUBBAIYAN, 2003).

REVESTIMENTO

O processo de deposição foi realizado em temperatura ambiente. Utilizou-se uma suspensão de 2,5% (0,95 g) de HA em 50 mL isopropanol. Para o processo, foi utilizado uma célula eletroquímica de dois eletrodos, conectados a uma fonte de tensão contínua. Para todos os processos de revestimento, foi estabelecido um potencial de 60 V e um tempo de revestimento de 3 minutos (SRIDHAR; KAMACHI MUDALI; SUBBAIYAN, 2003).

Após o processo de revestimentos, as amostras passaram por tratamento térmico. Foram colocados em mufla de aquecimento com temperatura inicial de 50 °C com uma rampa de aquecimento de subida de 3 °C por minuto até o patamar de 600 °C que foi mantido por 1h, a rampa de descida foi de 5 °C por minuto. Todo o processo foi realizado em atmosfera ambiente.

CARACTERIZAÇÕES

Para verificar a presença da fase hidroxiapatita, foi utilizado um difratômetro de raios-X (DRX) Bruker, modelo D2 PHASER, equipado com ânodo de cobre (radiação $K\alpha\text{Cu}$, $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) operado a 30 kV e 10 mA. Os parâmetros utilizados nas análises foram: um intervalo angular de $20^\circ < 2\theta < 45^\circ$ com passos de $0,02^\circ$ por um período de 1s para cada passo. Para calcular o tamanho de cristalito foi utilizado o plano cristalográfico (002) e aplicada a Equação de Scherrer (Eq. (1)).

$$D_{Scherrer} = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

Em que:

$D_{Scherrer}$ é o diâmetro médio de cristalito;

k é a constante de proporcionalidade que depende da forma das partículas, assumida como sendo esférica(0,9);

λ é o comprimento de onda da radiação do Cu (1,5406 Å); e

β é a largura à meia altura do pico.

As análises de potencial zeta foram realizadas no equipamento Zetasizer Nano-ZS, da Malvern. O ensaio foi realizado em solução de NaCl (0,01 M), com porta amostra modelo DTS1070 e temperatura de 25 °C. Para avaliação da resistência dos filmes depositados, foi realizado o teste de dureza ao lápis nas amostras revestidas com e sem tratamento térmico. O teste baseou-se na metodologia de dureza de filme pelo teste com lápis (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM D3363-05, 2011).

Para avaliação de biocompatibilidade e citotoxicidade, foi feito teste MTT nas amostras revestidas com HA, HA(Sr), HA(Fe).

A cultura de células usadas nos testes foi de linhagem de fibroblastos (NIH3T3), os quais foram cultivadas em meio DMEM low glicose, suplementado com L-glutamina, 10% de SFB (soro bovino fetal; Gibco), 100 UI/mL de penicilina, 100 UI/mL de estreptomicina e 100 µg/mL de gentamicina, com densidade de $0,1 \times 10^6$ células em garrafas de cultura de 75 cm². Logo em seguida, as células foram incubadas em estufa umidificada com 5% de CO₂ a 37 °C por 72 horas. Posteriormente, quando as células em cultivo alcançaram confluência de aproximadamente 80%, as mesmas foram removidas com tripsina-0,25 EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) 1x e centrifugadas a 1500 rpm por 3 minutos e, logo em seguida, plaqueadas de acordo com a análise subsequente.

Para avaliar a citotoxicidade dos biomateriais, foi empregado o método da redução do sal de formazan (brometo 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2il-tetrazólico - MTT). Para tanto, foram plaqueadas 1×10^5 células sobre os materiais em placas de 24 e 6 poços. Após o período 48 horas, as células foram lavadas com tampão DPBS 1x e, em seguida, adicionado o sal de MTT (5mg/mL) na concentração final de 10% em meio DMEM (Meio Eagle Modificado por Dulbecco) e incubadas por 2 horas. Após o período de incubação, o meio foi retirado e adicionado dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilizar os sais de formazan. A absorbância foi mensurada em espectrofotômetro de placa a 570 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e todas as amostras foram normalizadas com controle, poço sem material, como sendo 100% de células viáveis. Para a avaliação estatística, foi utilizado ANOVA One-Way com 95% de intervalo de confiança, e feito comparação das médias por Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 apresenta-se os difratogramas de raios-X dos pós de hidroxiapatita nas quatro composições estudadas, HA, HA(Fe), HA(Sr) e HA(Zn). Nos difratogramas, foi possível observar que em todas as composições existe a formação dos padrões característicos da hidroxiapatita (ICDD: 09-0432).

