

PRODUÇÃO DE COMPÓSITOS BIOATIVOS À BASE DE NANOTUBOS DE CARBONO E HIDROXIAPATITA PARA APLICAÇÕES COMO ARCABOUÇOS DE CRESCIMENTO ÓSSEO

Alessandro Eustáquio Campos Granato^{1,3}, Anderson de Oliveira Lobo^{2,3}, Cristina Pacheco-Soares¹, Evaldo José Corat^{2,3}

¹ Laboratório de Dinâmica de Compartimentos Celulares, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos/SP.

² Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA), São José dos Campos/SP.

³ Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) / Laboratório de Sensores e Materiais, São José dos Campos, SP.

alessandroecgranato@gmail.com¹, loboao@yahoo.com², corat@las.inpe.br²; cpsoares@univap.br¹

Resumo- Nanobiomaterias são promissoras pelo fato de apresentarem similaridades com componentes nanoestruturados de matriz extracelular. Dentro desta classe, os nanotubos de carbono de múltiplas paredes (MWCNT) têm sido estudados com grande interesse devido à sua alta biocompatibilidade. A bioatividade associada à biocompatibilidade de um material torna-se essencial, viabilizando sua aplicabilidade como arcabouços para formação de tecidos e recobrimentos de próteses ósseas. Este trabalho teve como objetivo a modificação superficial e fabricação de compósitos de MWCNT e hidroxiapatita (HA) viabilizando aplicações como arcabouços para crescimento ósseo. A Bioatividade dos compósitos obtidos foi avaliada utilizando simulado do fluido corpóreo *in vitro* (SBF). Conseguiu-se obter cristais de HA sobre os MWCNTs super-hidrofílicos de forma rápida, homogênea, cristalina e de ótima qualidade sem a necessidade de tratamento térmico. Excelentes resultados de bioatividade foram obtidos após sete dias (7) de incubação com SBF. Devido às características e propriedades dos compósitos torna-se extremamente viável suas aplicações para aceleração de processos regenerativos *in vivo*.

Palavras-chave: Nanobiomateriais, nanotubos de carbono, Hidroxiapatita e Bioatividade

Área do Conhecimento: Biomateriais

Introdução

Um dos maiores tópicos de pesquisas atuais em engenharia de tecidos é o controle da topografia, particularmente para a otimização da colonização celular. Condições topográficas nano-escalares oferecem um efeito significativo na proliferação e diferenciação celular (HORBETT, 1996; SCHAKENRAAD, 1996). A engenharia de tecidos procura desenvolver estruturas nanoescalares, onde biomimeticamente podem ser usadas para controlar o comportamento celular (WILSON *et al*, 2005; SATO, N.; WEBSTER, T. J., 2004).

Biomateriais nanoestruturados são promissoras pelo fato de apresentarem similaridades com componentes nanoestruturados de matriz extracelular, despertando grande interesse na área de bioengenharia. Suas configurações e propriedades físico-químicas influenciam nas interações celulares que conduzem à regeneração de tecidos, sendo vistos como um avanço em superfícies implantáveis. Dentro da classe de nanomateriais, os nanotubos

de carbono (CNT) possuem um grande potencial para aplicações biomédicas devido as suas propriedades únicas, tais como, condutividade elétrica, alta estabilidade química, alta resistência mecânica e facilitação para incorporação de grupos funcionais para produção de arcabouços para sustentação celular (HORBETT, 1996; SATO, N.; WEBSTER, T. J., 2004).

A interação dos tecidos vivos com o biomaterial, associada com o tipo de resposta do organismo à presença do material, é o ponto mais desafiador no desenvolvimento de biomateriais. Os tipos de interação entre tecido-implante são fundamentalmente dependentes do tipo de material e podem ser reunidos nos seguintes grupos: tóxica, não-tóxica (muitas vezes chamada de bioinerte), bioativa e biodegradável. Ultimamente o desenvolvimento de materiais considerados bioativos vêm sendo enfatizado já que, além de substituir tecidos traumatizados, estes materiais também podem propiciar a recuperação do tecido danificado através da atuação em metabolismos intra e extracelulares responsáveis pela reprodução celular e

propagação dos tecidos em crescimento (HENCH, L. L, 1991).

