

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**DESENVOLVIMENTO DE BIO CERÂMICAS POROSAS PARA
REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Ana Carolina Brasil Marcelino Fook

Campina Grande
Fevereiro/2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

DESENVOLVIMENTO DE BIOCERÂMICAS POROSAS PARA
REGENERAÇÃO ÓSSEA

Ana Carolina Brasil Marcelino Fook

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia
de Materiais como requisito parcial
à obtenção do título de MESTRE EM
CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Agência Financiadora: CAPES

Campina Grande

Fevereiro/2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

F686d

2008 Fook, Ana Carolina Brasil Marcelino.

Desenvolvimento de biocerâmicas porosas para regeneração óssea /
Ana Carolina Brasil Marcelino Fook.— Campina Grande, 2008.

68f.: il.

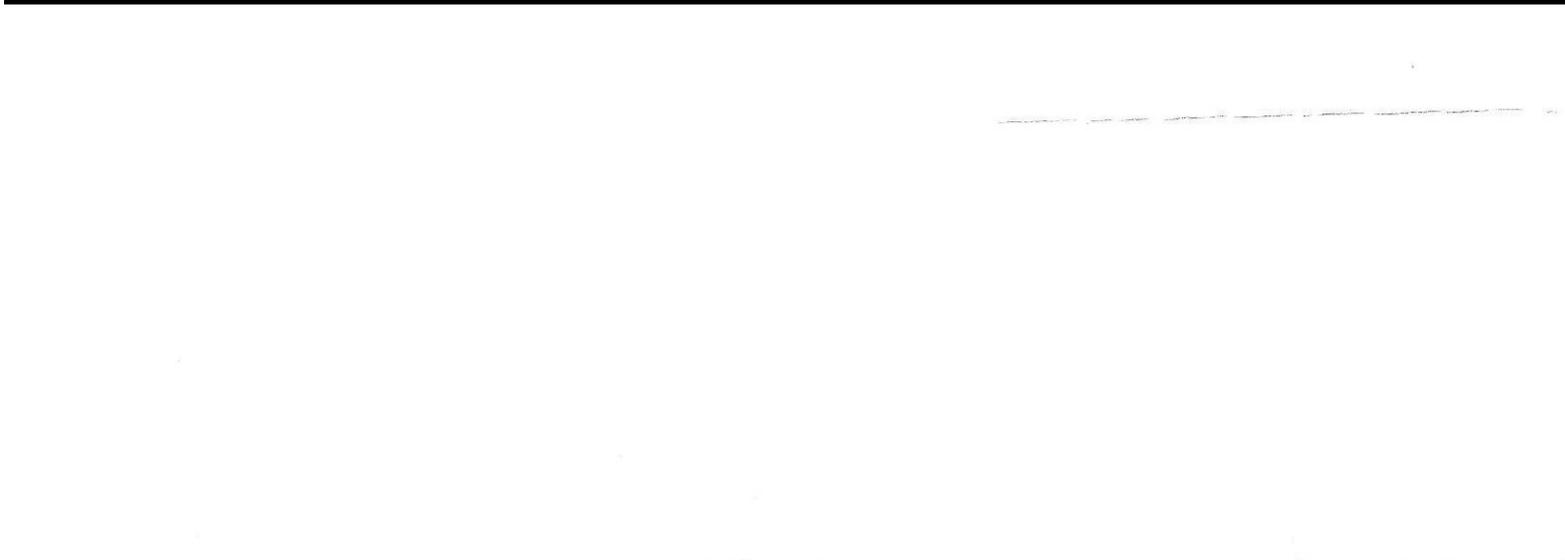
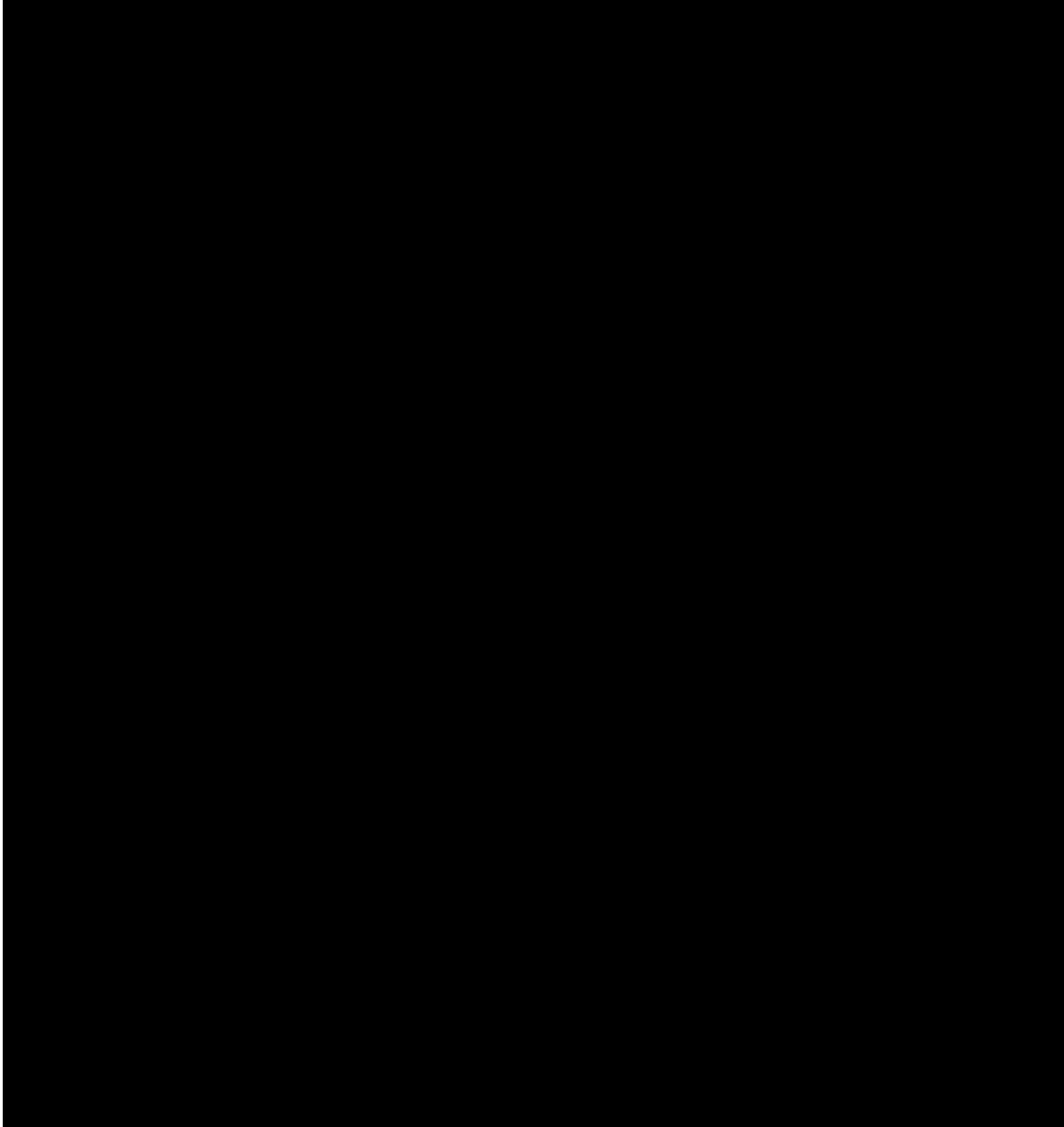
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e
Tecnologia.

Referências.

Orientador : Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook.

1. Biocerâmicas. 2. Fosfato de cálcio. 3. Regeneração óssea. I.
Título.

CDU – 666.3-127(043)



ANA CAROLINA BRASIL M. FOOK

22 de Agosto de 1981
Campina Grande, PB

Nascimento

Severino Marcelino Filho
Vânia Maria Brasil Marcelino

Filiação

1999 - 2006

Curso de Graduação em Engenharia
de Materiais na Universidade Federal
de Campina Grande – UFCG,
Campina Grande.

À Deus por tudo que tenho e sou.

Ao meu marido, **Márcio**, e meu filho **Daniel** com quem compartilho desta vitória, pelo mais sincero amor e incentivo em todos os momentos.

Aos meus pais, **Marcelino** e **Vânia** pelo amor, dedicação e importância que representam na minha vida.

À toda minha **família** e **amigos**, com quem divido a alegria deste momento.

AGRADECIMENTOS

Os meus sinceros agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook** pela orientação, incentivo, compreensão e confiança necessária para a realização desse trabalho.

Aos amigos de laboratório **Keila, Rayssa e Thiago** pela amizade e auxílio indispensável.

Aos amigos do **Grupo de Biomateriais da UAEMa- UFCG**, pelos momentos de interação.

À **Anahí Herrera Aparecida**, doutoranda do Instituto de Química da UNESP-Araraquara, pela colaboração e presteza na realização dos ensaios de caracterização.

À Coordenação de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da UFCG, na pessoa do coordenador, **Prof. Dr. Tomas Jeferson Alves de Melo**.

À **CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - pelo apoio financeiro.

DESENVOLVIMENTO DE BIOCERÂMICAS POROSAS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Resumo

Atualmente na área de biomateriais destinados à regeneração óssea, existe um interesse no desenvolvimento de materiais capazes de estimular a resposta biológica necessária para restabelecer as funções do tecido ósseo em caso de perda, falta ou mau funcionamento. A hidroxiapatita (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) que apresenta semelhança com a fase mineral dos ossos e dos dentes, é biocompatível e osteocondutiva, e tem excelente afinidade química e biológica com os tecidos ósseos. Este trabalho teve como objetivo desenvolver biocerâmicas porosas para regeneração óssea utilizando a técnica réplica da esponja polimérica. Foram utilizadas esponjas de poliuretano com densidades variadas para a obtenção dos suportes porosos. Os resultados de espectroscopia no infravermelho e difração de raios X revelaram a formação da HA monofásica e confirmaram a eficiência da reação de neutralização utilizada na obtenção da pasta cerâmica. As análises por microscopia eletrônica de varredura revelaram suportes com poros interconectados com tamanhos variados na ordem de macro ($>100\mu\text{m}$) e microporosidade (1-20 μm) em menor ou maior grau dependendo da densidade da esponja utilizada na produção das amostras. Estes resultados foram comprovados pela análise de porosimetria de mercúrio. Os suportes porosos HAPU-28 destacaram-se por apresentar maior porosidade total em comparação com os suportes produzidos com esponja de menor densidade (HAPU-20 e HAPU-25). Os resultados apontam os suportes porosos de HA desenvolvidos nesse estudo como materiais em potencial para aplicação como substitutos ósseos por apresentarem alta porosidade ($>70\%$), composição química, interconectividade e tamanhos dos poros adequados à regeneração óssea.

Palavras-chave: Biocerâmicas, fosfato de cálcio, regeneração óssea.

DEVELOPMENT OF POROUS BIOCERAMICS FOR BONE REGENERATION

ABSTRACT

Currently in the area of biomaterials destined for bone regeneration, exists an interest in the development of materials capable to stimulate the biological reply necessary to reestablish the functions of the bone tissue in loss, lack or bad functioning case. The hydroxyapatite (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) that shows similarity with the mineral phase of bone and teeth, it is biocompatible and osteoconductive, and has excellent chemical and biological affinity with the bone tissue. This study aimed to develop porous bioceramics for bone regeneration using the replica of the polymeric sponge technique. Polyurethane sponges were used with varying densities to obtain the scaffolds. Results of infrared spectroscopy and X-ray diffraction analysis revealed the formation of the HA monophasic and confirmed the efficiency of the neutralization reaction used in obtaining the slurry ceramics. Analyses by scanning electron microscopy revealed scaffolds with interconnected pores with different sizes on the order of macro and microporosity to a lesser or greater degree depending on the density of foam used in the production of samples. These results were proven by the analysis of the mercury porosimetry. The porous scaffold HAPU-28 detached by showing higher total porosity compared to scaffold produced with sponge of lower density (HAPU-20 and HAPU-25). The results indicate the porous HA scaffolds developed in this study as potential materials for application as bone substitutes to have high porosity (> 70%), chemical composition, interconnectivity and pore sizes appropriate to the bone regeneration.

Key-words: Bioceramics, calcium phosphate, bone regeneration.

PUBLICAÇÕES

BARBOSA, W. P. F., FOOK, A.C.B.M., FOOK, M.V.L. Desenvolvimento de suportes porosos de hidroxiapatita para uso odontológico. In: 25º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo. Anhembi-SP. Janeiro, 2008.

MEDEIROS, K.M.; MARCELINO, A.C.B.; APARECIDA, A.H.; CASTANHA, E.M.M.; AZEVEDO, V.V.C.; Fook, M.V.L. Deposição de hidroxiapatita na superfície do PEAUPM pelo método biomimético para aplicação como biomaterial. In: I Congresso Internacional de Envelhecimento Humano e I Encontro Brasil/Espanha sobre Envelhecimento Ativo. Campina Grande – PB, 2007.

FOOK, M.V.L.; CASTANHA, E.M.M.; MARCELINO, A.C.B.; TENÓRIO, E.J.R.; DANTAS, T.C.; AZEVEDO, V.V.C. Osseointegração: Deposição da hidroxiapatita pelo método biomimético em implantes de titânio. In: I Congresso Internacional de Envelhecimento Humano e I Encontro Brasil/Espanha sobre Envelhecimento Ativo. Campina Grande – PB, 2007.

FOOK, A.C.B.M.; COSTA, R.C.; APARECIDA, A.H.; FOOK, M.V.L.; GUASTALDI, A. C. Caracterização da superfície do PEAUPM após modificação para aplicação como biomaterial. In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, Campina Grande-PB, 2007.

FOOK, A.C.B.M.; MEDEIROS, K.M.; APARECIDA, A.H.; FOOK, M.V.L.; GUASTALDI, A.C. Modificação da superfície do polietileno de ultra alto peso molecular – PEAUPM, empregado como biomaterial, para deposição biomimética de apatita. In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, Campina Grande-PB, 2007.

superfície do PEUAPM para deposição biomimética de apatita. Revista Eletrônica de Materiais e Processos-REMAP. , v.2, p.33/1 - 41, 2007.

FOOK, A.C.B.M.; AZEVEDO, V.V.C.; BARBOSA, W.P.F.; FIDÉLES, T.B.; FOOK, M.V.L. Materiais Odontológicos: Cimentos de Ionômeros de Vidro. Revista Eletrônica de Materiais e Processos-REMAP. Artigo aceito para publicação, 2007.

Trabalho submetido

FOOK, A.C.B.M.; BEZERRA, D.C.; OLIVEIRA, S.V.; COSTA, R.C.; FIDÉLES, T.B.; APARECIDA, A.H.; FOOK, M.V.L. Desenvolvimento de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio. 5º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Ouro Preto - MG. Junho, 2008.

SUMÁRIO

	Pag.
AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
PUBLICAÇÕES	iv
SUMÁRIO	vi
ÍNDICE DE TABELAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Apresentação e objetivos.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Biomateriais.....	4
2.2. Biocerâmicas.....	8
2.2.1. Fosfatos de Cálcio.....	10
2.2.1.1. Hidroxiapatita e outros fosfatos.....	13
2.3. Tecido Ósseo: Função e Estrutura.....	16
2.4. Regeneração Óssea.....	20
2.5. Engenharia de Tecidos.....	23
2.5.1 Propriedades e composição dos suportes.....	25
2.5.2. Técnicas de fabricação de scaffolds.....	28
3. MÉTODOS EXPERIMENTAIS.....	30
3.1. Processo de obtenção da pasta cerâmica.....	30
3.2. Seleção da esponja polimérica.....	30
3.3. Técnica Réplica da Esponja Polimérica (TREP).....	32
3.4. Otimização.....	33
3.5. Técnicas de Caracterização das biocerâmicas.....	34
3.5.1. Difração de raios X.....	34
3.5.2. Microscopia óptica	35
3.5.3. Microscopia eletrônica de varredura.....	35

3.5.4. Espectroscopia por energia dispersiva de raios X (EDX).....	35
3.5.5. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	36
3.5.6. Porosimetria de mercúrio.....	37
3.5.7. Fluxograma da Metodologia.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1. Fase Investigativa.....	39
4.1.1. Difração de raios X.....	40
4.1.2. Microscopia óptica.....	42
4.1.3. Microscopia eletrônica de varredura e Espectroscopia de energia dispersiva de raios X.....	43
4.2.Fase Exploratória.....	47
4.2.1. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.....	48
4.2.2. Influência da densidade da esponja polimérica.....	49
4.2.2.1. Difração de raios X.....	49
4.2.2.2. Microscopia eletrônica de varredura e Espectrometria de energia dispersiva de raios X.....	50
4.2.2.3. Porosimetria de mercúrio.....	54
5. CONCLUSÃO	56
6. SUGESTÃO PARA PESQUISA FUTURA.....	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 - Propriedades desejadas de biocerâmicas implantáveis.....	9
Tabela 2.2 - Fórmula e razão Ca/P das fases de apatita.....	12
Tabela 2.3 - Elementos substituintes dos sítios da apatita.....	14
Tabela 2.4 - Propriedades mecânicas dos tecidos ósseos.....	18
Tabela 3.1 - Valores de densidade geométrica (g.cm^{-3}) das esponjas selecionadas.....	32
Tabela 3.2 - Frequências de absorção no IV características dos fosfatos de cálcio.....	36
Tabela 4.2 - Valores de porosidade total dos suportes obtidos pela técnica de intrusão de mercúrio.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 - Evolução dos Biomateriais.....	5
Figura 2.2 - Seqüência dos eventos locais ocorridos após a colocação de implantes.....	7
Figura 2.3 – Estrutura cristalina da hidroxiapatita.....	14
Figura 2.4 - Osso cortical e osso trabecular. Arranjo da hidroxiapatita carbonatada e colágeno na formação dos tecidos duros.....	17
Figura 2.5 – Células do tecido ósseo.....	20
Figura 2.6 – Remodelagem óssea: a)Processo de reabsorção óssea; b) Processo de formação óssea.....	21
Figura 2.7 - Técnica da Engenharia de Tecidos.....	23
Figura 2.8 - Etapas da regeneração óssea utilizando scaffolds.....	26
Figura 3.1- Imagem das esponjas de poliuretano selecionadas.....	31
Figura 3.2 - Fluxograma da metodologia do trabalho.....	38
Figura 4.1 - Imagem dos suportes porosos de fosfato de cálcio razão Ca/P = 1,67 tratados termicamente a 1100°C.....	39
Figura 4.2 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 1,0 e tratamento térmico a 700°C	40
Figura 4.3 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 1,67 e tratamento térmico a 700°C	41
Figura 4.4 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 2,00 e tratamento térmico a 700°C	41
Figura 4.5 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 1,67 e tratamento térmico a 1100°C.....	41
Figura 4.6 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 2,00 e tratamento térmico a 1100°C.....	41
Figura 4.7 – Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P=1,0 e tratamento térmico a 700°C.....	42
Figura 4.8 – Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 700°C.....	42