Também, se observa a formação da fase β - TCP (ICDD: 09-0169) nas quatro formulações. No difratograma da hidroxiapatita dopada com zinco, pode-se ver que a formação da fase β - TCP foi mínima.

A tabela 1 apresenta os valores de tamanho de cristalitos obtidos para as diferentes amostras de pós de hidroxiapatita normal e dopada com os diferentes íons. Como pode ser observado, todos os pós apresentaram estruturas nanométricas e também uma contração da estrutura cristalina ao longo do eixo-c para as amostras dopadas. Este comportamento de contração do eixo-c foi observado por Bigi et al. (2007) para diferentes hidroxiapatitas dopadas com estrôncio e por Ren et al. (2009) para dopagens com zinco.

Figura 1 - DRX dos pós de hidroxiapatita com e sem a incorporação de íons.

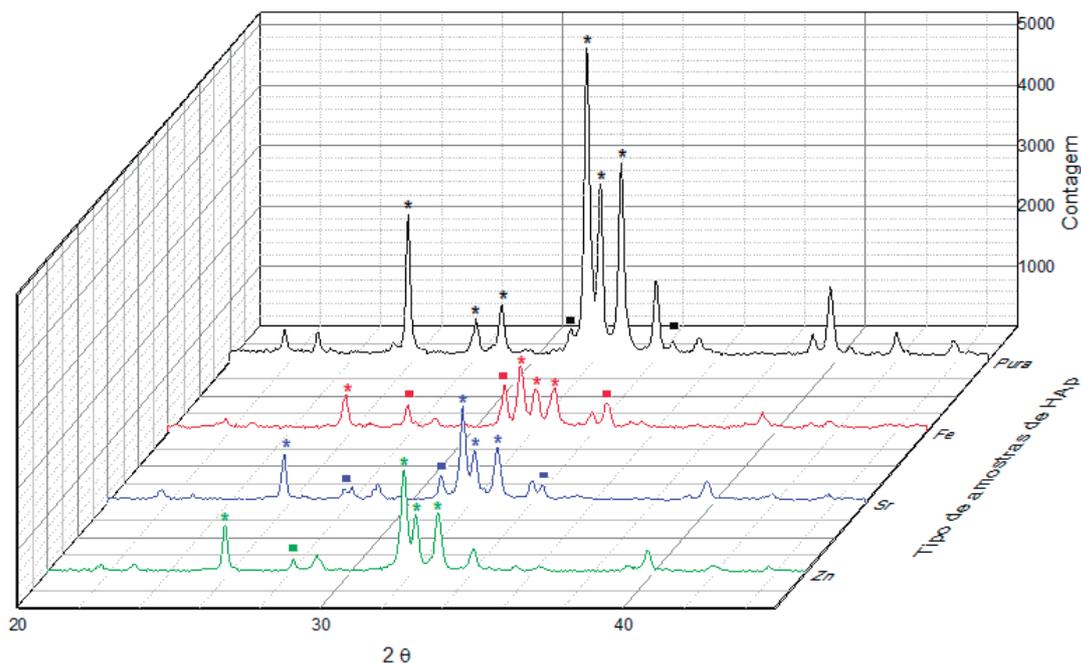


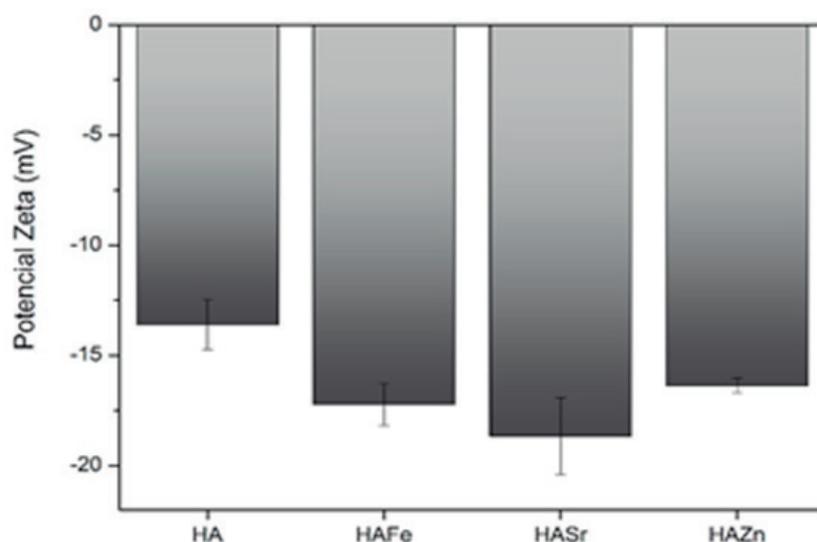
Tabela 1 - Tamanho de cristalito dos pós de hidroxiapatita com e sem a incorporação de íons.