A hidroxiapatita (HÁ), por ser o principal constituinte da fase inorgânica do osso, tem sido muito estudada. Suas características químicas e estruturais possibilitam seu uso na área médica como material biocompatível em implantes e próteses (EANES, E. D, 1980). O interesse particular por estas estruturas ocorre devido à facilidade de promover a ligação interfacial estável entre o material implantado e o tecido vivo (FULMER *et al.*, 1992).

A utilização de *scaffolds* a base de CNT para crescimento de células vem sendo amplamente estudadas, podendo variar suas composições de acordo com as aplicações. Geralmente utilizam-se os CNT crescidos sobre substratos, misturados em hidroxiapatita (WHITE, A. A., BEST, S. M, 2007) ou misturados em matrizes poliméricas biorreabsorvíveis (ZHANG, D.*et al.*, 2006; ABARRATEGI, A. *et al.*, 2008), buscando melhorar propriedades mecânicas e também favorecer a proliferação e diferenciação celular.

A utilização de soluções que simulam o fluido corpóreo acelular (SBF) tem se intensificado nos últimos anos, principalmente depois que KOKUBO e colaboradores definiram bioatividade como sendo a capacidade de alguns materiais tem de desenvolverem uma camada de apatita sobre sua superfície após imersão nestas soluções. Esta camada de apatita formada pode atuar como sinalizadora das células que se proliferam e se diferenciam para produzir colágeno e hidroxiapatita. Desde então, várias soluções simuladoras, que diferem entre si pela composição química, têm sido propostas com esta finalidade. Em Kokubo *et al.* (2006) estes autores apresentam um balanço da previsão do comportamento *in vivo* a partir do emprego de teste *in vitro* (KOKUBO *et al.*, 2006) onde principalmente procuram caracterizar as diversas formas de apatitas presentes nos filmes obtidos.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um novo método rápido, eficiente de fabricação de compósitos nanoestruturados de CNT e hidroxiapatita pelo método de eletrodeposição direta. Foram obtidos cristais de HÁ com alto grau de cristalinidade e com excelentes propriedades bioativas após incubação com SBF por 21 dias viabilizando futuras aplicações como *scaffolds* para estudos *in vitro* e *in vivo*.

Materiais e Métodos

Produção e funcionalização dos nanotubos de carbono

Os nanotubos de carbono de múltiplas camadas (MWNTs) foram crescidos em um Reator de Plasma de Microondas por um processo de duas etapas, que denominamos de Pré-Tratamento e Deposição. Utilizou-se, como substrato para o crescimento, silício revestido por uma fina camada de níquel (~5nm). Na etapa de Pré-Tratamento, o objetivo foi criar nano-ilhas de níquel, a partir das quais os nanotubos puderam ser nucleados. Antes de iniciar esse processo, misturou-se 90 sccm de H₂ +10 sccm de N₂ a uma pressão de 20 Torr aquecendo o porta- substrato utilizando uma resistência elétrica até atingir uma temperatura aproximada de 525°C. Na fase de pré-tratamento, com duração de 5 minutos, a potência do Gerador de Microondas foi mantida em 800 W e a temperatura atingiu cerca de 700°C. A etapa de deposição teve duração de 2 minutos e, nela, 14 sccm de CH₄ foram adicionados como fonte de carbono, a 20 Torr de pressão, 800 W de potência e temperatura de 750°C.

Os MWCNT foram funcionalizados utilizando plasma de oxigênio para incorporação de grupos funcionais carboxílicos, e com isso apresentando melhores propriedades de molhabilidade, estes resultados são bem descritos e comprovados por RAMOS e colaboradores (RAMOS SC *et al.*, 2010). Para o tratamento a plasma foi utilizado um reator montado no laboratório do grupo, utilizando a técnica de DC pulsado PECVD (BONETTI, 2008). Brevemente os parâmetros para a funcionalização foram: fluxo de 1 sccm; tensão aplicada – 400V, pressão de trabalho 80mTorr e tempo total de 2 minutos. Mais detalhes sobre os métodos e princípios estão descritos em outros trabalhos do grupo por RAMOS e colaboradores (RAMOS SC *et al.*, 2010).