Figura 4.9 - Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P= 2,0 e tratamento térmico a 700 °C.....	42
Figura 4.10 – Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 1100 °C	43
Figura 4.11 – Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 1100 °C.....	43
Figura 4.12 - Suporte poroso com razão Ca/P =1,0 e tratamento térmico a 700 °C: a) MEV 2000X e b) EDX.....	44
Figura 4.13 - Suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 700 °C: a) MEV 2000X e b)EDX.....	45
Figura 4.14 - Suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 700 °C: a) MEV 2000X b) EDX.....	45
Figura 4.15 - Suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 1100 °C: a) MEV 2000X e b)EDX.....	46
Figura 4.16 - Suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 1100 °C: a) MEV 2000X e b)EDX.....	46
Figura 4.17 - Imagem dos suportes porosos de fosfato de cálcio razão Ca/P = 1,67 tratados termicamente: a)700 °C e b) 1100 °C.....	47
Figura 4.18. Espectro vibracional de IV do suporte poroso de HA.....	48
Figura 4.19 – Difractogramas de Raios X dos suportes porosos em comparação com a ficha de referência da $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ do JCPDS.....	49
Figura 4.20 – MEV e EDX dos suportes porosos HAPU-20: a) 500X e b) 2000X.....	50
Figura 4.21 – MEV e EDX dos suportes porosos HAPU-25: a) 500X e b) 2000X.....	51
Figura 4.22 – MEV e EDX dos suportes porosos HAPU-28: a) 500X e b) 2000X.....	51
Figura 4.23 - MEV dos suportes porosos HAPU-20 (5000X).....	53
Figura 4.24 - MEV dos suportes porosos HAPU-25 (5000X).....	53
Figura 4.25 - MEV dos suportes porosos HAPU-28 (5000X).....	53
Figura 4.26 - Curvas da freqüência de distribuição de tamanho de poros em função do volume de mercúrio intrudido.....	54

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Ca/P	relação atômica entre cálcio e fósforo
DBM	matriz óssea desmineralizada
HA	hidroxiapatita
TCP	fosfato tricálcio
β-TCP	fosfato beta tricálcio
α-TCP	fosfato alfa tricálcio
pH	potencial hidrogeniônico
Å	Angstrom
µm	micrometro
%	por cento
nm	nanômetro
MPa	mega Pascal
GPa	giga Pascal
PLA	ácido poliláctico
PGA	ácido poliglicólico
T	temperatura
°C	graus Celsius
min	minuto
mm	milímetro
g	gramas
cm	centímetro
M	molaridade
DRX	difração de raios X
MO	microscopia óptica
MEV	microscopia eletrônica de varredura
EDX	espectroscopia por energia dispersiva de raios X
FTIR	espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

1- INTRODUÇÃO

1.1. Apresentação e objetivos

O aumento da expectativa de vida do homem, como consequência dos avanços da medicina, da maior preocupação com a alimentação e do conforto gerado pela assim denominada “vida moderna”, tem resultado no aumento da população de idosos e, conseqüentemente, das doenças relacionadas à velhice. Além disso, os problemas de estrutura óssea, tais como, trauma, degeneração e doenças das mais diversas, que necessitam frequentemente de reparo ou reposição cirúrgica, também atingem indivíduos jovens em sua fase mais produtiva, em decorrência de acidentes, notadamente os automobilísticos e os de trabalho (KAWACHI et al., 2000; HENESS e BEN-NISSAN, 2004).

Tem sido notável o desenvolvimento dos biomateriais utilizados em cirurgia ortopédica, traumatológica e maxilofacial, particularmente dos substitutos ósseos (GUTIERRES et al., 2006). Estes são definidos como materiais naturais ou sintéticos, que encontram aplicação em um vasto espectro de implantes médicos e dentários e próteses para reparo, aumento ou substituição de tecidos naturais (BONFIELD, 2001).

As terapias usuais empregando material de enxerto retirado de um sítio diferente no paciente (autoenxerto), de outro doador humano (homoenxerto) ou de outra espécie viva ou não-viva (hetero ou xenoenxerto) têm sido restringidas devido à disponibilidade limitada de material, às complicações cirúrgicas e de prejuízo do sítio de colheita, e ao risco de transmissão de doenças (DE OLIVEIRA et al., 2007).

Os materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos facilitaram o salvamento de vidas de muitos pacientes e melhoraram profundamente a qualidade de vidas de outros indivíduos. A diversidade de aplicações destes materiais compreende desde implantes dentários ou de articulações, como o joelho, placas e parafusos ortopédicos, válvulas cardíacas, lentes de contato,

- Determinar a relação Ca/P, a fim de conhecer a estequiometria do material;
- Produzir e caracterizar suportes porosos de hidroxiapatita utilizando esponjas de poliuretano com densidades variadas;
- Avaliar a influência da variação de densidade das esponjas poliméricas na estrutura cristalina, distribuição e tamanho de poros.

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Biomateriais

Quando a estrutura biológica de um órgão ou tecido não pode ser reparada, a alternativa viável para o restabelecimento das funções normais do paciente é repô-la com um implante feito de um biomaterial (BARBANTI et al., 2005). Os biomateriais são definidos como materiais naturais ou sintéticos, que encontram aplicação em um vasto espectro de implantes médicos e dentários e próteses para reparo, aumento ou substituição de tecidos naturais (BONFIELD, 2001).

Em função do tempo de permanência no corpo humano, os implantes podem ser classificados em dois grandes grupos, permanentes ou temporários. Implantes permanentes quase sempre geram fenômenos crônicos de inflamação, sendo uma resposta tipicamente benigna a um corpo estranho, mas que podem conduzir a complicações clínicas mais severas, como a contração dos tecidos. Os implantes temporários por sua vez, ganharam uma importância crescente na área médica desde a década de 1960, sendo utilizados em um amplo número de aplicações no corpo humano, tais como: suturas cirúrgicas, sistemas para liberação controlada de drogas, stents e dispositivos ortopédicos. Atualmente fazem parte do cotidiano dos centros cirúrgicos no mundo inteiro (BARBANTI et al., 2005).

Por séculos, quando tecidos tornavam-se doentes ou danificados, os médicos tinham poucos recursos e, portanto a remoção da parte afetada era a única alternativa, com óbvias limitações. A remoção de juntas, vértebras, dentes ou órgãos conduziam a uma insignificante melhora na qualidade de vida. Contudo, a expectativa de vida humana raramente excedia a diminuição progressiva na qualidade dos tecidos, logo a necessidade de substituir as partes danificadas era pequena. Durante o último século a situação mudou acentuadamente. A descoberta de anti-sépticos, penicilina e outros antibióticos, tratamento químico da água fornecida, melhora na higiene e vacinação

contribuíram para o aumento da expectativa de vida do homem em países desenvolvidos, podendo atualmente alcançar uma faixa de mais de oitenta anos (HENCH, 1998).

As alternativas de transplante e implante criadas para substituição de tecidos revolucionaram a medicina a cerca de 30 anos. As significativas vantagens dos implantes sobre os transplantes são: disponibilidade, reprodutibilidade e confiabilidade. Estas características devem ser garantidas por adequadas práticas de fabricação, normas internacionais, regras governamentais e testes de qualidade que assegurem probabilidade mínima de falhas mecânicas dos implantes. Entretanto, a maioria dos implantes apresenta problemas de estabilidade interfacial com os tecidos hospedeiros, diferença biomecânica do módulo elástico, liberação de partículas e de manutenção de um suprimento de sangue estável. Além disto, os implantes atuais ainda carecem de duas das mais importantes características dos tecidos biológicos: capacidade de auto-reparação e modificação de suas estruturas e propriedades para responder a estímulos externos tais como carga mecânica e fluxo de sangue (HENCH, 1998). As tendências atuais tendem a regeneração de tecidos, o que implica uma revolução no campo dos biomateriais (MORATO et al., 2004). A Figura 2.1 apresenta a evolução dos biomateriais.

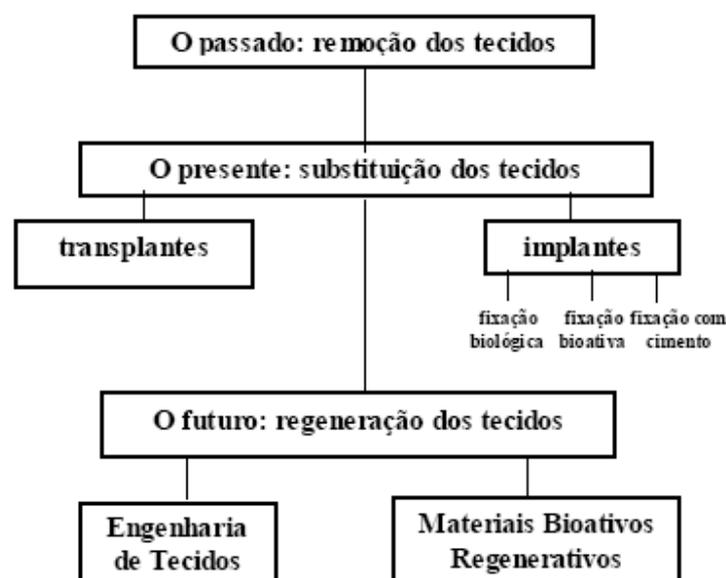


Figura 2.1 - Evolução dos Biomateriais.

Fonte: HENCH, 1998.

Entre as características que um biomaterial deve apresentar salienta-se a necessidade de ter um comportamento mecânico adequado à função que desempenha e ser inerte do ponto de vista químico e biocompatível com o organismo. De uma forma resumida, pode definir-se um biomaterial compatível como aquele que não influencia negativamente o seu ambiente biológico, ou seja, não deverão ser observadas reações tóxicas, alérgicas ou carcinogênicas. As propriedades físicas do material não deverão ser afetadas durante a sua utilização *in vivo* (LACERDA et al., 2006). A resistência à corrosão e degradação está intimamente relacionada com a qualidade e comportamento do implante no hospedeiro, tornando-se necessário um bom conhecimento das suas características e conseqüências do uso em longo prazo, assim como a resposta do hospedeiro ao mesmo, dependendo da avaliação do desempenho desse material destas duas vertentes (CORDAS, 2006).

Assim, estas características, do ponto de vista da aplicação clínica, podem ser representadas pela sua biofuncionalidade e biocompatibilidade (GUTIERRES et al., 2006). Outros fatores também estão envolvidos, tais como, o design, a técnica utilizada na cirurgia e a saúde do paciente. A forma, o tamanho e as propriedades física e química do biomaterial podem determinar variações na intensidade e no tempo do processo de inflamação ou cicatrização (RATNER, 1996).

Uma seqüência de eventos locais ocorre em termos de reposta biológica quando da implantação de um biomaterial. Inicialmente ocorre a formação de um hematoma, com uma resposta de tipo inflamatória com formação de água e glicoproteínas, que revestem e aderem ao implante. Por quimiotactismo, numerosas células são recrutadas para o local, tais como os neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos. Estas últimas, além da sua atividade fagocítica, estimulam a ação dos linfócitos, fibroblastos, osteoclastos e células polimorfonucleares. Seguidamente, inicia-se a angiogênese, com a esu

células mesenquimatosas pluripotenciais com a formação de matriz óssea e de osso imaturo. Este processo encerra com a maturação e remodelação óssea (GUTIERRES et al., 2006). A seqüência resumida dos eventos locais que ocorrem, relativos à reposta do meio biológico quando da realização do implante, estão descritos na Figura 2.2.

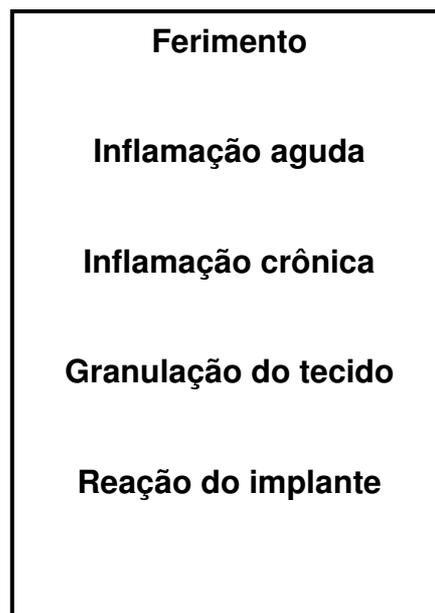


Figura 2.2 - Seqüência de eventos locais ocorridos após a colocação de implante.

Fonte: FOOK, 2005

Vários biomateriais têm sido desenvolvidos para preencher e reconstruir defeitos ósseos: coral natural, osso desmineralizado poroso de origem bovina, matriz óssea desmineralizada de origem humana (DBM), cerâmicas vítreas bioativas e cerâmicas de fosfato de cálcio, tais como, a hidroxiapatita, β -fosfato tricálcio ou fosfato de cálcio bifásico. Todos esses materiais são biocompatíveis e osteocondutivos, guiando o tecido ósseo das extremidades em direção ao centro do defeito (DACULSI, 2004).

Uma série de fatores tem incentivado o desenvolvimento de novos biomateriais com comportamento superior e para novas aplicações. Dentre esses fatores, destaca-se: fraco desempenho dos materiais utilizados atualmente que são projetados para executarem suas funções por um período máximo de 10 anos (com o aumento do tempo de vida médio da população,

torna-se necessário o desenvolvimento de biomateriais com propriedades superiores e capazes de cumprir suas atividades por tempos mais prolongados); necessidade de se reduzir o número de cirurgias de revisão destinadas a substituir implantes danificados; necessidade de se atender a uma crescente demanda interna do produto e de se reduzir o custo dos materiais envolvidos; falta de doadores para transplantes (SILVA JÚNIOR e ORÉFICE, 2001).

A diversidade das aplicações dos biomateriais, assim como, o amplo espectro de sua composição química e a necessidade de formas e morfologias apropriadas para sua utilização, faz da pesquisa nesta área do conhecimento um trabalho de característica eminentemente interdisciplinar, envolvendo fatores que definem o sucesso de suas aplicações, tais como: rotas de síntese, processamento em formas variadas, qualidade e esterilidade clínica e resposta do tecido hospedeiro (KAWACHI et al., 2000).

2.2 - Biocerâmicas

As cerâmicas são materiais formados de elementos metálicos e não-metálicos unidos por ligações iônicas e/ou covalentes. Assim como os metais, as ligações interatômicas nas cerâmicas resultam em estruturas cristalinas tridimensionais com alto fator de empacotamento. Em contraste à ligação metálica, os elétrons em ligações iônicas e covalentes estão localizados entre os íons/átomos. Conseqüentemente, as cerâmicas são tipicamente isolantes elétricos e térmicos. A natureza das ligações também torna as cerâmicas duras e frágeis, devido a uma inibição do deslocamento dos planos decorrente da repulsão entre as cargas (DEE et al., 2002; FOOK, 2005).

O uso das cerâmicas com propriedades específicas para aplicações médicas vem expandindo desde 1970. As aplicações iniciais foram concentradas em superfícies cerâmicas lisas que geravam uma pequena reação com tecidos hospedeiros. Estas, assim chamadas cerâmicas bioinertes desfrutaram do sucesso clínico, particularmente na Europa. Pode-se dizer que,

com o uso de cerâmicas bioinertes, iniciou-se uma revolução na indústria cerâmica (SANTOS, 2002).

Portanto, são denominadas biocerâmicas a classe das cerâmicas usadas para o reparo e reconstrução de partes doentes ou danificadas do sistema esquelético do corpo humano, que é composto de ossos, juntas e dentes (THAMARAISELVI e RAJESWARI, 2004). Elas também são usadas para substituir partes do sistema cardiovascular, especialmente válvulas cardíacas. Outras aplicações clínicas compreendem reparo cranial, implantes otolaringológicos, reconstrução maxilofacial, implantes dentários, ligamentos e tendões artificiais (SANTOS, 2002).

Para que as cerâmicas possam ser consideradas como biocerâmicas devem apresentar ou exceder as propriedades listadas na Tabela 2.1 (BILLOTTE, 2006).

Tabela 2.1 - Propriedades Desejadas de Biocerâmicas Implantáveis.

1. Deve ser não-tóxica.
2. Deve ser não-carcinógena.
3. Deve ser não-alérgica.
4. Deve ser não-inflamatória.
5. Deve ser biocompatível.
6. Deve ser biofuncional durante sua permanência no hospedeiro.

Fonte: BILLOTTE, 2006.

As biocerâmicas podem pertencer a três grandes categorias dependendo da interação que apresentem com o tecido vivo: a) bioinertes, quesissã6(p)5.675

cálcio, titanato de cálcio, porcelana, cerosium ($MgAl_2O_4 + CaAl_2Si_2O_3 + Al_2O_3$) e as várias formas de carbono (pirolítico, vítreo e depositado por vapor). No segundo grupo encontram-se os biovidros e biocerâmicas (materiais compostos basicamente de SiO_2).

inflamações, aparente habilidade em interagir com o tecido hospedeiro e se assemelham à composição do osso (SANTOS, 2005).

Dentre as suas aplicações esses materiais têm sido amplamente utilizados em aplicações que requeiram baixa ou nenhuma sustentação. Em cirurgias ortopédicas, essas cerâmicas têm sido usadas para preenchimento de defeitos ósseos em consequência da remoção de ossos doentes ou defeituosos (MIAO, 2004). Recobrimentos densos ou porosos de cerâmica de fosfato de cálcio são frequentemente aplicados em materiais de boa resistência mecânica para fixação biológica ou osseointegração de implantes de sustentação como hastes de quadril e raízes de dentes artificiais, tais como os substratos metálicos. Cerâmicas porosas de fosfato de cálcio estão também desempenhando um importante papel no tratamento de problemas ósseos com o desenvolvimento da engenharia de tecido, que envolve o cultivo de células apropriadas dentro de cerâmicas porosas (scaffolds) e o implante desses scaffolds dentro do corpo hospedeiro para completar o processo de regeneração do tecido (MIAO, 2004).