Amostra	HA	HAFe	HASr	HAZn
Tamanho de cristalito (nm)	55,43	42,43	50,03	50,06

Na figura 2 apresenta-se o gráfico dos valores de potencial zeta das formulações de hidroxiapatitas obtidas. Podemos verificar que todas as suspensões de HA analisadas apresentaram resultado de valor negativo. Acredita-se que os potenciais zeta negativos estimulam a adsorção de íons Ca^{2+} que participam na deposição da matriz extracelular (osteocalcina e osteopontina) necessária para a adesão celular (CHENG; WENG, 2013; MAHYUDIN; WIDHIYANTO; HERMAWAN, 2016) Logo, os resultados são satisfatórios para todas as formulações de hidroxiapatitas geradas.

Para avaliação dos filmes de hidroxiapatita depositados nas amostras de titânio, foram feitas análises com difratograma de raios-X nos eletrodos revestidos com HA, HA(Fe) e HA(Sr). Foram descartados dessa caracterização as amostras revestidas com HA(Zn), pois durante o processo de revestimento não obtive-se um filme com a qualidade esperada, se comparando com os outros filmes formados nas outras formulações de HA. Os DRX dos eletrodos revestidos foram feitos após o processo de tratamento térmico.

Figura 2 - Potencial Zeta das suspensões de HA.



Na figura 3, temos o difratograma comparativo da hidroxiapatita normal com a amostra de titânio revestida com o mesmo pó. Pode-se verificar que o DRX das amostras revestidas (TiHA) apresentam os picos característicos de HA e β -TCP, assim como a seu pó correspondente. Além disso, observam-se picos referentes ao substrato de titânio (ICDD: 01-1198). O DRX do TiHA apresentou uma disposição dos picos levemente deslocados para 2θ maiores ($2\theta = 0,233^\circ$) em relação a análise do pó de HA. Um ponto a ser destacado é em referência à intensidade do pico relacionado ao plano cristalográfico (211). Essa maior intensidade mostra um alinhamento preferencial da estrutura cristalina em relação a esse plano (AKIYAMA et al., 2005).

Na figura 4 é apresentado os difratogramas da amostra de HA dopada com ferro em comparação com a amostra titânio revestida com HA(Fe). Nota-se que a formulação com Fe apresentou um gráfico mais ruidoso, mostrando uma amostra de menor cristalinidade. Ainda assim, é possível observar os picos característicos de hidroxiapatita e a formação da fase β -TCP. O gráfico de TiFeHA apresenta um deslocamento ($2\theta = 0,466^\circ$) para 2θ maiores em relação ao gráfico de FeHA.

No difratograma apresentado na figura 5 observa-se a comparação entre pó de hidroxiapatita dopada com estrôncio e o revestimento feito com o mesmo pó (TiSrHA).

Nota-se que o difratograma de TiSrHA apresenta os picos característicos de HA, porém, estão pouco definidos se comparado com o difratograma do pó. Esse problema pode ter acontecido devido a formação do filme no substrato ser muito fino. Pode-se verificar o deslocamento de plano em 2θ maiores ($2\theta = 0,660^\circ$).

A fase do Ti presente em todos os difratogramas das amostras revestidas ocorreu devido ao filme formado ser fino o bastante para que os raios-X ultrapassassem o filme de HA formado, chegando ao substrato de titânio, mostrando - então - os picos característicos do substrato no difratograma.

Figura 3 - Difratoformas de raios-X comparativo entre o pó HA e revestimento TiHA.