Eletrodeposição de hidroxiapatita sobre os MWCNT

A eletrodeposição de HA sobre os filmes de VACNTs foi obtida utilizando os eletrólitos, nas concentrações molares definidas a seguir: 0.042 molL⁻¹ Ca(NO₃)₂.4H₂O + 0.025 molL⁻¹ (NH₄).2HPO₄ electrolytes (pH=4.7). As medidas eletroquímicas foram feitas utilizando uma célula de três eletrodos acoplados a um equipamento Autolab PGSTAT 302. Os filmes de MWCNTs superhidrofílicos foram usados como um eletrodo de trabalho e a área de contato com a solução eletrolítica foi de 0,27 cm². Como referência foram utilizados eletrodos de Ag/AgCl (Calomelano) e contra-eletrodos de platina. Os filmes de HA foram produzidos aplicando uma constante voltagem de -2,0 V durante 30 min e a temperatura da solução foi mantida a 70° C.

Preparação e ensaio *in vitro* do SBF

Os testes de bioatividade foram realizados para comparar os níveis de bioatividade *in vitro* das amostras, usando solução de SBF-K9 acelular. Essa solução possui todos os íons encontrados no plasma humano em concentração semelhante.

A tabela 1 descreve as quantidades de reagentes utilizados para a preparação da solução de SBF, de acordo com o método proposto por Barrère e colaboradores (BARRERE *et al.*, 2004).

Tabela 2. Composição e quantidade em peso dos reagentes para a preparação da solução de SBF.

Componente	Quantidade (g/l)
NaCl	40,0
MgCl ₂ . 6H ₂ O	1,52
CaCl ₂ . 2H ₂ O	1,84
Na ₂ HPO ₄ . 2H ₂ O	0,89
NaHCO ₃	1,76

Tal avaliação é universalmente usada para testar materiais bioativos, os quais são mantidos em solução numa razão (RSA/VS) = 0,1 cm⁻¹ a 36,7° C. Os reagentes foram dissolvidos em água deionizada (900 ml), com agitação magnética e fluxo constante de CO₂ e sendo mantido por mais 20 minutos, até que a solução final apresentasse de forma translúcida, com pH em torno de 6,04. Após este procedimento, completou-se a solução com água deionizada para um total de 1000 mL.

Os compósitos de MWCNTs e HA foram limpos e desengordurados em ultrassom com água deionizada e auto-clavados em estufa a 121,5°C. Os experimentos foram realizados em frascos de polipropileno de 15 mL cuidadosamente limpos, com tampa de rosca contendo 10 mL de solução e mantidos a uma temperatura constante de 37° C em agitador a 75rpm (CT-712R, Cientec) por um período total de 21 dias. Os experimentos foram feitos em triplicata para cada período, sendo eles: 7,14 e 21 dias. Após cada período de incubação as amostras foram retiradas, lavadas em água deionizada e preparadas para as análises.

Caracterização morfológica e estrutural dos filmes de hidroxiapatita.

O material depositado e incubados em SBF foram caracterizados através de microscopia

eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia dispersiva de raio-X (EDS), difração de raio-X (DRX) e microscopia de força atômica (MFA) e espectroscopia Raman.

Os parâmetros utilizados para a realização da MEV foram: tensão de 5 kV, distância de trabalho entre 5-8 mm, e ampliações que variaram de 200-5.000 vezes. O EDS foi utilizado para fazer o mapeamento e composição dos elementos químicos presentes. As peças receberam um revestimento de ouro para que a superfície se tornasse condutora. O MEV foi utilizado com o objetivo de se verificar a morfologia e o tamanho dos cristais depositados.

Para as medidas de raios-X usou-se um difratorômetro de alta resolução (marca Philips X'Pert MRD). O espectro de refletividade foi ajustado com uma varredura de $w/2Q$ entre $w=0,050$ and $w=70$. O objetivo da difração de raio-X foi identificar as fases presentes no depósito.

Os espectros foram coletados pelo sistema micro-Raman, modelo Renishaw 2000, com comprimento de excitação no visível (514,5 nm), utilizando um laser de argônio. O Objetivo desta técnica é caracterizar as ligações de fosfatos presentes nos filmes obtidos.

Resultados

Na Figura 1 mostra-se o EDS, para comprovar a eficiência da eletrodeposição. As análises foram realizadas pontualmente, em uma área de 1 μ m². Podemos observar a presença dos elementos Ca e P.