Entre esses materiais, a hidroxiapatita (HA), fosfato tricálcio (TCP), HA/TCP e cimentos de fosfato de cálcio têm sido bastante empregados em sistemas de liberação controlada de fármacos ou como arcabouço (scaffold) para tecidos celularizados. Ambas as áreas são novíssimas, com inter e transdisciplinaridades (SOARES, 2005; MIAO, 2004). Cerca de 60% em peso do osso é composto de HA - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e portanto é evidente o porque da HA e dos fosfatos de cálcio relacionados (α -TCP e β -TCP) estarem em intensa investigação como os maiores componentes dos scaffolds para a engenharia de tecido ósseo (REZWAN et al, 2006) .

De forma geral, as biocerâmicas de fosfato de cálcio têm sido estudadas segundo os seguintes aspectos: comportamento em estudos *in vivo* e comportamento da interface fosfato de cálcio/soluções iônicas. Estes estudos têm por objetivo investigar o comportamento destes materiais quando em contato com os fluidos presentes no organismo humano e, finalmente aspectos relacionados às variações da estrutura cristalina e da composição destes

materiais, representados principalmente pela razão Ca/P, cristalinidade e presença de outros íons além dos íons cálcio e fosfato (BERTAZZO, 2004).

Os fosfatos de cálcio para aplicação biológica podem ser definidos a partir da relação atômica entre os átomos de cálcio e fósforo - Ca/P. Esta relação varia de 0,5 a 2,0 e formam diferentes fases conforme Tabela 2.2.

Tabela 2. 2 - Fórmula e razão Ca/P das fases de apatita.

Ca/ P	Nome	Fórmula
2,0	Fosfato Tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$
1,67	Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
1,5	Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
1,5	Fosfato Tricálcico (α , α' , β , γ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1,33	Fosfato Octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
1,0	Fosfato Dicálcio Dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
1,0	Fosfato Dicálcio (DCP)	CaHPO_4
1,0	Pirofosfato de Cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$
1,0	Pirofosfato de Cálcio Dihidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
0,7	Fosfato Heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$
0,67	Dihidrogênio Fosfato Tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$
0,5	Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
0,5	Metafosfato de Cálcio (α , β , γ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$

Fonte: AOKI, 1991.

De forma genérica, as biocerâmicas de fosfato de cálcio degradam, com uma velocidade dada pela seguinte ordem: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. A reabsorção do material que representa esta degradação é causada pela dissolução, que depende do produto de solubilidade do material e do pH local no meio fisiológico, pela desintegração física em partículas menores e, ainda, por fatores biológicos, como a fagocitose, a presença de leucócitos e de mediadores químicos que causam a redução do pH local (KAWACHI et al., 2000). Para $\text{Ca/P} < 1$, a acidez e a solubilidade são extremamente altas, e ambos os parâmetros decrescem substancialmente para relações Ca/P próximas de 1,67, que é o valor da hidroxiapatita estequiométrica, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-

CALBET, 2004). A velocidade de reabsorção pode aumentar com o aumento da área superficial ($A_{\text{pó}} > A_{\text{sólido poroso}} > A_{\text{sólido denso}}$), com o decréscimo da cristalinidade e no caso da hidroxiapatita, pela substituição de CO_3^{2-} nos sítios de fosfato e hidroxila e por Mg^{2+} , Sr^{2+} nos sítios de cálcio (KAWACHI et al., 2000).

Estas cerâmicas podem ser produzidas por uma série complexa e demorada de reações de síntese utilizando, principalmente, hidróxido ou carbonato de cálcio e ácido fosfórico. Ao final dessas reações de síntese, obtêm-se as cerâmicas na forma de um pó, isto é, constituídas por um aglomerado de partículas em simples justaposição, mantidas juntas por ligações muito fracas, resultando baixas propriedades mecânicas (ROSA et al., 2000). A síntese do fosfato de cálcio tem sido realizada por diferentes métodos, tais como: precipitação em soluções aquosas, reações no estado sólido, métodos hidrotérmicos, processo sol-gel, e mais recentemente, micro emulsão (FINISIE et al., 2001).

2.2.1.1. Hidroxiapatita e outros fosfatos

A parte mineral dos ossos e dentes é constituída de uma forma cristalina de fosfato de cálcio similar a hidroxiapatita cuja estrutura química é representada pela fórmula $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ (VITAL et al., 2006; BILLOTTE, 2000). A principal diferença entre a hidroxiapatita sinterizada e o mineral osso é a sua alta cristalinidade e a ausência de carbonato. Isto resulta em uma taxa de biodegradação menor em comparação com o mineral ósseo nanocristalino (TADIC, 2003). A Figura 2.3 apresenta a rede cristalina da hidroxiapatita.

Dentre as cerâmicas de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita é a mais difundida (VITAL et al., 2006). Essa cerâmica é termodinamicamente estável em pH fisiológico e participa ativamente das ligações ósseas, formando forte ligação química com o tecido ósseo (VAZ et al., 2006; ROSSI et al., 2006).

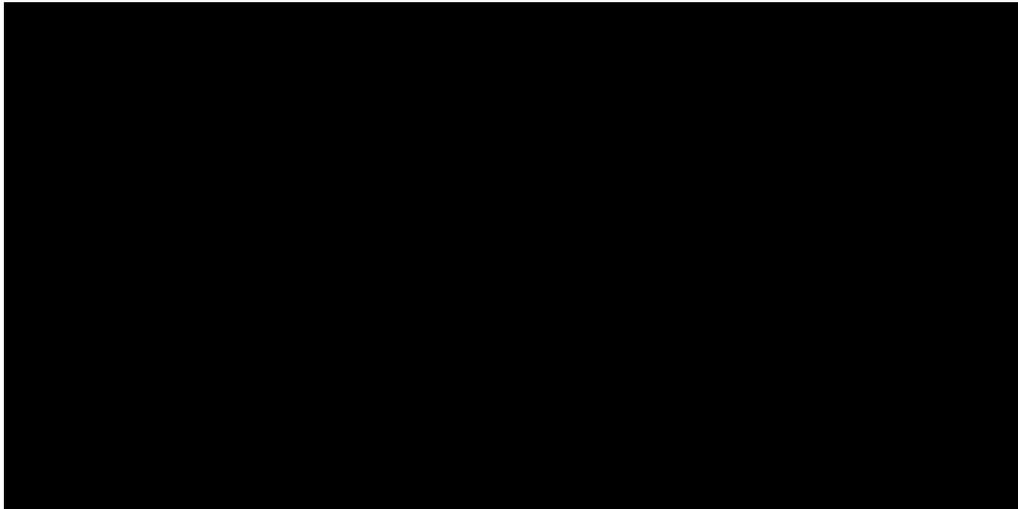


Figura 2.3 - Estrutura cristalina da hidroxiapatita.

Fonte: VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004.

A família apatita desse mineral, cuja fórmula geral é $[A_{10}(BO_4)_6X_2]$, cristaliza dentro de prismas hexagonais rômnicos com dimensões da célula unitária $a = 9.432 \text{ \AA}$ e $c = 6.881 \text{ \AA}$. Diversos elementos podem ocupar os sítios A, B e X como mostra a Tabela 2.3 (AOKI, 1991).

Tabela 2.3 - Grupos substituintes dos sítios da apatita.

Sítios	Elementos substituintes
A	Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, etc
B	P, V, As, S, Si, Ge, CO_3^{2-} , etc
X	F, Cl, OH, O, Br, CO_3^{2-} , etc

Fonte: AOKI, 1991

Essa similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos tornou a hidroxiapatita um dos materiais mais biocompatíveis conhecidos, favorecendo o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondutor), estabelecendo ligações entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo (bioativo),

permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo que as células não distinguem entre a hidroxiapatita e a superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial (VOLKMER et al., 2006). A superfície da hidroxiapatita permite a interação de ligações do tipo dipolo, fazendo com que moléculas de água e também, proteínas e colágeno sejam adsorvidos na superfície induzindo assim, a regeneração tecidual (SALEH et al., 2004).

Além da hidroxiapatita, outros materiais são usados em aplicações médicas, como é o caso da cerâmica alumina e da zircônia. Estes últimos materiais são estáveis a altas temperaturas, tendo propriedades mecânicas superiores aos dos fosfatos de cálcio, tais como, resistência à corrosão, baixo coeficiente de fricção, grande resistência ao desgaste, dureza e resistência a propagação de fraturas. Entretanto, não possuem a mesma eficiência na integração com o tecido ósseo que os fosfatos cerâmicos (ROSSI et al., 2006).

Vidros bioativos, que possuem em sua composição fosfatos e óxidos de silício, cálcio, sódio, entre outros elementos, constituem também biomateriais com grande atividade biológica e compatibilidade com o tecido ósseo. Recentemente, tem-se procurado estimular a bioatividade e a biocompatibilidade dos fosfatos de cálcio, combinando-os com vidros bioativos e com substâncias orgânicas como o colágeno e as proteínas. Esses procedimentos de bioengenharia visam utilizar esses sistemas combinados para acelerar a regeneração dos tecidos duros (ROSSI et al., 2006).

Recentemente, há um crescente interesse no desenvolvimento de cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico HA/ β -TCP como materiais para scaffolds visto que são mais eficazes na regeneração ou reparo ósseo do que a forma pura da HA ou do β -TCP, e possuem uma taxa de degradação controlada em determinadas condições (RAMAY e ZANG, 2004).

O fosfato tricálcio (TCP) é um fosfato de cálcio baseado em material sintético que forma uma ligação bioativa com o osso natural. Comparado com a hidroxiapatita, o TCP tem uma menor razão cálcio-fósforo, que aumenta a taxa de degradação quando a cerâmica é colocada em um ambiente biológico. O TCP degrada quando no corpo e os produtos são reabsorvidos pelo tecido

vizinho. A absorção da matriz pode expor superfícies ao tecido ou liberar materiais combinados, tais como, antibióticos ou fatores de crescimento em liberação controlada de drogas. A razão mais comum para o uso dessa classe de matrizes, no entanto, tem sido alterar as propriedades mecânicas em função do tempo e a dissolução completa, eliminando o interesse na biocompatibilidade em longo prazo (SEELEY et al, 2007).

2.3 - Tecido ósseo: Função e Estrutura

O tecido ósseo é o constituinte principal do esqueleto, serve de suporte para as partes moles e protege os órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano. Aloja e protege a medula óssea, formadora das células do sangue (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). Determina a direção e a extensão dos movimentos do corpo. O osso atua como um ponto de ancoragem para a maior parte dos músculos esqueléticos e ligamentos. Quando os músculos contraem, os ossos longos agem como alavancas, e as juntas funcionam como eixos, originando o movimento do corpo (PARK et al., 2006). Atua como uma parte importante na homeostase de cálcio, visto que 99% deste mineral encontrado em todo organismo, está presente no tecido ósseo, o qual atua como um verdadeiro reservatório de cálcio (KAPANEN, 2002; MORAES JÚNIOR, 2002).

O osso humano é um material compósito constituído de fase orgânica e inorgânica. A fase mineral compreende 60-70% do peso do tecido ósseo de um fosfato de cálcio apatítico, denominado hidroxiapatita carbonatada (SINHA et al., 2001). A fase orgânica é composta de matéria orgânica e água. A maior parte dessa matéria orgânica é colágeno. Suas moléculas são ligadas formando cadeias lineares que estão em rotação organizadas em forma de fibras, originando estruturas macroscópicas variadas (Figura 2.4). Entre as moléculas do colágeno há pequenos compartimentos vazios intersticiais, espaçados regularmente, onde os nanocristais apatíticos são depositados, em um processo de biomineralização controlado envolvendo mais de 200 proteínas

ácidas diferentes. Essas proteínas agem como inibidores, nucleadores ou suportes para o crescimento epitaxial de nanocristais ancorados no colágeno (VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004). O tamanho dos cristais ósseos reportado na literatura apresenta valores variando de 30-50nm de comprimento, 15-30nm de largura e 2-10nm de espessura (OLSZTA et al, 2007).

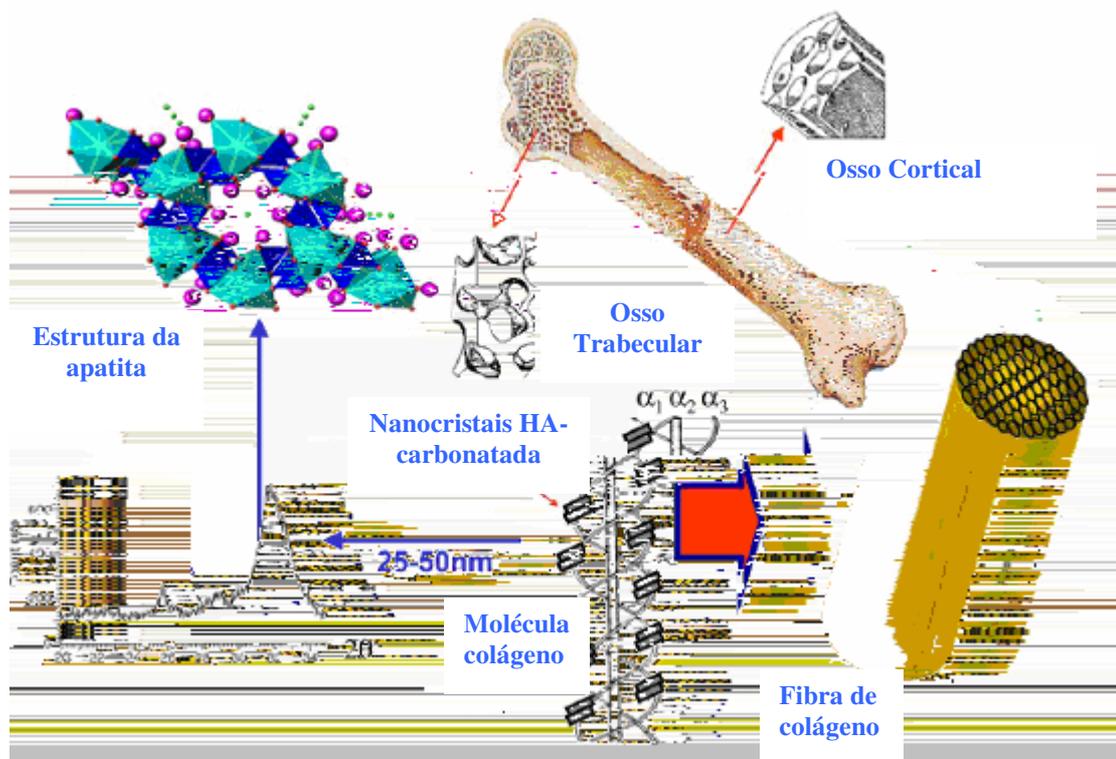


Figura 2.4 - Osso cortical e osso trabecular. Arranjo da hidroxiapatita carbonatada e colágeno na formação dos tecidos duros. Fonte: VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004.

Os ossos são caracterizados por sua composição, estrutura cristalina, morfologia, tamanho de partícula e orientação (VALLET - REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004). A composição do tecido ósseo varia com a espécie, a idade, o tipo estrutural e se este foi ou não acometido por alguma doença (TAKAMORI, 2004).

Do ponto de vista histológico, o osso é um tecido conjuntivo mineralizado muito vascularizado e innervado, que está estruturado em lâminas de matriz osteóide calcificada. A disposição destas lâminas é que determina se o osso é cortical ou esponjoso. O osso cortical ou compacto se estrutura em condutos de Havers recobertos por lâminas em disposição concêntrica onde estão situados os osteócitos e é caracterizado por pouca atividade metabólica e poucas células. O osso esponjoso ou trabecular é constituído por lâminas ósseas em forma de rede que delimita cavidades areolares em cujo interior se encontra a medula óssea, tendo a função de receber cargas e responder rapidamente às necessidades fisiológicas (FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ -GIL et al., 2006; MORAES JÚNIOR, 2002).

A Tabela 2.4 apresenta as propriedades mecânicas dos tecidos ósseos.

Tabela 2.4 - Propriedades Mecânicas dos Tecidos Ósseos.

Tecidos Ósseos	Resistência à Compressão (MPa)	Resistência à Tração (MPa)	Módulo de Elasticidade (GPa)
Tíbia	159	140	18,1
Fêmur	167	121	17,2
Rádio	114	149	18,6
Húmero	132	130	17,2
Cervical	10	3,1	0,23
Lombar	5	3,7	0,16

Fonte: KATTI, 2004

As propriedades mecânicas do osso resultam da combinação da dureza da fase inorgânica e da resistência da fase orgânica. Esta superposição de materiais heterogêneos com propriedades inteiramente diferentes resulta na formação de um nanocompósito, no qual as propriedades físicas superam as dos componentes individuais. O osso pode remodelar-se e adaptar-se ao esforço mecânico aplicado, isto é, a aplicação de uma tensão mais elevada resulta em um osso mais denso (KATTI, 2004).

Além dos componentes orgânico e inorgânico, o tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo formado por células e material extracelular calcificado, a matriz óssea. As células são os osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, conforme Figura 2.5 (JUNQUEIRA e CARREIRO, 2004). As células ósseas se localizam dentro do próprio tecido ósseo ou no estroma conjuntivo da medula óssea, rico em células mesenquimais pluripotenciais indiferenciadas (FERNÁNDEZ -TRESGUERRES-HERNÁNDEZ -GIL et al., 2006).

- Osteoblastos

Os osteoblastos são células ósseas responsáveis pela produção do tecido ósseo, uma vez que são capazes de produzir a matriz óssea ou osteóide, além de concentrar fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz. São células grandes (20 -30 μm), de forma poliédrica, com citoplasma basófilo e com um aparato de Golgi e um retículo endoplásmico rugoso de tamanho considerável (JUNQUEIRA e CARREIRO, 2004; TORO, 2005; FERNÁNDEZ -TRESGUERRES-HERNÁNDEZ -GIL et al., 2006).

- Osteócitos

Os osteócitos são as células ósseas definitivas, representando a população de células viventes estáveis com tarefa de manter o osso como um tecido vivo. São as células mais abundantes do osso (10 vezes mais que os osteoblastos). Possuem forma estrelada e seu corpo se localiza no interior de lacunas ou osteoplasmas (TORO, 2005; FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ -GIL et al., 2006).