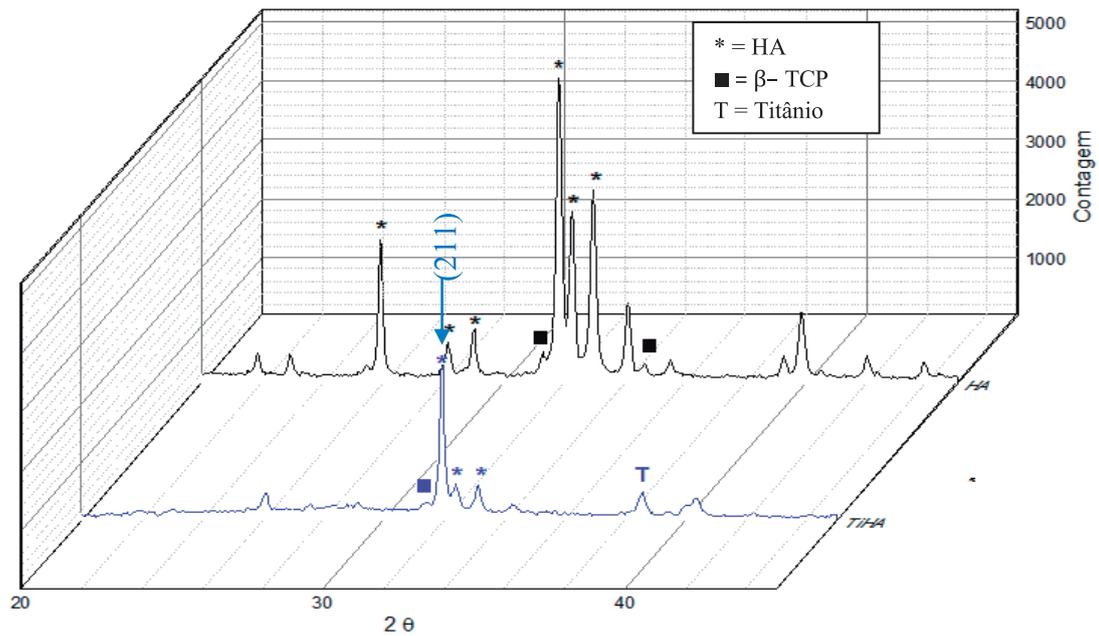


Figura 4 - Difratoformas de raios-X comparativo entre o pó HA(Fe) e revestimento TiFeHA.