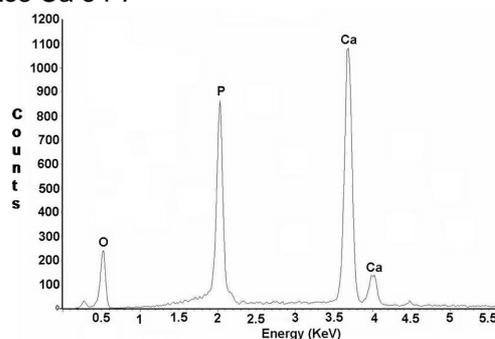


Figura 1: EDS dos filmes de hidroxiapatita obtidos sobre MWCNT super-hidrofílicos.

A Figura 2 mostra o espectro típico de raios-X da composição das fases obtidas dos filmes bioativos de HA obtidos sobre os MWCNT super-hidrofílicos.

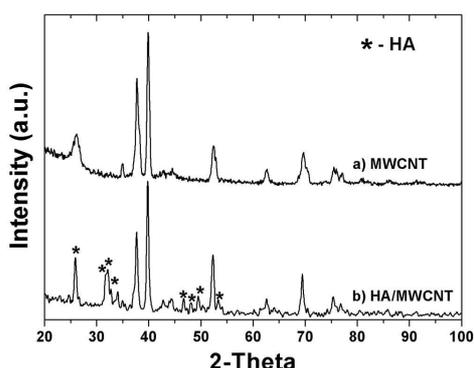


Figura 2: Espectroscopia de raios X dos filmes bioativos de HA sobre MWCNT super-hidrofílicos.

Utilizou-se a espectroscopia Raman para caracterizar as ligações químicas de Ca/P presentes nos filmes bioativos de HA sobre os MWCNT alinhados. Na Figura 3 está o espectro Raman.

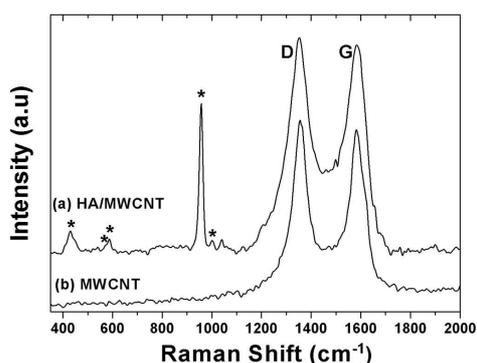


Figura 3: Espectro Raman dos filmes bioativos de HA obtidos sobre as amostras de MWCNT super-hidrofílicos.

Após a caracterização dos compósitos de MWCNT/HA foram iniciados estudos de avaliação da bioatividade dos compósitos. A bioatividade está associada aos fenômenos que ocorrem na interface do material. Normalmente, ela é definida como a habilidade de um material ligar-se quimicamente ao osso, através da formação de uma camada de fosfato de cálcio, promovendo uma osteogênese verdadeira.

A Figura 4a.1 e 4b.1 mostram os cristais de HA formados sobre os MWCNT super-hidrofílicos alinhados, com uma visão de topo (b.) e na lateral (a.).

Nas figuras 4 a.2, a.3, a.4, b.2, b.3, b.4, temos as imagens de MEV para os períodos de exposição ao SBF. Claramente nota-se que ocorreram à formação gradual, de acordo com cada tempo de incubação, uma camada compacta de apatita sobre os compósitos de MWCNT e HA.

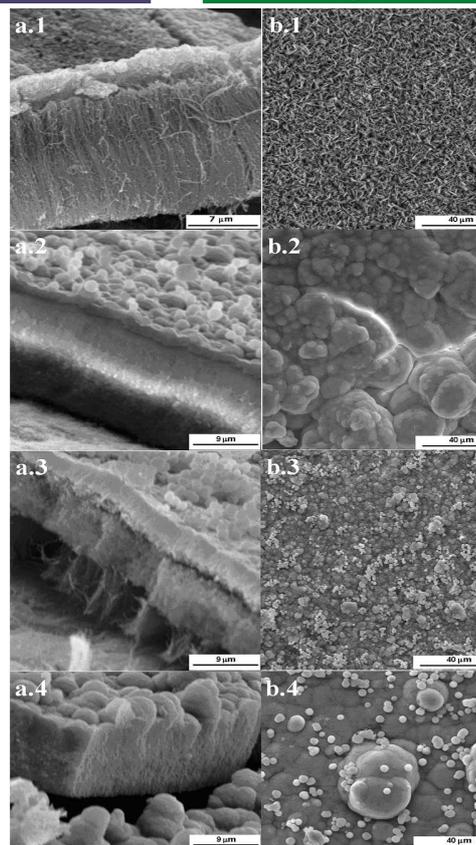


Figura 4: Imagens de MEV dos compósitos de MWCNT/HA eletrodepositados (a.1 e b.1) e incubados após 7 (a.2 e b.2), 14 (a.3 e b.3) e 21 (a.4 e b.4) dias de incubação em SBF.