- Osteoclastos

Os osteoclastos são as células ósseas responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo. Trata-se de células grandes (100 μm), móveis, multinucleadas, ricas em mitocôndrias e vacúolos (TORO, 2005; FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ -GIL et al., 2006).

As células ósseas citadas acima estão representadas na Figura 2.5.

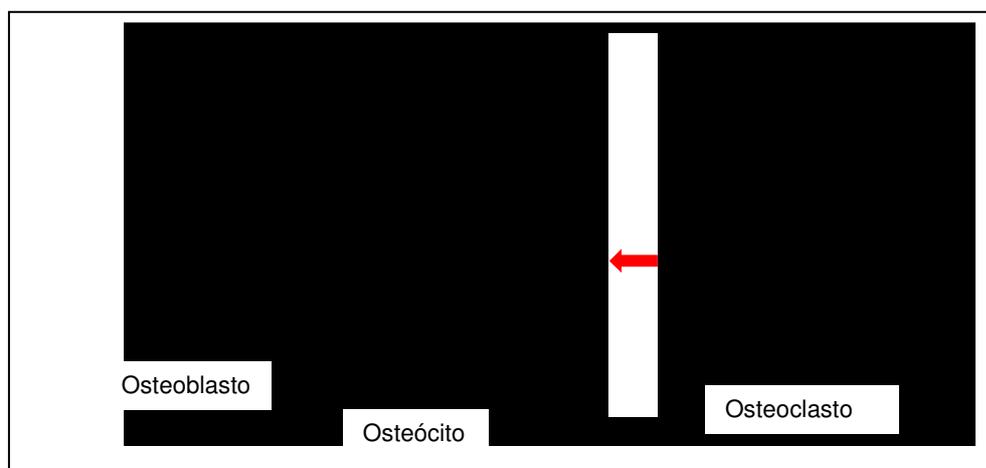
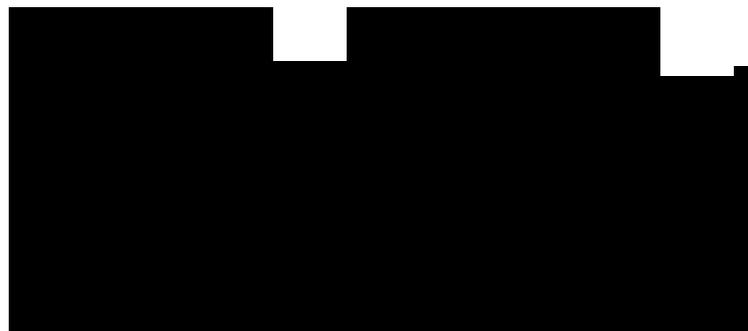


Figura 2.5 - Células do tecido ósseo.

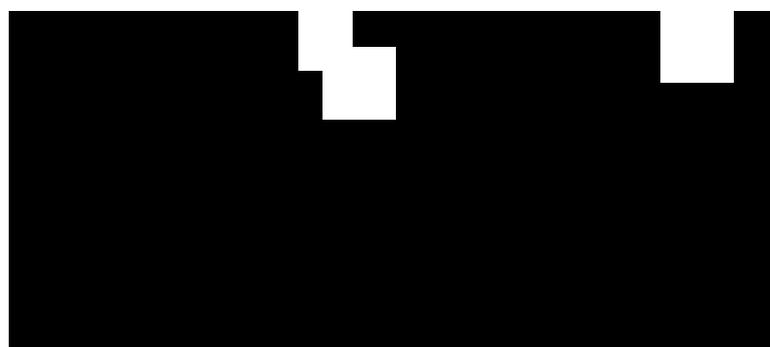
2.4 - Regeneração óssea

A perda de um tecido ou parte dele leva o organismo a tentar substituí-lo da melhor maneira e, se possível, com um tecido semelhante ao original, isto é, respeitando o máximo da anatomia e recuperando ao mesmo tempo o máximo da funcionalidade do osso. O osso é um tecido dinâmico em constante formação e reabsorção. Este fenômeno equilibrado, denominado processo de remodelagem, permite a renovação de 5-15% do osso total ao ano em condições normais apresentando, portanto, grande potencial de regeneração; entretanto, em casos de perda extensa devido a traumas, tumores, infecções, etc., isso não acontece (OLIVEIRA et al., 2003; TORO, 2005).

A atividade das células de degradação ou reabsorção – os osteoclastos – e de formação – os osteoblastos – está constantemente renovando tecido ósseo velho ou danificado. Os sinais gerados pela necessidade de cálcio e a necessidade de substituição de tecido ósseo velho, recrutam os precursores dos osteoclastos. Durante o período de aproximadamente um mês, os osteoclastos escavam um ponto de reabsorção criando um ambiente ácido para desmineralizar o osso e liberando enzimas que degradam a matriz orgânica (Figura 2.6-a). Os osteoblastos chegam na seqüência, produzindo as proteínas da matriz óssea e facilitando a calcificação do osso. Os osteoblastos levam aproximadamente três meses para preencher a cavidade criada pelos osteoclastos (Figura 2.6-b). O processo metabólico completo, ilustrado na Figura 2.6, é chamado de “turnover” ou “remodelagem” óssea (FISHER, 2007).



a)



b)

Figura 2.6 - Remodelagem óssea: a) Processo de reabsorção óssea;
b) Processo de formação óssea.

Em adultos jovens e saudáveis, a quantidade de osso formado está em equilíbrio com a de osso reabsorvido. Com a idade, entretanto, esse balanço muda a favor da reabsorção óssea, podendo levar a doenças como a osteoporose, caracterizada pela redução da massa bem como pela deterioração da arquitetura do tecido ósseo (TAKAMORI, 2004).

O material ósseo-substituto ideal deve aliar biocompatibilidade, previsibilidade, aplicação clínica, ausência de riscos transoperatórios e seqüelas pós-operatórias mínimas. Apesar de ainda não existir um material que preencha todos esses requisitos, uma grande variedade de opções de materiais para enxertos ósseos foi desenvolvida, associada aos avanços nos conhecimentos científicos e tecnológicos nessa área (OLIVEIRA et al., 2003).

Para que haja regeneração óssea são requeridos 4 componentes: um sinal morfogenético, células hospedeiras que respondam ao sinal, um carreador apropriado deste sinal que o possa entregar aos locais específicos e sirva assim como um suporte para o crescimento das células responsivas do hospedeiro e um leito viável e bem vascularizado (SAKATA et al., 2004).

Os mecanismos fisiológicos envolvidos no processo de formação de tecido ósseo podem ocorrer de maneiras distintas, a osteogênese, a osteocondução e a osteoindução.

Os materiais osteogênicos referem-se a materiais orgânicos capazes de estimular a formação de osso diretamente a partir de osteoblastos. Os materiais osteocondutores (geralmente inorgânicos) permitem a aposição de um novo tecido ósseo na sua superfície, requerendo a presença de tecido ósseo pré-existente como fonte de células osteoprogenitoras. Os osteoindutores são aqueles capazes de induzir a diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos ou condroblastos, aumentando a formação óssea no local ou mesmo estimulando a formação de osso em um sítio heterotópico (SICCA et al., 2000).

As técnicas utilizadas para regeneração óssea incluem tanto a utilização de enxertos de origem animal ou humano, como de materiais sintéticos (polímeros e cerâmicas principalmente) na forma de cimentos, grânulos ou estruturas tridimensionais para engenharia de tecidos (TORO, 2005).

2.5. Engenharia de Tecidos

A técnica, conhecida como *Engenharia de Tecidos*, área científica em contínua expansão, consiste na regeneração de órgãos e tecidos vivos, através do recrutamento de tecido do próprio paciente, que são dissociados em células e estas cultivadas sobre suportes biológicos ou sintéticos, conhecidos como *scaffolds* (suportes, matrizes tridimensionais, arcabouços, estruturas, etc.), para então serem reinseridos no paciente (BARBANTI et al, 2005).

De uma forma geral, a preparação dos produtos da engenharia de tecidos segue as seguintes etapas (Figura 2.7):

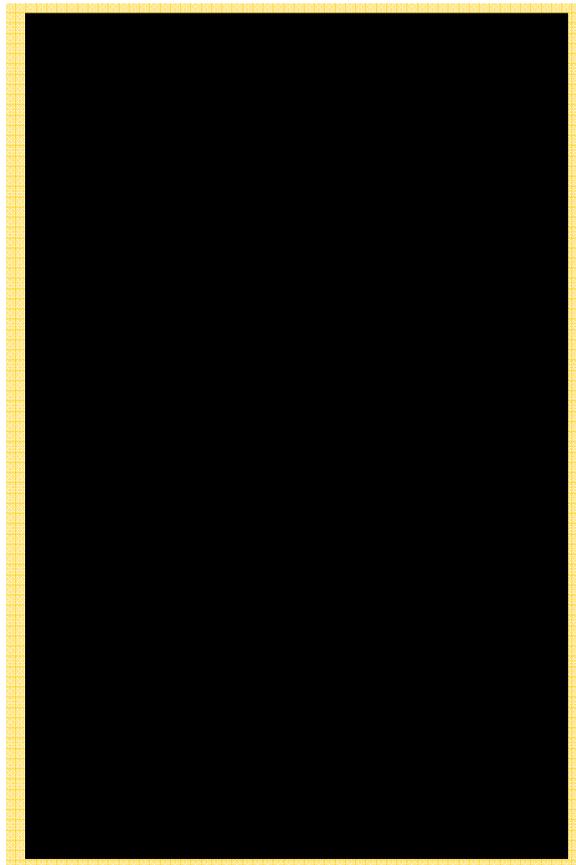


Figura 2.7 - Técnica da Engenharia de Tecidos.

Fonte: BARBANTI et al, 2005.

- (I) Seleção e processamento do suporte
- (II) Inoculação da população celular sobre o suporte
- (III) Crescimento do tecido prematuro
- (IV) Crescimento do tecido maturado em sistema fisiológico (bioreator)
- (V) Re-Implante cirúrgico
- (VI) Assimilação do produto.

A estratégia de reparo e substituição de partes danificadas do corpo humano utilizada pela engenharia de tecido é claramente diferente dos implantes biomédicos tradicionais em uso, onde, a fim de efetuar uma substituição óssea, a utilização de tecido doador é a tendência predominante, seja alógeno ou autógeno (VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004).

A enxertia óssea é um dos assuntos mais pesquisados na ortopedia e traumatologia, pois sempre se buscou explorar novas possibilidades de enxerto que superem limitações ou satisfaçam condições específicas de seu emprego (CALAPODOPULOS e VOLPON, 1994).

O enxerto autógeno é a técnica utilizada normalmente e com melhores resultados do ponto de vista da osteogênese. Nesse tipo de tratamento, obtém-se tecido ósseo do próprio paciente, tendo como área doadora, freqüentemente, a região da crista ilíaca e, em alguns casos de cirurgias orais, as regiões do túber da maxila, retromolar e mentoniana. Apresenta a grande vantagem de não transmitir doenças infectocontagiosas além da possibilidade de se levar células osteoprogenitoras, juntamente com fragmentos ósseo que atuam como condutores das células de reparo para o tecido lesado. Entretanto, algumas vezes apresenta limitações de uso, como, por exemplo, quantidade insuficiente e qualidade de tecido a ser removida, a necessidade de um segundo sítio cirúrgico, o pós-operatório desagradável, a morbidade, o custo da internação e a possibilidade da ocorrência de seqüelas (CALAPODOPULOS e VOLPON, 1994; OREFFO e TRIFFIT, 1999). A utilização de enxertos

autógenos exige, ainda, a existência de um banco de ossos, cuja manutenção demanda um grande custo (WINN et al., 2000).

Como alternativa ao enxerto com osso autógeno, têm-se utilizado os enxertos alógenos e os xenógenos. Os enxertos alógenos são obtidos de doadores da mesma espécie, enquanto que os xenógenos são transplantados entre animais de espécies diferentes. Os autógenos são histocompatíveis e não induzem à rejeição, diferente do observado com os alógenos e xenógenos. Esses últimos, para serem utilizados, devem ter a antigenicidade diminuída por irradiação, congelamento, preservação química ou autoclavagem, entre outros tratamentos (JOHNSON, 1995).

O elevado número de pessoas em todo o mundo que é afetado por estes problemas, bem como, os conseqüentes custos sócio-econômicos, são razões acrescidas para a necessidade de desenvolvimento de terapias alternativas para tratar a perda ou mau funcionamento ósseo.

2.5.1 - Propriedades e composição dos scaffolds

Um scaffold ideal deve possuir as seguintes características para provocar a resposta biológica adequada: (i) ser tridimensional e altamente poroso com uma rede de poros interconectados para crescimento celular/tecidual e transporte de nutrientes e resíduos metabólicos, (ii) ser biodegradável ou bioabsorvível com uma controlada taxa de degradação e reabsorção, que pode ser determinada com base na taxa de formação do novo tecido e o período normal para remodelagem do tecido no local do implante, (iii) possuir uma composição química adequada para a adesão, proliferação e diferenciação celular, (iv) possuir propriedades mecânicas semelhantes aos tecidos locais onde será realizado o implante, uma vez que proporcionam um suporte temporário a aplicação de cargas in vivo durante o processo de regeneração e (v) ser processado facilmente com variedades de formas e tamanhos (BUCKLEY e O'KELLY, 2004; SPECTOR, 2006).

A porosidade aumenta a área superficial disponível para a justaposição osso-implante e a osseointegração, conseqüentemente, o período de ligação interfacial entre o implante e o osso é reduzido (VERCIK et al., 2003; CAMPOS et al., 2005).

A Figura 2.8 apresenta de forma geral as etapas principais da regeneração óssea utilizando scaffolds com micro e macroporosidades. A etapa inicial consiste na colocação do scaffold poroso no local a ser reparado (1). Em seguida, ocorre a penetração de vasos sanguíneos através das porosidades e migração dos osteoblastos (células-mãe do tecido ósseo). Após o reconhecimento da estrutura propícia para o desenvolvimento dos osteoblastos, o organismo imediatamente começa a reproduzir e reconstituir a ossatura naquele ponto (2). No decorrer do processo de neo-formação óssea essa estrutura vai se transformando em novo tecido ósseo até a sua regeneração completa (3) (OSTEOHEALTH, 2006).

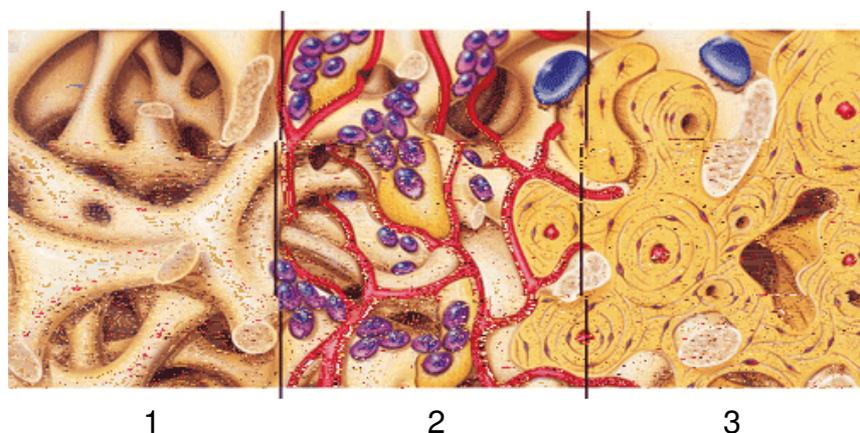


Figura 2.8 - Etapas da regeneração óssea utilizando scaffolds.

Fonte: OSTEOHEALTH, 2006

Segundo Karageorgiou e Kaplan (2005), o tamanho mínimo necessário para o crescimento de células ósseas é de 100 - 200 μm . Poros menores entre 75 - 100 μm resultam no crescimento de tecido osteóide não mineralizado. Poros menores ainda, entre 10 - 75 μm , permitem a penetração apenas de tecido fibroso, o que ajuda na fixação mecânica da peça.

Klawiter et al. em 1971 e Whang et al. em 1999, demonstraram através de experimentos o efeito do tamanho do poro na regeneração de tecidos. Poros de 5 μm permitem a neovascularização, entre 5-15 μm para crescimento de fibroblastos, 40-100 μm para crescimento da matriz osteóide e 100-350 μm para regeneração óssea.

Os três principais tipos de materiais estudados para o uso no desenvolvimento de scaffolds incluem: (i) Polímeros naturais, tais como colágeno, glicosaminoglicano, amido, quitina e quitosana, (ii) Polímeros sintéticos, a base de ácido polilático (PLA), ácido poliglicólico (PGA) e seus copolímeros (PLGA), e (iii) Cerâmicas, tais como hidroxiapatita (HA) e β -fosfato tricálcio (β - TCP) (BUCKLEY e O'KELLY, 2004).

Os polímeros naturais oferecem grande potencial em termos de biocompatibilidade, porém podem existir grandes variações em seus grupos como também um inadequado desempenho mecânico. Algumas famílias de polímeros sintéticos liberam produtos acidíferos como também sofrem degradação via hidrólise quando expostos em ambientes aquosos. Apesar dos produtos dessa degradação estarem presentes naturalmente no corpo humano e serem removidos via metabolismo natural, o pH local do micro ambiente pode ser reduzido abaixo do pH fisiológico natural e deste modo induzir uma resposta imunológica. O efeito desse ambiente acidífero pode causar necrose celular tanto quanto pode agir como um autocatalisador promovendo aceleração da degradação do polímero (BUCKLEY e O'KELLY, 2004).

As cerâmicas também têm sido intensamente usadas, devido a sua alta biocompatibilidade e semelhança com o componente inorgânico natural dos ossos e dentes. As cerâmicas são inerentemente frágeis e essa propriedade limita sua aplicabilidade nos estudos em engenharia de tecido/mecanobiologia para aplicações que suportem carga, uma vez que as cerâmicas são mais resistentes à compressão do que a tração (BUCKLEY e O'KELLY, 2004).

Peréz et al (2005) realizaram um estudo experimental da resposta óssea dos implantes de espuma de hidroxiapatita (HA-09) de elevada porosidade (72-90%) e poros esféricos de 50 μm de tamanho, obtida pelo método gel-casting, em coelhos. Durante o experimento foi observado crescimento ósseo no

interior dos poros e em torno dos implantes. O material provocou uma reação inflamatória precoce e pouco relevante. Durante o tempo de implantação foi observada uma reabsorção parcial do material. Portanto, a espuma de hidroxiapatita (HA-09) pode ser considerada como um novo material biocompatível, bioreabsorvível e osteocondutor, e, portanto possível substituto ósseo.