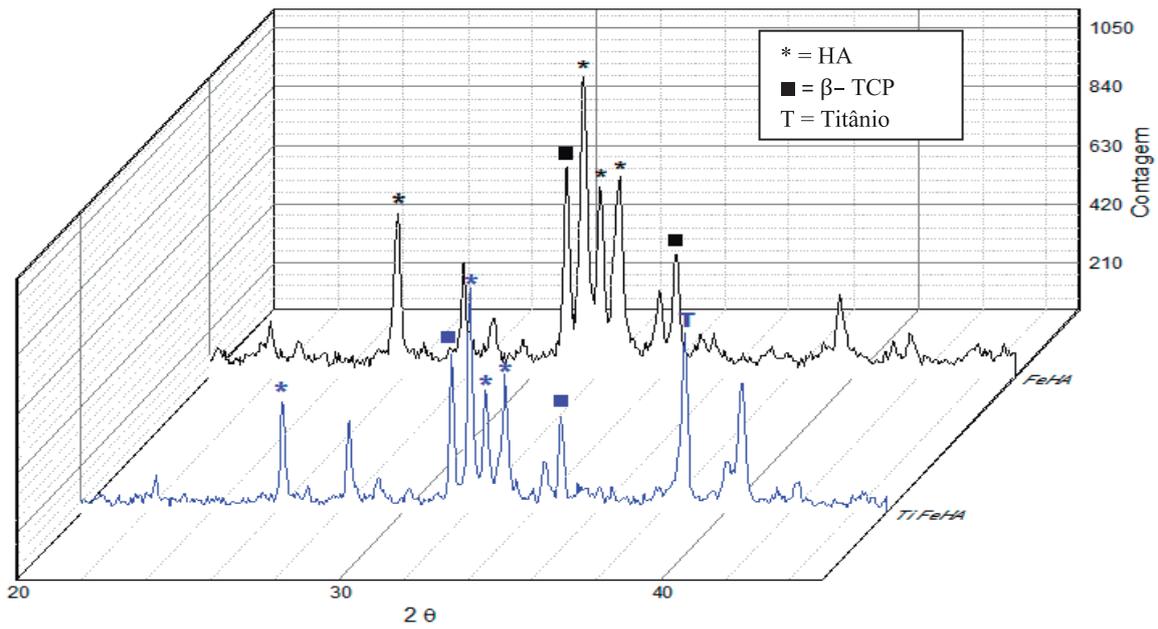
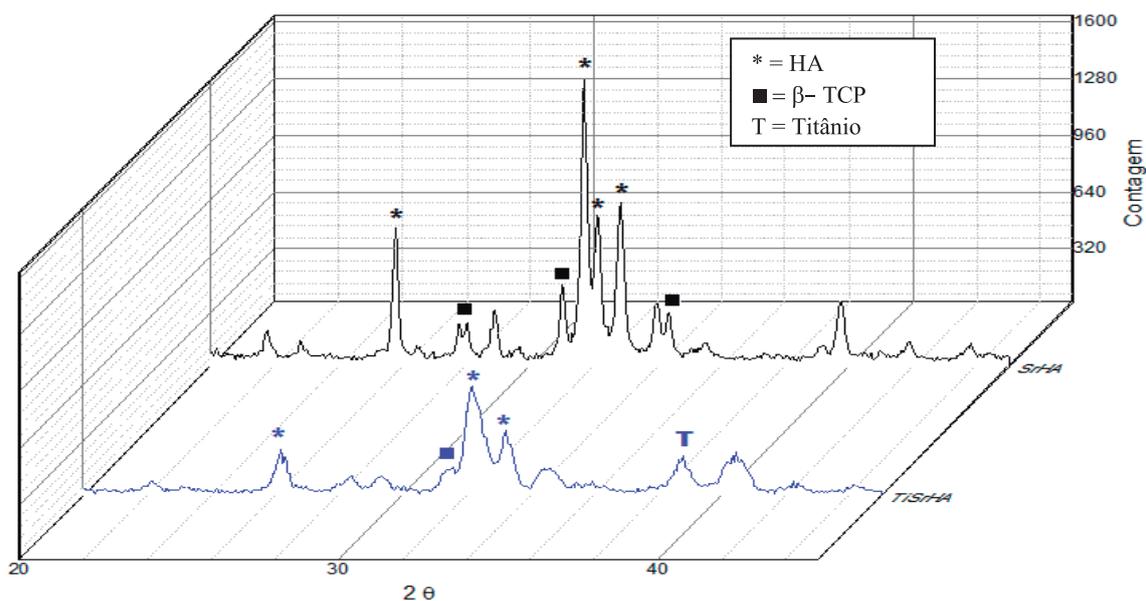


Figura 5 - Difratograma de raios X comparativo entre o pó HA(Sr) e revestimento TiSrHA.