Discussão

No resultado de EDS mostrado na Figura 1, a concentração molar encontrada para o Ca foi de 9,21 mol e para o P foi de 5,63 mol, apresentando uma relação de Ca/P=1,64, valores próximos à HA estequiométrica presente nos tecidos ósseos (Ca/P=1,67).

Pode-se observar na Figura 2 que os filmes bioativos de HA sobre os MWCNT alinhados certamente apresentam alta cristalinidade. A formação de apatita é deduzida na presença de muitas características dos picos apresentados pelo espectro obtidos por raios X. Podemos observar os principais planos e fases, tais como: 25,9° (002), 31,9° (211), 32,9 (112), entre outros (YANG *et al.*, 2009; TESIS *et al.*, 2007; ARYAL *et al.*, 2006). Pelo fato dos picos nestas regiões apresentarem-se bem estreitos podemos garantir a cristalinidade dos biofilmes de HA obtidos sobre MWCNT alinhados.

O espectro Raman da HA sobre os MWCNTs alinhados obtidos após 30 minutos de eletrodeposição são mostrados na Figura 3. Observamos em ambos os espectros a presença da banda D e G, típica de materiais carbonosos. O

espectro dos biofilmes de HA contém bandas associadas ao carbonato de fósforo, apatita e íons de hidroxila presentes. Observa-se que ocorre a presença de uma banda muito intensa a 961 cm^{-1} , a qual está relacionada ao modo de estiramento do grupo fosfato (PO_4), característica quando obtêm cristais de HA cristalinos. Os outros modos de fosfatos são também observados no espectro Raman, sendo eles relacionados aos modos de estiramento, tais como: 432 cm^{-1} (PO_4), 590 cm^{-1} (PO_4), 1025 cm^{-1} (PO_4) e 1035 cm^{-1} (CO_3).

Observa-se que ocorreu a formação de cristais regulares em formas de agulhas e placas e de forma homogênea sobre os MWCNT super-hidrofílicos pela técnica de eletrodeposição (Figura 4a.2) com uma espessura em torno de $3\text{ }\mu\text{m}$. Na Figura 4a.2 e b.2, são mostrados os resultados dos compósitos de MWCNT e HA obtidos após 7 dias de incubação em SBF. Observa-se que ocorreu um aumento da ordem de 3 vezes ($\sim 9\text{ }\mu\text{m}$) da camada de HA sobre os MWCNT, e início da compactação da estrutura alinhada dos MWCNT, inicialmente expostas após a eletrodeposição de HA, além de diferenças apresentadas em relação à estrutura dos cristais. Nitidamente observa-se uma evolução do crescimento da camada densa de apatita após 14 dias em SBF (Figura 4a.3 e b.3), em torno de $\sim 12\text{ }\mu\text{m}$. A bioatividade dos compósitos obtidos podem ser comprovadas após 21 dias de incubação em SBF (Figura 4a.4 e b.4), onde devido a densidade da camada formada ocorreram desprendimento do substrato de titânio devido à sua espessura e densificação.

As alterações morfológicas ocorreram provavelmente devido à nucleação de íons de Ca e conseqüentemente P, sobre as superfícies dos cristais inicialmente formados. Alguns fatores são considerados influentes na dissolução de íons de Ca e P, sendo um dos principais as características micro-estruturais, ou seja, tamanho de grão e distribuição de poros, sabe-se que uma porosidade elevada e grãos de pequenas dimensões aumentam a taxa de dissolução. Poros nanométricos, também podem atuar como sítios iniciantes para nucleação e crescimento de cristais de apatita (LEGEROS *et al.*, 1991).