2.5.2 - Técnicas de fabricação de scaffolds

Diversas técnicas são utilizadas na produção de scaffolds, dentre elas o método de incorporação de partículas orgânicas voláteis no pó de HA, gel-casting de espumas e a técnica de replicação de esponjas poliméricas. Em todas as técnicas, o produto a verde passa por um processo de calcinação para volatilização dos aditivos orgânicos (SANTOS et al., 2006). O método de incorporação de partículas orgânicas com pó cerâmico resulta em uma estrutura porosa fechada, interconectividade pobre e poros não-uniformes. O gel-casting de espumas é uma técnica comum para fabricação de scaffolds cerâmicos com alta resistência mecânica, mas usualmente resulta em uma estrutura com interconectividade de poros pobre e uma distribuição de tamanho de poros não-uniformes. O método da esponja polimérica produz scaffolds cerâmicos porosos de célula aberta, tamanho de poro controlável, poros interconectados e geometria desejada, porém apresenta baixa resistência mecânica para aplicações em regiões que requerem sustentação (RAMAY e ZHANG, 2003).

Recentemente, o processo freeze drying (ou freeze casting) tem atraído uma grande parte da atenção como um bom candidato como método preferencial visto que este pode produzir estruturas de poros bem definidas em uma escala precisa. Nesse método, canais de poros interconectados tridimensionalmente são produzidos pela remoção do meio congelado via sublimação. Até o presente, água e camfeno têm sido adotados como os materiais veiculares. Desses dois materiais o camfeno pode ser congelado e

facilmente sublimado próximo da temperatura ambiente, oferecendo maior flexibilidade no processo (LEE et al. 2006).

Alguns dos métodos acima mencionados têm sido combinados para produzir hidroxiapatita porosa com melhores propriedades. Ramay e Zhang prepararam scaffolds porosos de hidroxiapatita através da combinação da técnica gel-casting com o método da esponja polimérica. Essa nova técnica resultou em hidroxiapatita porosa com melhor resistência mecânica e estrutura de poro controlável. Os scaffolds preparados apresentaram uma microestrutura homogênea, e uma estrutura porosa aberta, uniforme e interconectada com um tamanho de poro de 200- 400 μ m (RAMAY e ZHANG, 2003).

Em geral os processos de fabricação de cerâmicas porosas proporcionam compactos com baixa resistência a verde, microestruturas com grande quantidade de trincas ou ainda poros com geometrias complexas que proporcionam regiões de concentração de tensão. Tais características diminuem a resistência mecânica do produto final impondo sérias restrições à sua utilização em aplicações estruturais (CARLOS et al, 2006).

3 – MÉTODOS EXPERIMENTAIS

3.1 - Processo de Obtenção da Pasta Cerâmica

Para a obtenção de uma pasta cerâmica foi utilizado o processo de reação de neutralização utilizando como reagentes o hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ e ácido fosfórico (H_3PO_4)

Em comparação com outros métodos sugeridos na literatura, este método foi escolhido em virtude da simplicidade da reação, do baixo custo dos reagentes, da facilidade de sua compra e do grau de pureza adequado. Além disto, o subproduto da reação é a água, não causando maiores problemas quanto à utilização do produto da reação como biomateriais.

3.2 - Seleção da esponja polimérica

A fim de obter estruturas porosas de fosfato de cálcio com macroporosidades de célula aberta baseado na réplica de um substrato poroso, foram adotadas como substratos esponjas poliméricas de poliuretano com densidades variadas e cortadas em formato retangular com dimensões de 30 x 20 x 20 mm³. As esponjas de poliuretano foram adquiridas no comércio local e apresentaram uma eficiente habilidade de preenchimento. Durante o processo de sinterização a esponja de poliuretano foi completamente eliminada em uma temperatura de aproximadamente 550°C (RAMAY E ZANG, 2003).

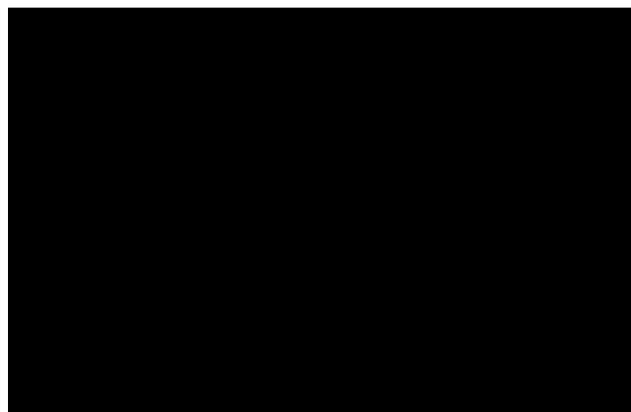


Figura 3.1 - Imagem das esponjas de poliuretano selecionadas.

Na determinação da densidade das esponjas utilizou-se o cálculo da densidade geométrica. A densidade geométrica (ρ) foi medida através da equação (A).

$$\rho \text{ (g/cm}^{-3}\text{)} = m/V, \quad (\text{A})$$

onde m é a massa do corpo e V o volume externo (MOREIRA et al., 2002)

As densidades das espumas utilizadas estão apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Valores de densidade geométrica (g.cm^{-3}) das esponjas selecionadas.

Esponjas	Densidade Geométrica (g.cm^{-3})
PU-20	$0,0196 \pm 7,69 \times 10^{-4}$
PU-25	$0,0255 \pm 9,98 \times 10^{-4}$
PU-28	$0,0288 \pm 1,32 \times 10^{-3}$

3.3 - Técnica Réplica da Esponja Polimérica - TREP

Para a fabricação de blocos porosos foi utilizada a técnica da réplica da esponja polimérica, desenvolvida e realizada no Laboratório de Engenharia de Materiais do UAEMa/ CCT/UFMG.

Esse método consiste em inicialmente selecionar uma esponja polimérica de acordo com a densidade e distribuição dos poros, uma vez que esses fatores apresentam relação direta com a estrutura final dos blocos porosos.

Essas esponjas foram impregnadas com a pasta cerâmica submergindo as esponjas na pasta cerâmica ($T = 30^\circ\text{C}$ e $\text{pH} = 10,35$) e em seguida comprimindo-as manualmente em duas placas de vidro para eliminar o ar e promover a adsorção. Em seguida foi removido o excesso da pasta nas esponjas por meio de compressão.

A secagem dos corpos de prova foi realizada em estufa a 110°C por 24 horas, seguida pelo processo de sinterização a 700°C e 1100°C a uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. As diferentes temperaturas de sinterização

empregadas visam avaliar a influência da temperatura na densificação dos blocos porosos e a escolha dessas temperaturas se baseia nas transformações térmicas sofridas pelos fosfatos de cálcio estudados.

3.4. Otimização

A partir da avaliação das condições experimentais utilizadas na fase investigativa, constatamos a necessidade de um maior controle da viscosidade da pasta cerâmica na etapa de impregnação das esponjas e da taxa de aquecimento durante a sinterização dos suportes, objetivando uma maior efetividade da fixação do recobrimento cerâmico no substrato polimérico,

3.5 – Técnicas de caracterização das biocerâmicas

As análises dos suportes porosos foram realizadas após o tratamento térmico utilizando-se as técnicas: difração de raios-X (DRX), microscopia óptica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia por energia dispersiva de raios-X (EDX), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e porosimetria de mercúrio.

Preliminarmente a análise por DRX foi utilizada para confirmar a eficiência do processo de reação de neutralização para obtenção da pasta cerâmica identificando as fases presentes de acordo com as relações Ca/P estudadas.

A morfologia, a composição química, o tamanho e a distribuição de tamanho dos poros dos scaffolds foram caracterizadas usando microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura e porosimetria de mercúrio. A composição química dos elementos presentes, principalmente a relação Ca/P, foi obtida por espectroscopia por energia dispersiva de raios-X.

A análise por espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier foi utilizada para identificar as bandas características dos grupos presentes no fosfato de cálcio.

A retração volumétrica foi calculada apenas para a fase intermediária (Ca/P=1,67), pois não houve condições experimentais para a medição das demais amostras.

3.5.1 - Difração de Raios X

Neste trabalho, utilizou-se um difratômetro de raios X SIEMENS D5000 com varredura angular entre 10 e 70°, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu($k\alpha_1$) com passo de 0,05° (2 θ), sendo que o tempo de passo foi de 1,0 segundos para cada amostra. A identificação das fases presentes foi realizada comparando-se os dados obtidos com as fichas padrões

da base de dados mantida pelo JCPDS – International Center for Diffraction Data (JOINT, 2003). A análise foi realizada no Instituto de Química – Unesp – Araraquara.

3.5.2 - Microscopia Óptica

Para materiais que são opacos a luz visível, como é o caso dos metais, da maioria dos cerâmicos e polímeros, somente a superfície pode ser observada e deve ser criteriosamente preparada de maneira a propiciar condições de revelar a microestrutura. A caracterização por microscopia ótica dos suportes porosos foi realizada em um microscópio óptico Leica DMR, acoplado a uma estação de captura e análise de imagens com *Software Leica Qwin*, instalado no Instituto de Química-Unesp-Araraquara.

3.5.3 - Microscopia Eletrônica de Varredura

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000 x) e resolução. A microscopia eletrônica fornece informação morfológica e topográfica sobre superfícies de sólidos, necessária para se entender o comportamento das superfícies.

A caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos suportes porosos foi realizada no equipamento fabricado pela JEOL-JSM, modelo T-330 A, localizado no Instituto de Química-Unesp-Araraquara.

3.5.4 - Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios X

O EDX é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais, no qual os elementos químicos presentes numa

amostra podem ser identificados através do espectro de raios-X emitido pela amostra. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição química em amostras de tamanhos muito reduzidos ($< 5 \mu\text{m}$), permitindo uma análise quase que pontual.

Neste trabalho a análise química foi realizada no equipamento fabricado pela JEOL-JSM, modelo T-330A, acoplado com sistema para micro análise química por Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS, instalado no Instituto de Química – Unesp, Araraquara.

3.5.5 – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

A análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) do material constituinte dos suportes foi realizada em um espectrômetro AVATAR TM 360 ESP Nicolet (DEMa/ CCT/UFCG) e com varredura de 4000 a 400 cm^{-1} . A amostra foi caracterizada na forma de pastilha feita a partir de 0,007g da amostra e 0,1g de KBr prensada a 5 toneladas durante 30 segundos.

Para a interpretação das bandas de absorção obtidas para os grupos presentes no fosfato de cálcio, utilizaram-se dados da literatura (APARECIDA, 2006), os quais são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Freqüências de absorção no IV características dos fosfatos de cálcio.

Grupos	Número de Onda (cm^{-1})
PO_4^{3-}	474, 562, 580, 640 e 960-1200.
P-OH	527, 870 e 910-1040.
CO_3^{2-} (substituição do tipo A)	880, 1450 e 1514.
CO_3^{2-} (substituição do tipo B)	870, 1412 e 1465.
OH^- (livre)	630 e 3569.
OH^- (H_2O)	1600-1650 e 3000-3700.

3.5.6 – Porosimetria de Mercúrio

Entre os métodos que envolvem a intrusão e ou extrusão forçada dos poros por um líquido, o mais popular e o mais importante é a da porosimetria de mercúrio, pois em uma única medida é possível determinar dados como a distribuição de tamanho de poros e porosidade total do material poroso.

A avaliação da porosidade quanto à distribuição e tamanho de poros foi realizada utilizando a técnica de porosimetria de intrusão de mercúrio no equipamento Micrometrics – Autopore III 9410, instalado no Instituto de Química – Unesp - Araraquara.

3.5.7. Fluxograma da Metodologia

O fluxograma contido na Figura 3.2 apresenta a metodologia e descreve as etapas e a seqüência de desenvolvimento da pesquisa.

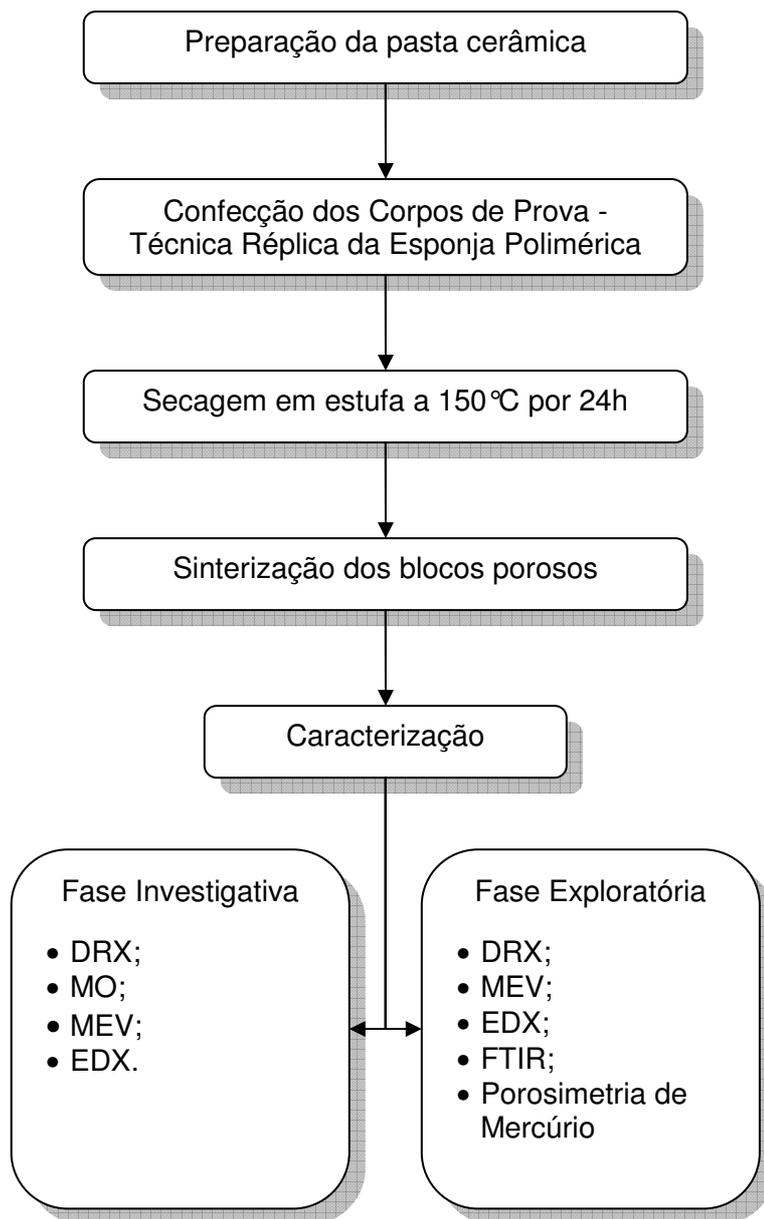


FIGURA 3.2 - Fluxograma da metodologia do trabalho.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica réplica da esponja polimérica é uma das alternativas mais acessíveis do ponto de vista da reprodutibilidade operacional e da relação custo/benefício. (TIAN e TIAN, 2001).

Neste estudo, suportes porosos de fosfato de cálcio foram preparados a partir desta técnica utilizando como substratos esponjas de poliuretano. Durante a etapa de sinterização o esqueleto polimérico é eliminado e uma réplica da esponja é obtida. Estruturas porosas com diferentes tamanhos de poros e geometrias podem ser obtidas utilizando esponjas poliméricas com estruturas desejadas. A Figura 4.1 mostra suportes porosos de fosfato de cálcio em formatos e tamanhos variados.



Figura 4.1 - Imagens dos suportes porosos de fosfato de cálcio razão Ca/P = 1,67

4.1. Fase investigativa

Na fase investigativa as amostras dos suportes porosos confeccionados com esponja PU-25 em diferentes relações Ca/P foram caracterizados por difração de raios-X, microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura e energia dispersiva de raios-X.

4.1.1. Difração de Raios-X

Os difratogramas de raios X das amostras obtidas com valores de razão Ca/P iguais a 1,0, 1,67 e 2,0 tratadas termicamente a 700°C estão apresentadas nas Figuras 4.2 a 4.4.

A Figura 4.2 apresenta o DRX do suporte poroso obtido com razão Ca/P =1,0 e tratamento térmico a 700°C. Comprovou-se que os picos eram referentes ao fosfato de cálcio de razão Ca/P=1.0, denominado pirofosfato de cálcio, cuja fórmula química é $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

Por análise da Figura 4.3, também pode ser comprovado que o fosfato de cálcio obtido era composto unicamente por hidroxiapatita (HA). O mesmo não foi comprovado para os suportes obtidos com razão Ca/P = 2,0, Figura 4.4, pois a fase esperada, o fosfato tetracálcio (TeCP), não foi encontrada, porém o que obteve-se foi uma combinação das fases TCP (fosfato tricálcio) e HA (hidroxiapatita). O tratamento térmico empregado (700°C) não foi suficiente para obtenção do TeCP. Segundo Kanazawa (1989) a temperatura de transformação térmica para a obtenção do fosfato tetracálcio é acima de 1200°C.

De acordo com a literatura as fases de apatita dependem da estequiometria da reação e do tratamento térmico (ELLIOTT, 1994; AOKI, 2001; KANAZAWA, 1989).

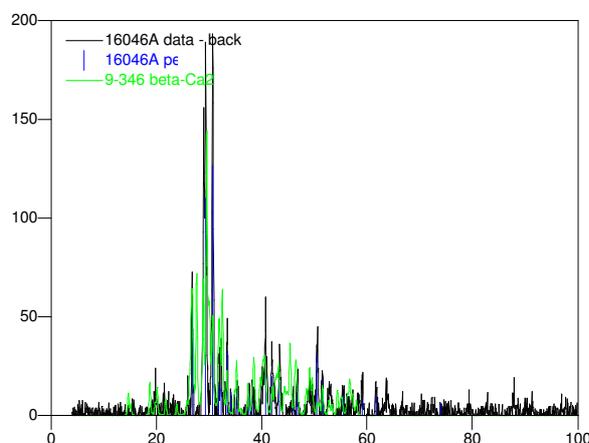


Figura 4.2 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 1,0 e tratamento térmico a 700°C.