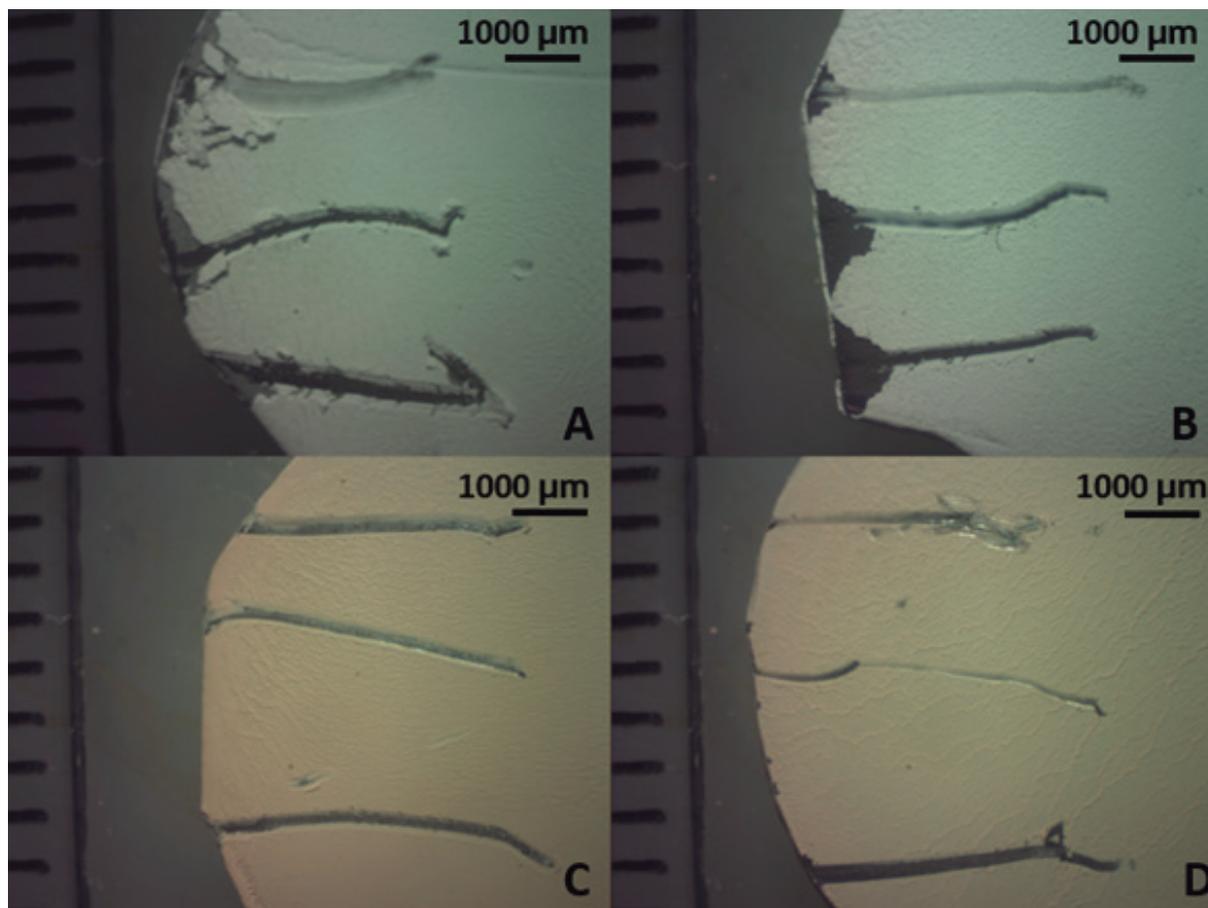
O deslocamento do plano dos difratogramas das amostras revestidas ocorreu devido a colocação do eletrodo no porta amostras de DRX. Pelo formato do eletrodo e do difícil manuseio do mesmo, não foi possível obter uma superfície totalmente nivelada com o porta amostras.

Na figura 6 é apresentado os resultados do ensaio de dureza ao lápis dos filmes de HA e HA(Fe). O revestimento com HA(Sr) foi retirado desta caracterização, pois o filme formado no substrato de titânio não foi totalmente uniforme, podendo prejudicar a avaliação dos demais filmes. Os resultados obtidos neste ensaio não podem ser equiparados a resultados obtidos por outros pesquisadores, pois é de conhecimento que os dados podem variar em decorrência da marca dos lápis e do aparato utilizado. Segundo a ASTM D3363-05, este tipo de ensaio é qualitativo e indicado para desenvolvimentos de novos produtos ou para controles de qualidade em um único laboratório.

Na figura 6A, nota-se que houve exposição da superfície metálica nos traços feitos com lápis HB e 6H, e mesmo o lápis 6B causou danos no filme, mostrando, então, a coesão do filme de HA sem tratamento térmico. A figura 6B mostra a imagem do filme de HA com tratamento térmico. Novamente, verifica-se que os lápis HB e 6H deixaram o metal exposto, porém, menos do que o de pré-queima. Também se percebe que apresenta maior resistência do que o filme da figura 6A.

Para as amostras revestidas com HA(Fe) - tanto a amostra de pré queima e pós queima - não apresentaram resistência aos lápis de HB e 6H, sem diferenças expressivas entre elas. Logo os resultados do teste de dureza não se mostraram muito significativos.

Figura 6 - Teste de dureza das amostras de HA pré queima (A) e pós queima (B). E de HA(Fe) pré queima (C) e pós queima (D).