Pode ser considerado que as características dos compósitos de MWCNT/HA apresentem uma alta energia interfacial, o que pode estar favorecendo a formação da camada compacta e densa observada. Se em meio biológico, ocorrer similaridades aos dados obtidos após a incubação com SBF, podemos comprovar que a presença de núcleos pequenos, pode se desencadear a rápida ação dos macrófagos que tendem a realizar o processo de fagocitose, resultando em uma maior tendência à reabsorção que ao estímulo do crescimento ósseo (HENCH *et al.*, 2001). O cálcio é um dos principais elementos presentes no SBF e

em materiais bioativos, cuja participação é bastante efetiva no processo de dissolução/precipitação. A liberação deste íon representa um dos principais fatores responsáveis pela formação da camada biologicamente ativa e estímulo para o crescimento ósseo (TASIS *et al.*, 2007). Desta forma conseguimos observar um aumento na razão estequiométrica de $\text{Ca/P} = 2,024$, após 21 dias de incubação em SBF. Estes resultados expressam um aumento em torno de 20% em relação à razão estequiométrica inicialmente medida ($\text{Ca/P}=1,64$), comprovando a bioatividade dos compósitos de MWCNT/HA.

Alguns autores já reportaram o crescimento de apatita sobre compósitos de MWCNT. Yang e colaboradores realizaram um estudo sobre a formação de apatitas sobre compósitos de MWCNT e quitosana, utilizando uma imersão em uma solução de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ por 12 horas, no entanto não conseguiram obter cristais de apatitas cristalinos e homogêneos. Os autores obtiveram uma razão de Ca/P bem maiores que os valores da HA estequiométrica (2,5-3,0), dependente da massa de MWCNT dispersos na matriz. A justificativa destes altos valores obtidos dar-se-á pelo fato da instabilidade da formação dos íons de Ca formados nas superfícies dos MWCNT, o que conseqüentemente provoca uma precipitação não homogênea dos íons de P (TASIS *et al.*, 2007). TASIS e colaboradores estudaram o crescimento de carbonato de cálcio sobre MWCNT funcionalizados na forma de "buckpapers". Para o crescimento dos filmes de carbonato de cálcio utilizaram a técnica de difusão de vapor do composto $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ em soluções de CaCl_2 contendo os filmes de MWCNT funcionalizados por 14 horas de incubação. Após este período de tempo observaram-se a formação de cristais nas formas esféricas, e helicoidais de fosfatos de Ca isolados, e com dimensões variando entre $10\text{-}15\text{ }\mu\text{m}$. Foi evidenciada a presença da calcita, uma das fases existentes do carbonato de Ca (ARYAL *et al.*, 2006). ARYAL e colaboradores estudaram a formação de um compósito de MWCNT funcionalizados por grupos carboxílicos e cristais de HA utilizando a técnica biomimética de SBF por um período de 21 dias. Após os estudos os autores observaram a formação de micro-cristais de HA ($3\text{ }\mu\text{m}$) não-homogêneos em forma de cubo após o período de 21 dias em solução. Entretanto são observados por espectroscopia Raman apenas os modos vibracionais relacionados à fase cristalina da HA, sem a presença das fases de carbonatos e fosfatos, imprescindíveis quando se deseja a produção de biofilmes (DALBY *et al.*, 2004).

Conclusão

Os resultados apresentados até o presente momento são inovadores, pois ainda não foram reportados crescimento de nano-cristais de HA sobre scaffolds de MWCNT. Diferentemente dos resultados descritos na literatura, conseguiu-se a obtenção de nano-cristais de HA homogêneos e de forma rápida (20 minutos). Melhores resultados foram obtidos quando se utilizaram MWCNT super-hidrofílicos, funcionalizados utilizando plasma de oxigênio, o que certamente viabiliza a formação de cristais, não somente pela melhor molhabilidade, mas também pelas ligações químicas disponíveis nas superfícies dos MWCNT, o que certamente facilita a incorporação de íons de Ca, acelerando a precipitação de íons de P, conforme demonstrados pelas razões estequiométricas obtidas por EDS. Desta forma, associando os dados de EDS, DRX e espectroscopia Ramam, pode-se afirmar que se conseguiu obter cristais de HA de uma forma homogênea, cristalina e de ótima qualidade sobre MWCNT super-hidrofílicos.

Com os estudos de bioatividade dos compósitos de MWCNT/HA conseguiu-se comprovar que os mesmos possuem características e propriedades que possam vir a colaborar com os processos regenerativos para formação de tecidos ósseos que serão complementados com estudos de produção de fosfatase alcalinas in vitro associadas aos testes de adesão e proliferação de osteoblastos humanos.