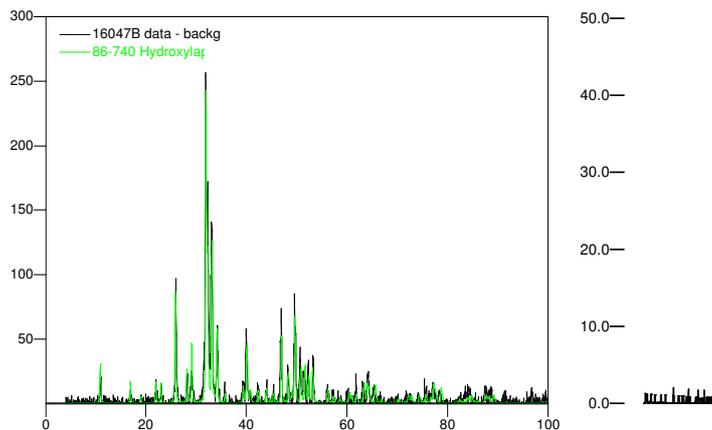


Figura 4.3 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 1,67 e tratamento térmico a 700°C.

Com o tratamento térmico a 1100°C os suportes porosos com razão Ca/P = 1,67, Figura 4.5, apresentaram a fase hidroxiapatita (HA) e traços de fosfato tricálcio (TCP). Segundo Aoki (1991), o fosfato de cálcio com razão Ca/P= 1,67 sofre transformação térmica acima de 1100°C resultando em uma mistura de TCP e HA.

A fase TeCP não foi encontrada nos suportes porosos de razão Ca/P = 2,0 tratados termicamente a 1100°C, Figura 4.6. A fase predominante apresentada foi a hidroxiapatita. A temperatura empregada também foi inferior a temperatura de transformação térmica para obtenção do TeCP que é de 1200°C, valor sugerido pela literatura (KANAZAWA, 1989).

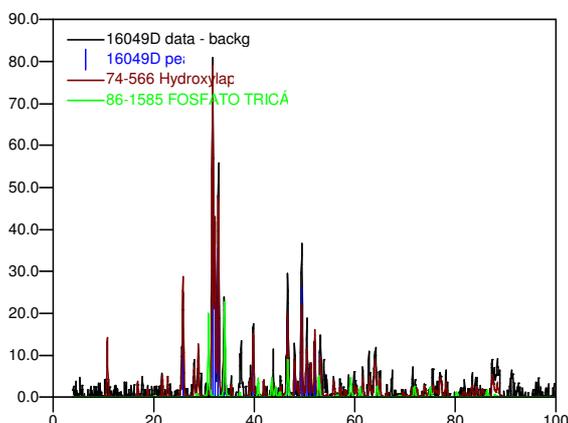


Figura 4.5 - DRX do suporte poroso com razão Ca/P = 1,67e tratamento térmico a 1100°C

4.1.2. Microscopia Óptica

As imagens das análises de microscopia óptica das amostras obtidas com valores de razão Ca/P iguais a 1,0, 1,67 e 2,0 tratadas termicamente a 700°C estão apresentadas nas Figuras 4.7 a 4.9.

Para discutir essas morfologias é importante definir dois tipos de poros: micro e macroporos. Esses poros são diferenciados por seu tamanho: microporos tem um diâmetro entre 1-20µm, enquanto que macroporos tem um diâmetro > 100µm (BOHNER et al., 2005). Os resultados revelam a presença de macroporos (>150µm) e microporos com dimensões variadas na superfície de todos os suportes tratados termicamente a 700°C.

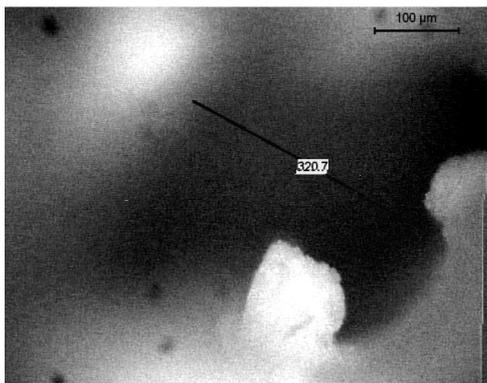


Figura 4.7 - Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =1,0 e tratamento térmico a 700°C.

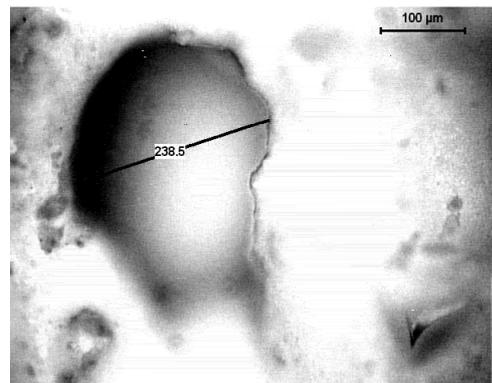


Figura 4.8 - Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 700°C.

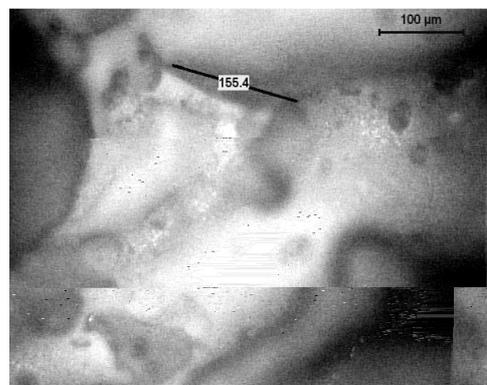


Figura 4.9 - Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 700°C.

As imagens das análises de microscopia óptica das amostras obtidas com valores de razão Ca/P iguais a 1.67 e 2.0 tratadas termicamente a 1100°C estão apresentadas nas Figuras 4.10 e 4.11. Com base nas figuras abaixo, pode se observar que o tratamento térmico a 1100 °C provocou uma diminuição dos microporos, porém alguns poros maiores se mantiveram.

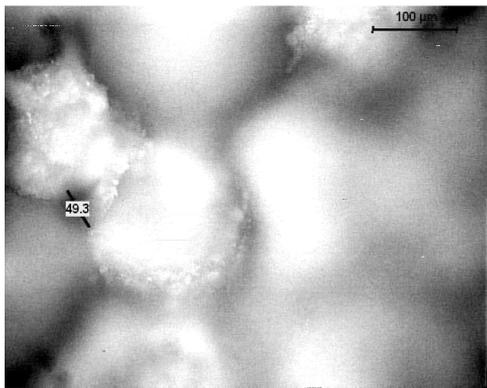


Figura 4.10 - Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 1100°C.

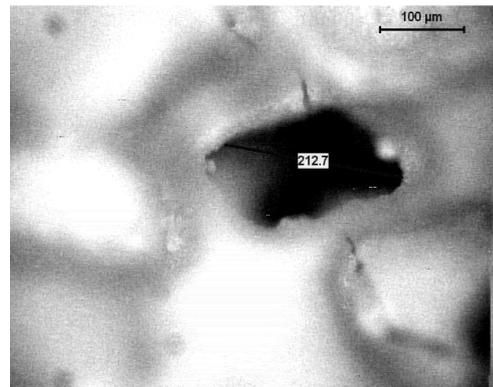


Figura 4.11 - Microscopia óptica do suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 1100°C.

A maior parte dos macroporos observados nas micrografias acima possui tamanho adequado à regeneração óssea, com valores acima de 100µm, e presença de poros interconectados. Estas características proporcionam uma fixação por crescimento de tecido através dos poros por todo o implante, além do transporte de nutrientes e resíduos metabólicos (KARAGEORGIU e KAPLAN, 2005; BUCKLEY e O'KELLY, 2004). Esta ligação tecido/implante poroso, denominada fixação biológica, é capaz de suportar mais carga mecânica que a camada fibrosa formada nos implantes inertes, os quais proporcionam somente uma fixação morfológica (CAO et al., 1995).

4.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura e EDX

As imagens das análises de microscopia eletrônica de varredura das amostras obtidas com valores de razão Ca/P iguais a 1,0, 1,67 e 2,0 tratadas termicamente a 700°C estão apresentadas nas Figuras 4.12 a 4.14.

Pode-se observar que os suportes porosos com razão Ca/P 1,0 e 1,67 apresentaram maior porosidade e a presença de poros interconectados quando comparado ao de razão Ca/P 2,0, que apresentou uma estrutura mais fechada. Para os suportes com razão Ca/P 1,0 e 1,67 observou-se a formação de uma estrutura porosa com poros de tamanhos variados. Particularmente, a presença de poros menores que 30µm devem ser destacados por permitirem a neovascularização e crescimento de fibroblastos no interior dos suportes (KLAWITER et al., 1971; WHANG et al., 1999).

As relações Ca/P determinadas pela análise de EDX são referentes ao valor médio calculado após três análises no mesmo ponto das amostras. Os resultados apresentaram um pequeno desvio de estequiometria atribuído a provável incorporação de grupos carbonato nas células unitárias dos fosfatos de cálcio.

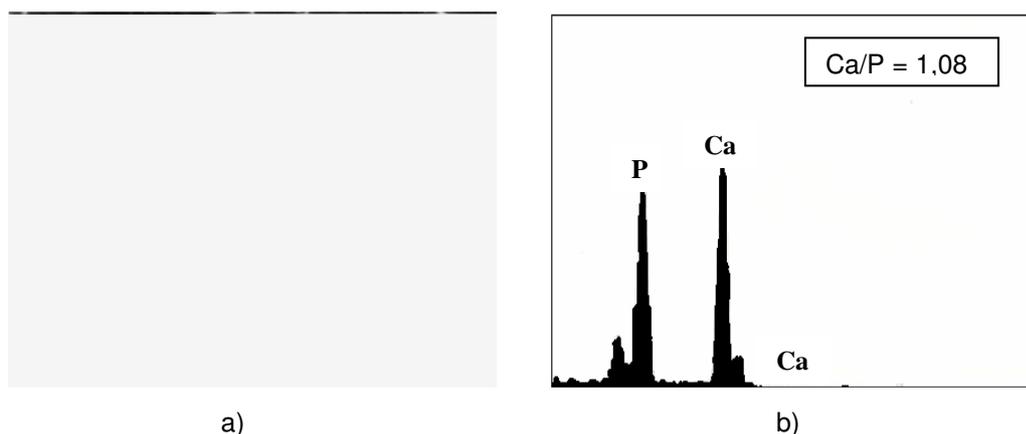


Figura 4.12 - Suporte poroso com razão Ca/P =1,0 e tratamento térmico a 700°C:

a) MEV 2000X e b) EDX.

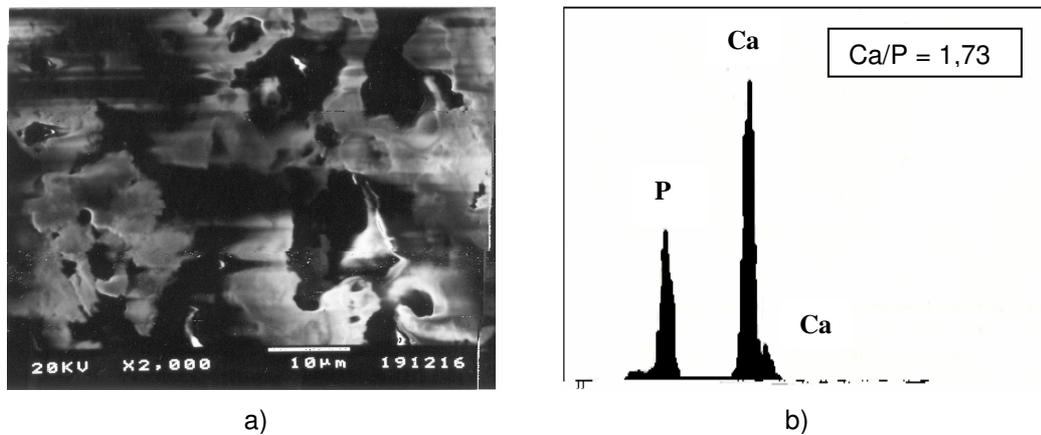


Figura 4.13 - Suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 700°C:
a) MEV 2000X e b)EDX.

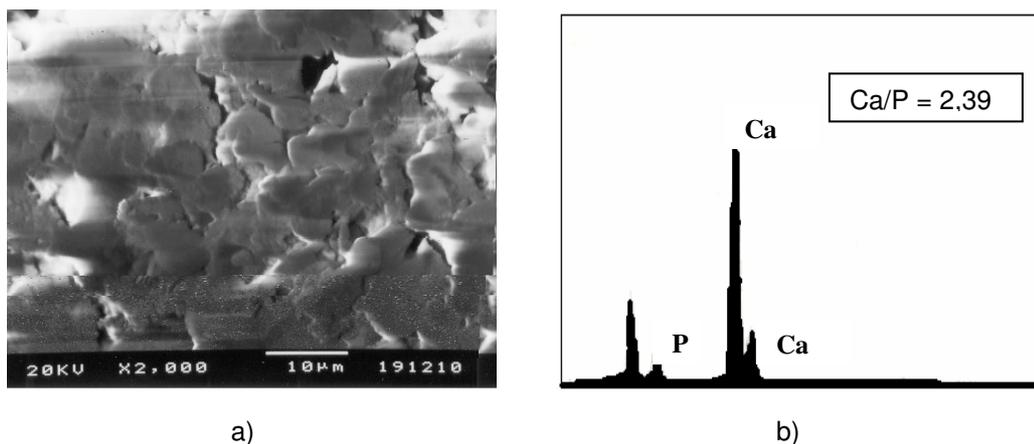


Figura 4.14 - Suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 700°C:
a) MEV 2000X b) EDX.

As imagens das análises de microscopia eletrônica de varredura das amostras obtidas com valores de razão Ca/P iguais a 1,67 e 2,0 tratadas termicamente a 1100°C estão apresentadas nas Figuras 4.15 e 4.16.

O efeito do tratamento térmico a 1100°C promoveu uma maior densificação dos suportes com conseqüente redução da porosidade. As micrografias mostram claramente uma redução do tamanho de grão sofrida com o tratamento térmico. Este fato confirma em nível microscópico, a retração volumétrica ocorrida e medida nas amostras dos suportes antes e depois do tratamento térmico.

A maior temperatura de sinterização resultou em um aumento das relações Ca/P em comparação com o tratamento térmico a 700°C, decorrente do aumento da cristalinidade das fases de apatita.

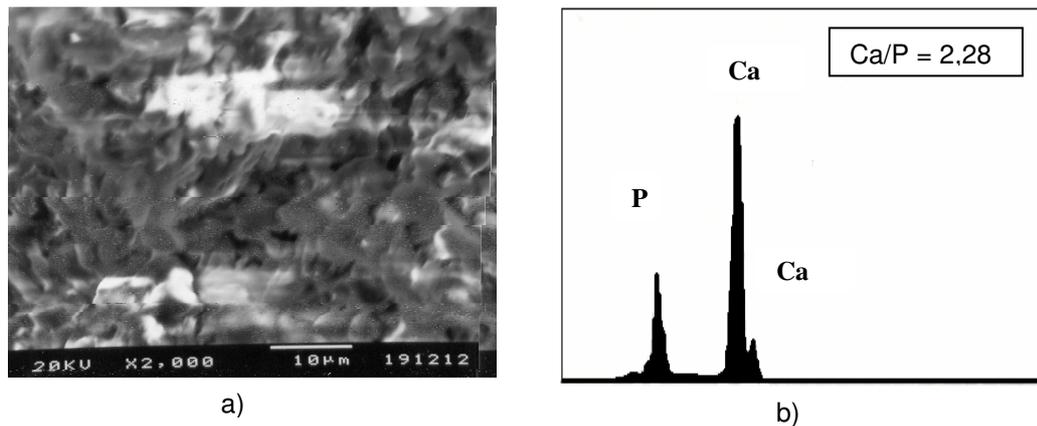


Figura 4.15 - Suporte poroso com razão Ca/P =1,67 e tratamento térmico a 1100°C:
a) MEV 2000X e b)EDX.

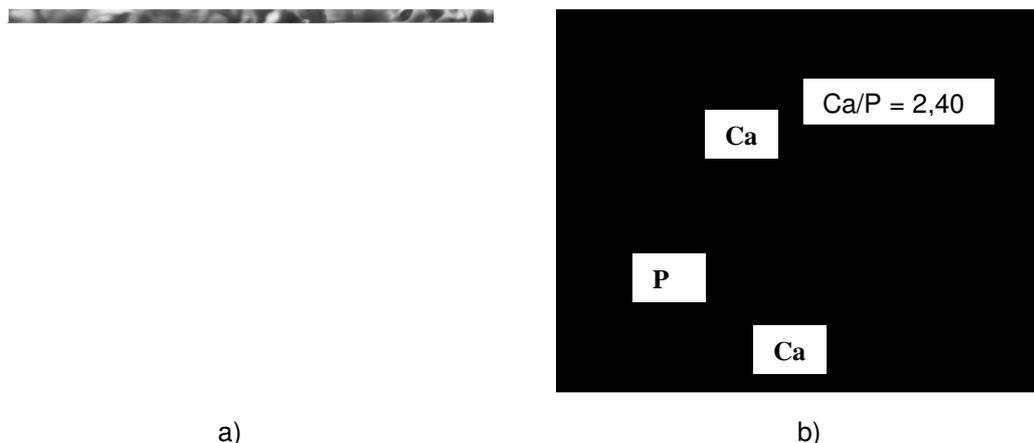


Figura 4.16 - Suporte poroso com razão Ca/P =2,0 e tratamento térmico a 1100°C:
a) MEV 2000X e b)EDX.

A influência do aumento da temperatura de sinterização na densificação dos suportes pode ser comprovada a partir da elevada retração volumétrica sofrida a 1100°C e conseqüente diminuição da porosidade.

A Figura 4.17 mostra a vista frontal dos suportes porosos de fosfato de cálcio em formatos retangulares preparados a partir da técnica réplica de esponja polimérica após o processo de sinterização nas diferentes

temperaturas, 700°C e 1100°C. Analisando-os macroscopicamente pode-se perceber a presença de poros em toda a superfície dos suportes. Esse comportamento foi observado para todas as razões Ca/P com exceção dos suportes preparados com razão Ca/P= 1,0 tratados termicamente a 1100°C, uma vez que nessa temperatura as amostras sofreram fusão, devido a sua pequena cristalinidade.