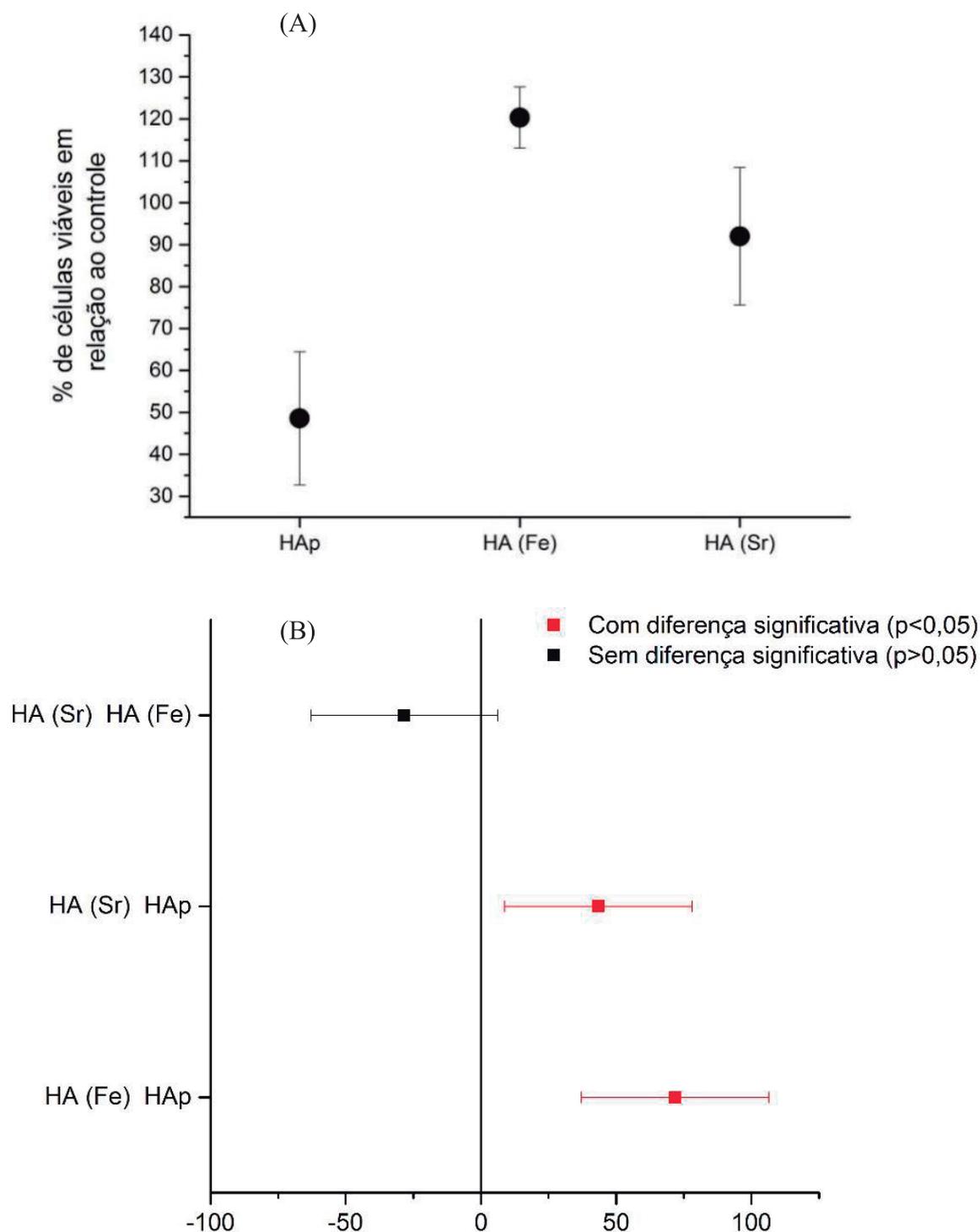


Os resultados das médias do ensaio de viabilidade celular pelo método MTT são apresentados na figura 7A. Como se pode observar, as amostras de titânio revestidas com HA(Sr) apresentaram média de $92 \pm 16,4\%$ de células viáveis em relação ao controle, e as revestidas com HA(Fe) valores de média de $120 \pm 7,2\%$ de células viáveis em relação ao controle. Pode-se verificar, também, que essa formulação foi a que apresentou menor desvio padrão. Esse resultado possivelmente está interligado com a qualidade do filme formado.

A HA foi a que apresentou menor afinidade celular, com $49 \pm 15,8\%$ comparado com o controle. Segundo Bispo (2009), o valor mínimo requerido para o teste de biocompatibilidade é de 50% de viabilidade celular. Logo, é verificado que a amostra revestida com HA estaria abaixo do limite requerido para um biomaterial. Com base nesta afirmativa, pode-se inferir que HA(Fe) e HA(Sr) apresentam uma biocompatibilidade dentro do esperado, conforme a literatura.

Na figura 7B são apresentados os resultados do teste ANOVA One-Way, utilizando Tukey para comparação entre as médias de viabilidade celular. Como pode ser observado, existe uma diferença significativa para as médias de; HA vs HA(Fe) ($p = 0,00171$) e HA vs HA(Sr) ($p = 0,01976$). Porém, não se observou diferença significativa entre as médias das amostras HA(Fe) vs HA(Sr) ($p = 0,10023$).