Referências

- ABARRATEGI, A. et al. **Biomaterials**, v. 29, p. 94-102, 2008.
- ARYAL, S; Shanta Raj Bhattarai, Remant Bahadur K.C., Myung Seob Khil, Duck-Rae Lee, Hak Yong Kim. Carbon nanotubes assisted biomimetic synthesis of hydroxyapatite from simulated body fluid. *Materials Science and Engineering: A*, Volume 426, Issues 1-2, 25 June 2006, Pages 202-207
- BARRERE, F, Snel M.M.E., A. van Blitterswijk, Klaas de Groota, Layrolle P. Nano-scale study of the nucleation and growth of calcium phosphate coating on titanium implants. *Biomaterials* 25 (2004) 2901–2910.
- BONETTI, L. F. Otimização das propriedades mecânicas e tribológicas de filmes de DLC crescidos sobre substratos metálicos objetivando aplicações espaciais e industriais. 2008. 171 f. Tese (Doutorado em Engenharia Aeronáutica e Mecânica – Física e Química dos Materiais Aeroespaciais) – Instituto Tecnológico de Aeronáutica - ITA, São José dos Campos, SP.
- DALBY, MJ; Riehle MO, Sutherland DS, Agheli H, Curtis AS. Use of nanotopography to study mechanotransduction in fibroblasts-methods and perspectives. *Eur J Cell Biol* 2004;83:159–69.

- EANES, E. D. Program Crystal Growth Characteristics. vol. 3, p. 3-15, 1980.
- FULMER, M. T.; Martin, R. I.; Brown, P. W. Formation of Calcium deficient Hydroxyapatite at near-physiological temperature. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 3, p. 299-305, 1992.
- HENCH, L. L. - Bioceramics: from concept to clinic. *J. Am. Ceram. Soc.*, 74, n. 7, 1487510, (1991).
- HENCH, L.L.; JONES, J. R.; SEPULVEDA, P. *Bioactive materials for tissue Engeneering scaffolds*, cap.I, p. 3-22, 2001.
- HORBETT, T. A. Proteins: structure, properties and adsorption to surfaces. In: RATNER, B.D. et al. **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine..** New York: Academic Press, 1996. p. 133.
- KOKUBO, T., TAKADAMA, H., “How Useful Is SBF in Predicting in Vivo Bone Bioactivity?”, *Biomaterials*, v. 27, pp. 2907-2915, 2006.
- LEGEROS R. Z., Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monographs in Oral*, 15 , 1991
- RAMOS, SC, Vasconcelos G, Antunes EF, Lobo AO, Trava-Airoldi VJ, Corat EJ. Wettability control on vertically-aligned multi-walled carbon nanotube surfaces with oxygen pulsed DC plasma and CO2 laser treatments. *Diamond Related Materials*, in press, doi: 10.1016/j.diamond.2010.01.044 .
- SATO, N.; WEBSTER, T. J. Nanobiotechnology: implications for the future of nanotechnology in ortopedic applications. **Expert Ver. Medicine Devices**, v. 1, n. 1, p. 105-114, 2004.
- SCHAKENRAAD, J. M. Cell: their surfaces and interactions with materials. RATNER, B. D. et al. **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine..** New York: Academic Press, 1996. p. 133.
- TISIS, D; Stergios Pispas, Costas Galiotis and Nikolaos Bouropoulos. Growth of calcium carbonate on non-covalently modified carbon nanotubes (2007). *Materials Letters*;61(28):5044-5046
- WHITE, A. A.; BEST, S. M. **International Journal Application Ceramics Technology**, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2007.
- WILSON, C. J. et al. Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review. **Tissue engineering**, v. 11, p. 1-18, 2005.
- YANG, J; Zhiwen Yao, Changyu Tang, B.W. Darvell, Hualin Zhang, Lingzhan Pan, Jingsong Liu and Zhiqing Chen. Growth of apatite on chitosan-multiwall carbon nanotube composite membranes. *Applied Surface Science*; 255:8551-8555.
- ZHANG, D.et al. **Journal Physics Chemistry B**, v. 110, p. 12910-12915, 2006.

XIV INIC

Encontro Latino Americano
de Iniciação Científica

X EPG

Encontro Latino Americano
de Pós Graduação

IV INIC Jr

Encontro Latino Americano
de Iniciação Científica Júnior