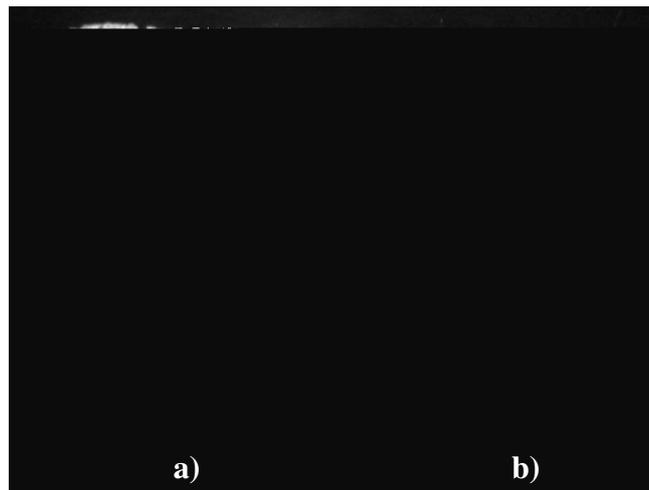


Figura 4.17 - Imagem dos suportes porosos de fosfato de cálcio razão Ca/P = 1,67 tratados termicamente: a) tratamento térmico a 700°C e b) tratamento térmico a 1100°C.

Em conjunto com o aumento da densificação, uma maior resistência ao manuseio foi apresentada pelos suportes tratados termicamente a 1100°C. Não foram realizados testes mecânicos para medir a resistência mecânica, pois não era o propósito da pesquisa, porém observou-se que esses suportes suportavam a manipulação manual sem fragmentação.

4.2. Fase Exploratória

Com base nos resultados das caracterizações acima escolhemos o fosfato de cálcio de relação Ca/P= 1,67 (HA), por ser um dos materiais mais estudados atualmente como scaffold para regeneração óssea, e uma temperatura de sinterização de 1100°C, por proporcionar maior estabilidade mecânica aos suportes porosos.

4.2.1. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada para verificar a eficácia do processo de obtenção da HA identificando suas bandas características.

A Figura 4.18 mostra o espectro da amostra sinterizada a 1100°C. As bandas na região de 475, 580 e 1100 cm^{-1} apresentadas no espectro de IV correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos PO_4^{3-} . As bandas em torno de 880 e 1435 cm^{-1} são atribuídas à incorporação de grupos CO_3^{2-} proveniente do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera aberta e em solução aquosa. As bandas em torno de 640, 3400 e 3590 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento dos grupos hidroxila, OH^- , da HA. A banda na região 2100 cm^{-1} identificado em todas as amostras pode ser atribuído ao CO_2 absorvido do meio ambiente. Este resultado referente a amostra tratada a 1100°C indicou que a HA obtida é muito semelhante à HA estequiométrica.

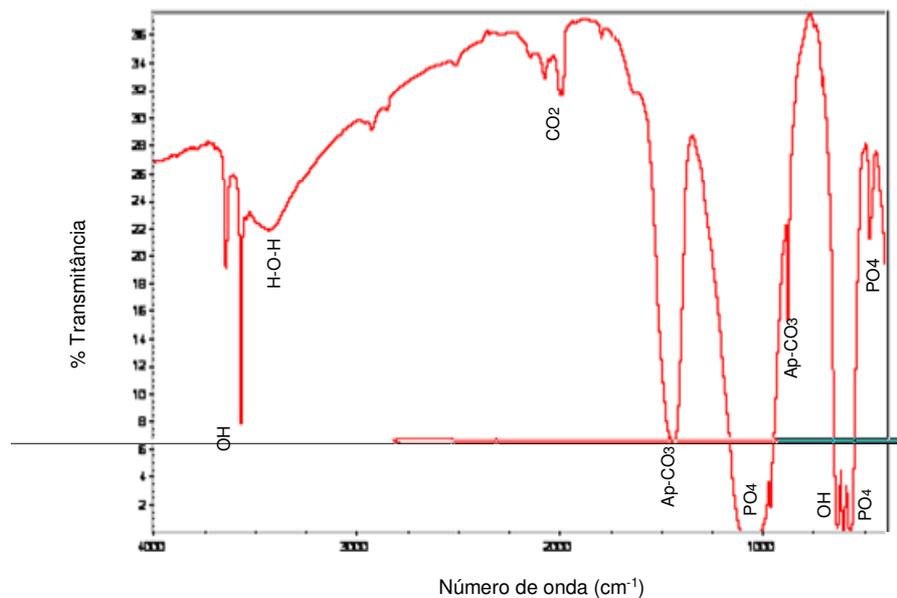


Figura 4.18. Espectro vibracional de IV do suporte poroso de HA.

4.2.2. Influência da densidade da esponja polimérica

4.2.2.1. Análise por Difração de Raios-X

Os resultados das análises de DRX dos suportes porosos apresentados nas Figuras 4.19 apresentaram os picos referentes ao fosfato de cálcio com relação Ca/P= 1,67, de acordo com a ficha padrão de referência da HA (JCPDS) comprovando a presença de hidroxiapatita monofásica, independente da densidade da esponja utilizada. A utilização de uma taxa de aquecimento mais baixa durante a sinterização com tempo de permanência em temperatura mais baixa (600°C) também não alterou a composição do fosfato de cálcio.

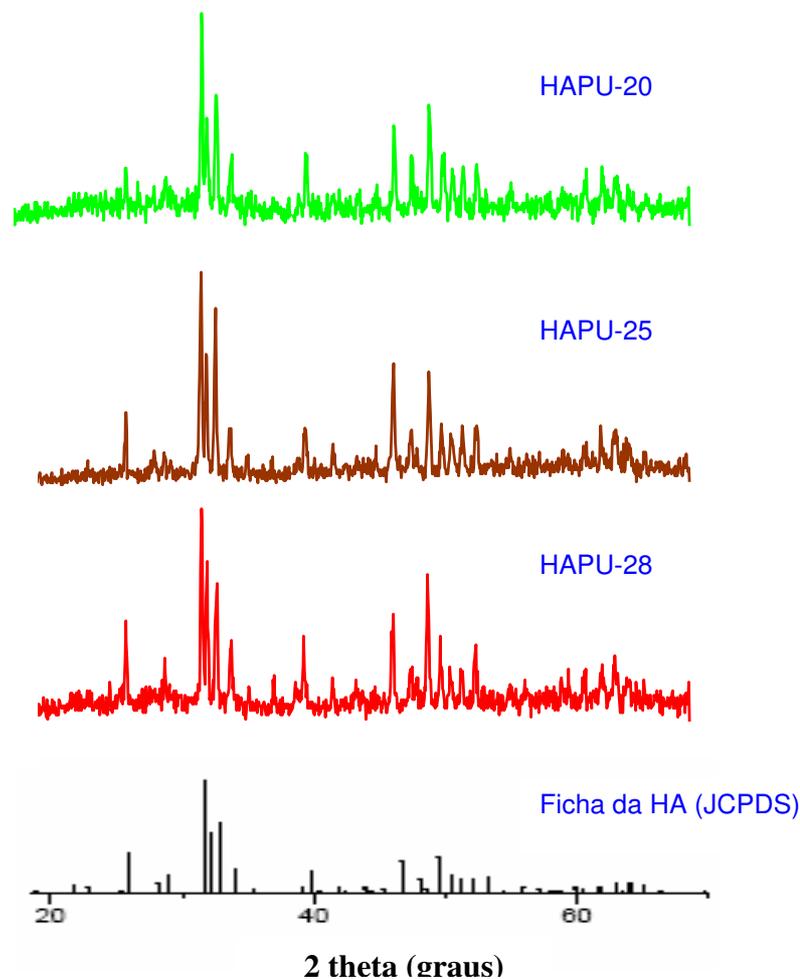
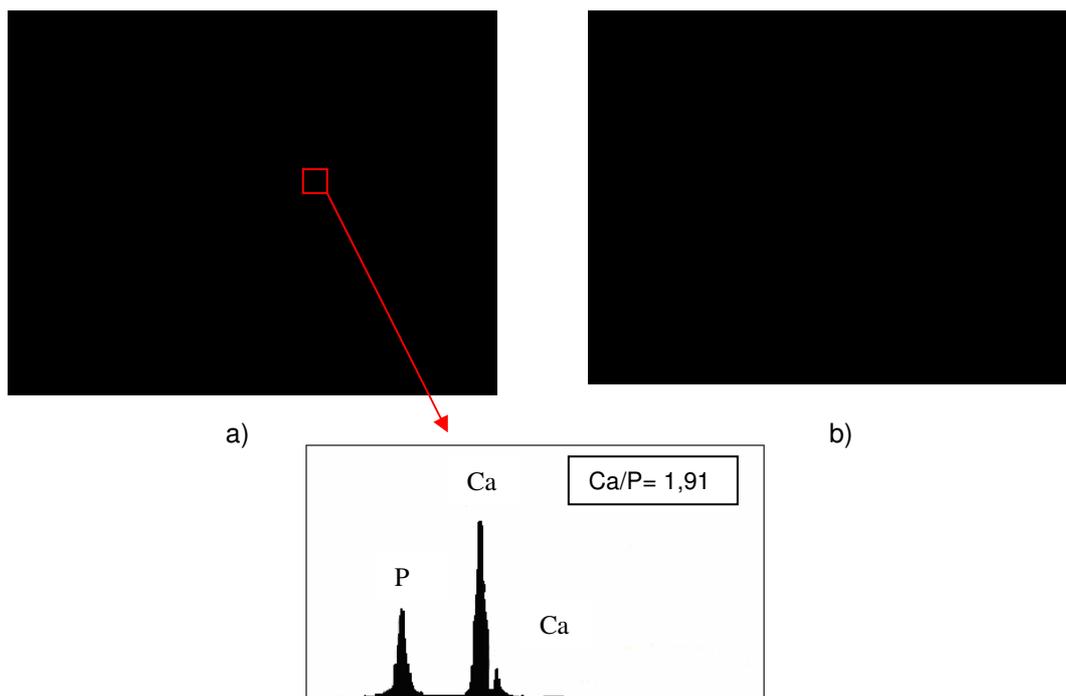


Figura 4.19 – Difratoigramas de Raios-X dos suportes porosos em comparação com a ficha de referência da Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ do JCPDS.

4.2.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura e EDX

Observa-se nas micrografias apresentadas na Figura 4.20 a 4.22 as morfologias e microestruturas dos suportes porosos de hidroxiapatita. As imagens revelam que a técnica é reproduzível na característica de poros interconectados com tamanhos variados presentes nas estruturas.

As micrografias revelaram que o aumento da densidade da espuma utilizada na obtenção dos suportes de HA provocou uma diminuição na fração de microporos (1-20 μm) e um aumento na fração de poros maiores (50-150 μm). A fração de microporos das amostras observada nas micrografias acima, contribui diretamente para formação de interconectividade entre os poros.



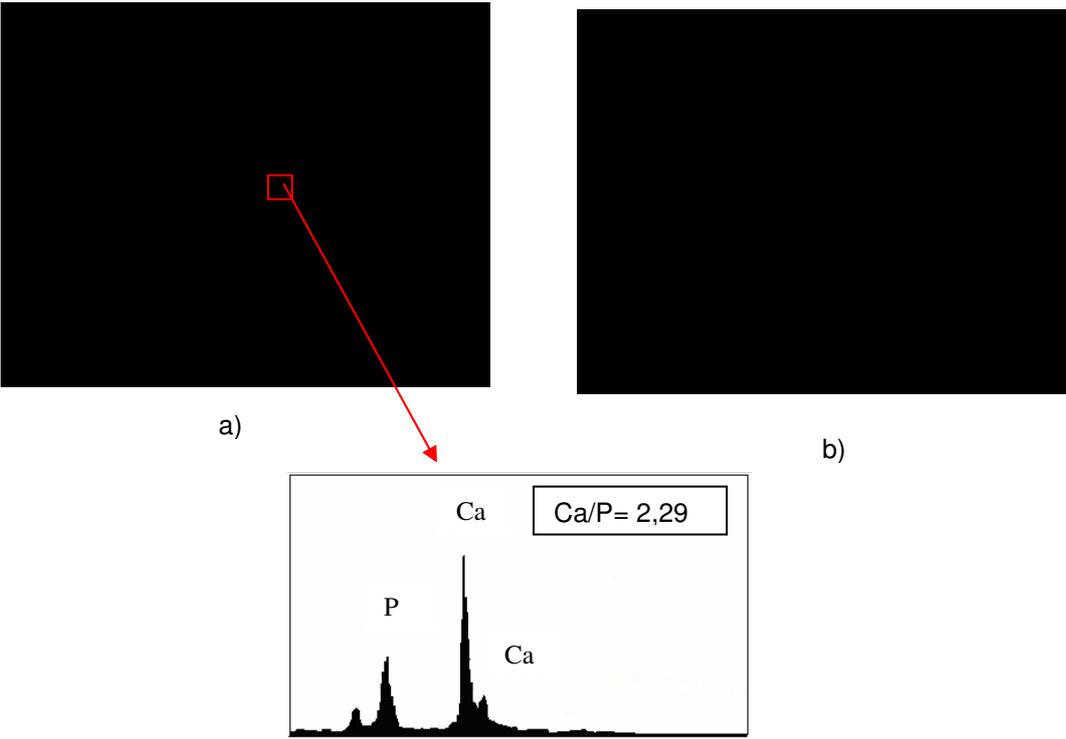


Figura 4.21 – MEV e EDX dos suportes porosos HAPU-25: a) 500X e b) 2000X.

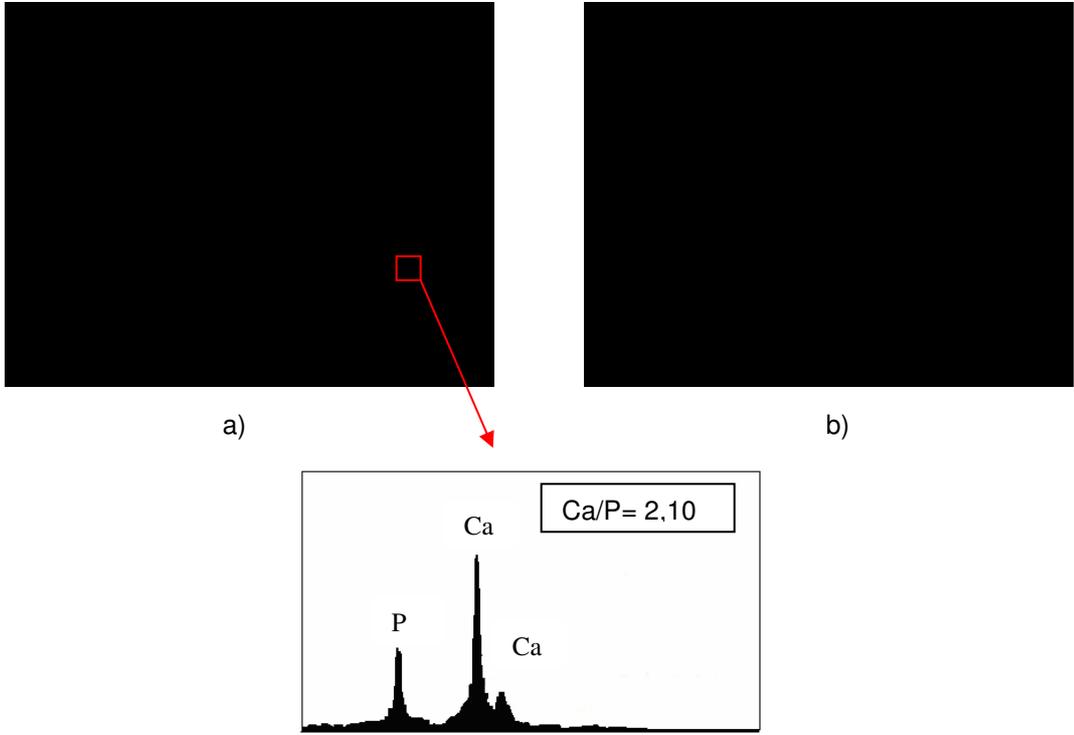


Figura 4.22 – MEV e EDX dos suportes porosos HAPU-28: a) 500X e b) 2000X.

A interconectividade é a característica principal da porosidade que tem se confirmado ao longo de vários estudos, como sendo responsável pela manutenção e crescimento do tecido ósseo, pelo transporte de nutrientes e drenagem de líquidos intersticiais (RATNER et al., 1996; LIEBSCHNER et al., 2003; YASZEMSKI et al., 1996). Poros com dimensões próximas de 5 μm , ainda podem facilitar a migração iônica que ocorre inicialmente entre a superfície do implante e o plasma sangüíneo, influenciando de maneira positiva a dinâmica de adsorção celular e; na capilaridade e permeabilidade dos fluidos corpóreos, que pode contribuir na dissolução desta cerâmica (RATNER et al., 1996; YASZEMSKI et al., 1996).

A presença de poros maiores que 100 μm demonstra que os suportes de HA obtidos pela técnica réplica da esponja polimérica são adequados à regeneração óssea. Visto que um osteoblasto ocupa uma área de 700 μm^2 (THOMSON et al. 1998), conseqüentemente um tamanho de poro acima de 100 μm é compatível com a osteocondução (NARBAT et al., 2006). Isso mostra que os poros dos suportes de HA são suficientemente extensos para acomodar células.

As relações Ca/P determinadas pela análise de EDX apresentaram um desvio estequiométrico, contudo não houve modificações estruturais perceptíveis no padrão de difração de raios-X. Esse comportamento pode ser atribuído a incorporação de grupos CO_3^{2-} nos sítios PO_4^{3-} ou OH^- . Como as amostras foram obtidas em atmosfera aberta e em solução aquosa, o grupo carbonato pode ter sido originado através do CO_2 presente no ar (CHENG et al. 1998; ARAÚJO, 2006).

Segundo MOREIRA et al. (2008) a estrutura da hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ por ser aberta e hospedeira permite a substituição de todos os seus íons, Ca^{2+} , PO_4^{3-} e OH^- , mantendo a eletroneutralidade. A substituição dos íons PO_4^{3-} e OH^- pelo íon CO_3^{2-} ocasiona a contração do eixo *a* e *b* e expansão do eixo *c*; diminuição da cristalinidade; aumento da solubilidade; variação nas posições atômicas e mudança na morfologia dos cristalitos .