Figura 7 - Resultados do teste MTT de viabilidade celular em 48 horas: (A) médias e desvio padrão e (B) comparativo das diferenças das médias do teste Tukey.



CONCLUSÕES

Pode-se concluir, a partir dos resultados dos difratogramas de raios - X dos pós, que foi possível sintetizar hidroxiapatita normal e suas formulações com os demais íons através do método de precipitação via úmida. Apesar disso, foi verificada a formação da fase característica de HA e a

formação da fase β - TCP em todos os pós sintetizados. Sendo que, no pó de HA(Zn) essa formação de β - TCP foi mínima.

A metodologia de revestimento via eletroforese usada neste trabalho mostrou-se eficaz para a formação dos filmes nos substratos de titânio para HA, HA(Fe) e HA(Sr), porém, não foi possível obter um filme para a formulação de zinco. Sugere-se para trabalhos futuros o uso de diferentes solventes para melhorar a dispersão do pó HA(Zn) e favorecer o processo de deposição eletroforética.

Através dos difratogramas de raios-X dos revestimentos, percebeu-se uma grande intensidade do pico referente ao plano (211) que se deu pelo alinhamento dos planos de HA durante a deposição dos filmes.

Os testes de viabilidade celular mostraram que o titânio revestido com HA(Fe) e HA(Sr) podem ser aplicados sem causar reações adversas em tecidos celulares, sendo que os revestimentos com HA(Fe) parecem ter maior biocompatibilidade que as demais amostras.

REFERÊNCIAS

AKIYMA, J. et al. Formation of c-axis Aligned Polycrystal Hydroxyapatite Using High Magnetic Field with Mechanical Sample Rotation. **Materials Transactions**, v. 46, n. 2, p. 203- 206, 2005.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM D3363-05(2011) e2. **Standard Test Method for Film Hardness by Pencil Test**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2011.

ASRI, R. I. M. et al. A review of hydroxyapatite-based coating techniques: Sol-gel and electrochemical depositions on biocompatible metals. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 57, p. 95-108, 2016.

BIGI, A. et al. Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, n. 3, p. 1009-1016, 2007.

BISPO, M. V. **Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA**. 2009. 189p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Minas Gerais, Curso de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Belo Horizonte, 2009.

CHENG, K.; WENG, W. Zinc- and Fluorine-Doped HA Coatings via Sol-Gel Method. In: ZHANG, S. (Ed.). **Hydroxyapatite, Coatings for Biomedical Applications**. New York: CRC Press, 2013. p. 145-200.

MAHYUDIN F.; WIDHIYANTO L.; HERMAWAN, H. Biomaterials in Orthopaedics. In: MAHYUDIN F.; HERMAWAN, H. (Ed.) **Biomaterials and Medical Devices: A Perspective from an Emerging Country**. Cham: Springer, 2016. p. 161-181.

OLIVEIRA, C. S. **Estudo de parâmetros para a eletrodeposição de hidroxiapatita sobre nanotubos de carbono alinhados visando aplicações como arcabouços para crescimento ósseo**. 2012. 64p. Projeto de iniciação científica. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2012.

REN, F. et al. Characterization and structural analysis of zinc-substituted hydroxyapatites. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 8, p. 3141-3149, 2009.

SRIDHAR, T. M.; KAMACHI MUDALI, U.; SUBBAIYAN, M. Sintering atmosphere and temperature effects on hydroxyapatite coated type 316L stainless steel. **Corrosion Science**, v. 45, n. 10, p. 2337-2359, 2003.

THANH, D. T. M. et al. Controlling the electrodeposition, morphology and structure of hydroxyapatite coating on 316L stainless steel. **Materials Science and Engineering**, v. 33, n. 4, p. 2037-2045, 2013.

VAHABZADEH, S. et al. Phase stability and biological property evaluation of plasma sprayed hydroxyapatite coatings for orthopedic and dental applications. **Acta Biomaterialia**, v. 17, p. 47-55, 2015.

WIJESINGHE, W. P. S. L. et al. Preparation of bone-implants by coating hydroxyapatite nanoparticles on self-formed titanium dioxide thin-layers on titanium metal surfaces. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 63, p. 172-84, 2016.