As Figuras 4.23 a 4.25 apresentam imagens dos suportes de HA em maior resolução, necessárias para melhor avaliar a diferença entre o comportamento das superfícies das amostras. Pode-se observar que o suporte que apresenta maior microporosidade é o HAPU-20.



Figura 4.23 - MEV dos suportes porosos
HAPU-20 (5000X)



Figura 4.24 - MEV dos suportes porosos
HAPU-25 (5000X)

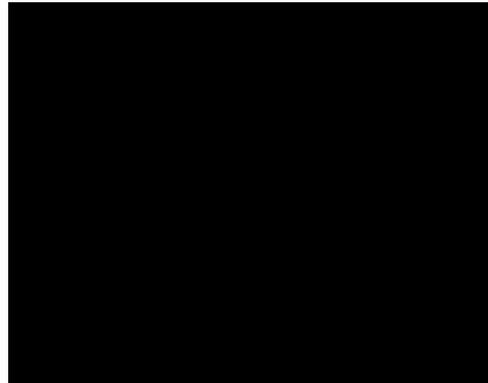


Figura 4.25 - MEV dos suportes porosos
HAPU-28 (5000X)

A literatura relata que a composição química e a topografia da superfície do implante influenciam a resposta celular osteogênica (LIEBSCHNER et al., 2003). Os microporos podem apresentar um papel importante no processo de ativação celular da superfície. Este tipo particular de porosidade é morfologicamente funcional por contribuir com a rugosidade da superfície. A característica rugosa induz uma formação óssea em maior volume quando comparadas às superfícies lisas devido a grande tendência de ancoragem de

células com fenótipo osteoblástico neste tipo de superfície (RATNER et al., 1996; LIEBSCHNER et al., 2003).

4.2.2.3. Porosimetria de Mercúrio

Os resultados referentes à porosidade dos suportes de hidroxiapatita foram determinados pelo método de intrusão de mercúrio e expressos em volume de mercúrio intrudido em função do diâmetro de poro, Figura 4.26.

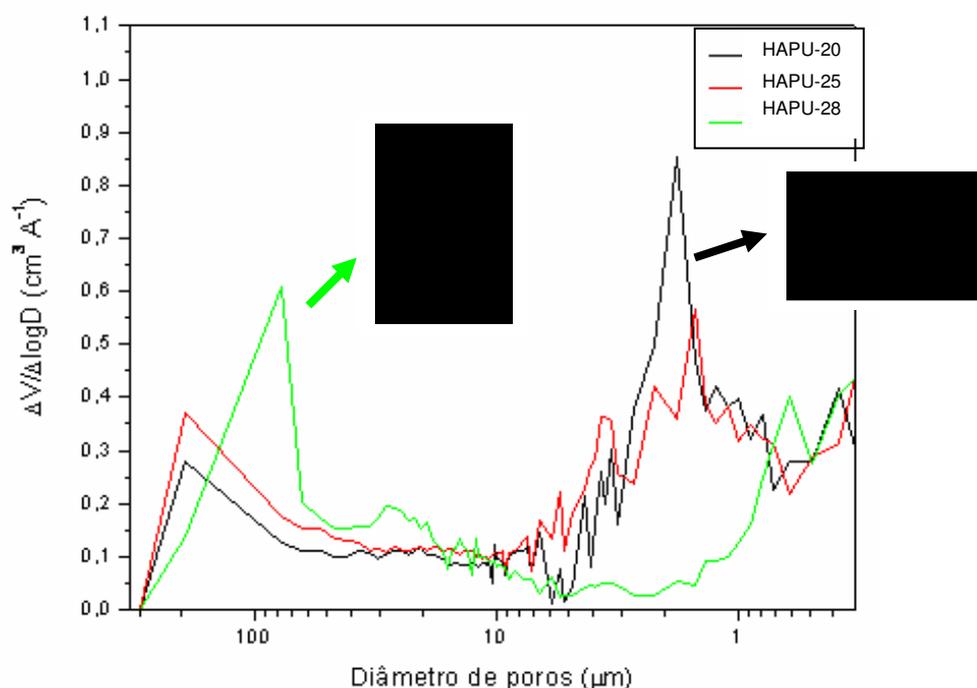


Figura 4.26 - Curvas da frequência de tamanho de poros em função do volume de mercúrio intrudido.

Observa-se uma relação direta entre a densidade da espuma utilizada e a dimensão dos poros nas amostras dos suportes. Os suportes obtidos com a espuma de maior densidade (HAPU-28) apresentaram uma frequência maior de poros de maior tamanho ($> 60 \mu\text{m}$). Entretanto, a maior frequência de poros de tamanhos entre $1,5 - 3,0 \mu\text{m}$ foi observada nas amostras dos suportes (HAPU-20).

As amostras obtidas apresentaram uma distribuição de poros bimodal. A primeira distribuição se estendeu de tamanhos submicrométricos até 10,0 (μm) e a segunda no intervalo de 60 – 250 (μm), comprovando os resultados obtidos com a caracterização por microscopia eletrônica de varredura.

As diferenças entre as espumas são notadas em termos de volume de porosidade total dos suportes, Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Valores de porosidade total dos suportes obtidos pela técnica de intrusão de mercúrio.

Suportes	Porosidade Total (%)
HAPU-20	70
HAPU-25	74
HAPU-28	77

Verificou-se que os suportes que utilizaram como substratos as espuma de menor densidade (HAPU-20) foram os que apresentaram menor porosidade total. Esse resultado mostra que espumas que possuêdd entds

5- CONCLUSÃO

- Com a técnica réplica da esponja polimérica foram obtidos suportes porosos de fosfato de cálcio apenas nas relações Ca/P 1,67 e 2,0.

- Houve efetiva reação de neutralização da pasta cerâmica obtida na formação das fases desejadas

- As condições operacionais de obtenção da pasta cerâmica e os respectivos tratamentos térmicos, apesar de alterações das relações Ca/P, foram eficientes para a obtenção de apatitas monofásicas.

- O uso de esponjas de poliuretano com densidades variadas para a metodologia aplicada possibilitou a obtenção de suportes porosos sem alterar a fase de apatita.

- A variação da densidade das esponjas não provocou a formação de morfologias diferentes. Contudo, houve uma relação direta entre a distribuição e tamanho dos poros no suporte e a densidade da espuma.

- As análises por microscopia eletrônica de varredura revelaram suportes com poros interconectados com tamanhos variados na ordem de macro ($>100\mu\text{m}$) e microporosidade (1-20 μm) em menor ou maior grau dependendo da densidade da esponja utilizada na produção das amostras, resultados estes que foram comprovados pela análise de porosimetria de mercúrio. Os suportes porosos HAPU-28 destacaram-se por apresentar maior porosidade total em comparação com os suportes produzidos com esponja de menor densidade (HAPU-20 e HAPU-25).

- Os suportes porosos de HA desenvolvidos nesse estudo apresentaram uma combinação de fatores essenciais para a aplicação desses materiais como substitutos ósseos, tais como alta porosidade ($>70\%$), composição química, interconectividade e tamanhos dos poros adequados à regeneração óssea.

6 - SUGESTÃO PARA PESQUISA FUTURA

A aplicação de biocerâmicas em regiões que requeiram sustentação ainda está distante do praticável; sua inerente rigidez e fragilidade são as principais desvantagens, reduzindo seu campo de aplicação (VALLET-RÉGI e GONZÁLEZ-CALBET, 2004). Portanto, a produção de suportes porosos com resistência mecânica semelhante aos tecidos ósseos para que suportem as aplicações de carga durante o crescimento do novo tecido durante o processo de regeneração óssea é razão de interesse de pesquisa futura. Diante destes desafios a opção sugerida é o desenvolvimento e caracterização de suportes porosos de compósitos biodegradáveis de cimento de fosfato de cálcio/biopolímero, para reparação e regeneração óssea, que apresenta a vantagem de um maior controle da taxa de degradação e reabsorção com base no período para remodelagem do tecido no local do implante.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ANDRADE, A.L.; DOMINGUES, R.Z. Cerâmicas bioativas - estado da arte.
Quim. Nova, v. 29, n.1, p. 100-104, 2006.

APARECIDA, A.H.

.0.640026(O)2.516

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

DACULSI, G. **Micro macroporous calcium phosphate bioceramics.** Business Briefing: Global Surgery, 2004.

DE OLIVEIRA, A.A.R. et al. Avaliação das propriedades mecânicas de espumas híbridas de vidro bioativo/álcool polivinílico para aplicação em engenharia de tecidos. **Revista Matéria**, v. 12, p. 140 – 149, 2007.

DEE, K.; PULEO, D.; BIZIOS, R. **An introduction to tissue - biomaterial interactions.** Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc., 2002.

ELLIOTT, J. C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates.** London: Elsevier Science, p. 389, 1994.

FERNÁNDEZ-TRESGUERRES-HERNÁNDEZ-GIL, I. et al. Physiological bases of bone regeneration I: histology and physiology of bone tissue. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 11, p. E47-51, 2006.

FINISIE, M.R. et al. Synthesis of Calcium-Phosphate and Chitosan Bioceramics for Bone Regeneration. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 73, n. 4, 2001.

FISHER, E. **Pyrilinks-D immulite: Testando a reabsorção óssea de maneira simples.** Disponível em: <http://www.dpcmedlab.com.br/areacientifica/artigo_116.pdf>. Acesso em: 25 Jun. 2007.

FOOK, M.V.L. **Desenvolvimento de técnica de deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético na superfície polietileno de ultra-alto peso molecular para aplicação como biomaterial.** 2005. 128 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2005.

GUTIERRES, M. et al. Substitutos Ósseos: conceitos gerais e estado actual. **ArquiMed**, v. 19, p. 153-162, 2006.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

HAN, Y.-S. et al. A study on the factors involved in collapse of macroporous α - Al_2O_3 structure. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 128, p. 313-317, 2002.

HENCH, L.L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v. 19, p. 1419-1423, 1998.

HENESS, G.; BEN-NISSAN, B.: Innovative Bioceramics. **Material Forum**, v. 27, p. 104-114, 2004.

JOHNSON, A.L. Bone grafting. In: OLMSTEAD, M.L. **Small animal orthopedics**, St. Louis: Mosby, p. 146-151, 1995.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 136 p.

KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. Tokyo: Kodansha, 1989. 98p.

KAPANEN, A., **Biocompatibility of orthopaedic implants on bone forming cells**. Dissertação (Mestrado). Department of Anatomy and Cell Biology and Biocenter Oulu, University of Oulu, Finland, 2002.

KARAGEORGIU, V.; KAPLAN, D.; Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, v.26, p. 5474-5491, 2005.

KATTI, K.S.: Biomaterials in total joint replacement: colloids and surfaces B. **Biointerfaces**, v. 39, p. 133–142, 2004.

KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: Tendências e Perspectivas de Uma Área Interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, 2000.

KELLER, J.C. “**Hard Tissue Replacements**”. The Biomedical Engineering Handbook: 2. ed., Boca Raton: CRC Press LLC, v. 45, p. 26, 2006.

KLAWITTER, J.J.; HULBERT, S.F. Application of porous ceramics for the attachment of load-bearing internal orthopedic applications. **J. Biomed. Mater. Res. Symp.**, v. 2, n. 161, 1971.

LACERDA, K.A.; LAMEIRAS, F.S.; SILVA, V.V. Síntese e caracterização de matrizes porosas de hidroxiapatita para aplicação como fontes radioativas em braquiterapia Rem: **Rev. Esc. Minas**, v. 59, n. 2, p.217-223, abr./jun. 2006.

LEE, K-Y. Ceramic bioactivity: progresses, challenges and perspectives. **Biomed. Mater.**, v. 1, R31–R37, 2006.

LEONEL, E.C.F., MANGILI, P.D., RAMALHO, L.T.O., ANDRADE SOBRINHO, J. A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea - Estudo em ratos. **Cienc Odontol Bras**. v. 6, n. 3, p. 19-25, 2003.

LIEBSCHNER, M.A.K.; WETTERGREEN, M.A. **Topics in tissue Engineering**; Ashammakhi e Ferretti, USA, 2003.

MARIOLANI, J.R.L.; BELANGERO, W.D.; ARRUDA, A.C.F.: Resposta interfacial provocada pelas interações biológicas e mecânicas entre material de implante e tecido receptor. **Acta Ortopédica Bras.**, v. 1, n. 2, p. 48-53, 1993.

MÁRQUEZ, A. A. Los materiales y su biocompatibilidad: hidroxiapatita. **Materiales Avanzados**, n.4, p. 43-48, 2005.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

MIAO, X. et al. Porous calcium phosphate ceramics prepared by coating polyurethane foams with calcium phosphate cements, **Materials Letters**, v. 58 n.3-4, p. 397-402, 2004.

MORAES JÚNIOR, E. F. **Enxerto autógeno para aumento em espessura e ou altura do processo ósseo alveolar, transtornos de técnica cirúrgica, complicações e sobrevivência dos implantes**. 2002. p.136. Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2002.

MORATO, A.; NARRÁEZ, I.; TORIBIO, C. Ciências de la salud. El futuro de los biomateriales. Tendências tecnológicas a médio y largo plazo. **OPTI & FENIN** 2004. Disponível em: <
http://www.fenin.es/fileadmin/user_upload/documentacion/estudios/prospectiva_biomateriales.pdf>. Acesso em: 15 Mai. 2007.

MOREIRA, E.A. et al. Permeabilidade de cerâmicas celulares. **Revista Universidade Rural**, v. 21, n. 1, p. 177-185, 2002.

MOREIRA, E.L. et al. Análise estrutural de uma hidroxiapatita carbonatada por difração de raios-X. **Revista do CBPF**. Disponível em: <
http://cbpfindex.cbpf.br/publication_pdfs/EMC2006ENVIO.2006_12_21_10_23_10.pdf>. Acesso em: 10 Jan. 2008.

NARBAT, M. K. et al. Fabrication of porous hydroxyapatite-gelatin composite scaffolds for bone tissue engineering. **Iranian Biomedical Journal** v. 10, n. 4, p. 215-223, 2006.

OLIVEIRA, R.C. et al. Avaliação histológica e bioquímica da resposta celular ao enxerto de osso cortical bovino previamente submetido a altas temperaturas. Efeito da temperatura no preparo de enxerto xenógeno. **Rev Bras Ortop**, v. 38, n. 9, 2003.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

OLSZTA, M.J. et al. Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering R. (In Press)*, 2007.

OREFFO, R.O.C.; TRIFFIT, J.T. Future potentials for using osteogenic stem cells and biomaterials in orthopedics. **Bone**, v. 25, n. 2, p. 5S-9S, 1999.

OSTEOHEALTH: Revolucionizing regeneration. Disponível em: <<http://www.osteohhealth.com/Bio-Oss.html>> Acesso em: Nov. 2006.

PARK, S. -H., LLINÁS, A., GOEL, V.K. “**Hard Tissue Replacements**”. *The Biomedical Engineering Handbook: 2. ed.*, Boca Raton: CRC Press LLC. v. 45, n. 1, 2006.

PEREIRA, A. P. V., VASCONCELOS, W. L., ORÉFICE, R. L. Novos biomateriais: híbridos orgânico-inorgânicos bioativos. **Polímeros**, v. 9, n. 4, pp. 104-109, 1999

PERÉZ, A.L. et al. Implante óseo de la espuma de hidroxiapatita-09: estudio experimental en conejos. **Rev Esp Patol**, v. 38, n. 1, p. 14-20, 2005.

RAMAY, H.R.; ZHANG, M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods. **Biomaterials**, v. 24, p. 3293-3302, 2003.

RATNER, B. D. et al. **An introduction to materials in medicine**. San Diego: Academic Press, 1996.

REZWAN, K. et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* v. 27, p. 3413–3431, 2006.

ROSA, A.L., SHAREEF, M.Y., NOORT, R.V. Efeito das condições de preparação e sinterização sobre a porosidade da hidroxiapatita. **Pesqui Odontol Brás**, v. 14, n. 3, p. 273-277, 2000.

ROSSI, A. M. et al. A Ciência e tecnologia das biocerâmicas. **Revista do CBPF**. Disponível em: <<http://portal.cbpf.br/protected/Pages/divulgacao/pdfs/BioMat.pdf>>. Acesso em: 20 Jul. 2006.

SAKATA, M.M.; ALBERTO RINCON, M.C.; DUEK, E.A.R. Estudo da Interação Polímero/Cartilagem/Osso Utilizando Poli (Ácido Lático-co-Ácido Glicólico) e Poli (p-Dioxanona) em Condilo Femural de Coelhos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n. 3, p. 176-180, 2004.

SALEH, J. et al. **Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivo**. *IN: Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, 16. Porto Alegre, 2004.

SANTOS, J.D. **Ceramics in Medicine**. Business Briefing: Medical Device Manufacturing & Technology, 2002.

SANTOS, M.L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Eclética Química**, v. 30. n. 3, 2005.

SANTOS, S. R. A. et al. Produção de scaffolds porosos para regeneração óssea. *IN: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais*, 4. Agosto, 2006.

SEELEY, Z.; BANDYOPADHYAY, A.; BOSE, S. Tricalcium phosphate based resorbable ceramics: influence of NaF and CaO addition, In press, Correct Proof, **Materials Science and Engineering C**, Available on line 2 Feb 2007.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

SICCA, C.M. et al. Avaliação microscopia e bioquímica da resposta celular a enxertos de osso cortical bovino em subcutâneo de ratos. Efeito do tamanho da partícula. **Ver. FOB.** v. 8, n. 1/2, p. 1-10, 2000.

SILVA JÚNIOR, P.E.; ORÉFICE, R.L. Compósitos bioativos obtidos a partir da inserção de vidro bioativo em matriz de poli (metacrilato de metila). **Polímeros**, v. 11, n. 3, p. 109-115, 2001.

SINHA, A. et al. Development of calcium phosphate based bioceramics. **Bull. Mater. Sci.**, v. 24. n. 6, p. 653-657, 2001.

SOARES, G.A. **Biomateriais.** Fórum de Biotecnologia Biomateriais. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

SPECTOR, M. Biomaterials-based tissue engineering and regenerative medicine solutions to musculoskeletal problems. **Swiss Med Wkly**, v.136, p. 293-301, 2006.

TADIC, D. et al. A novel method to produce hydroxyapatite objects with interconnecting porosity that avoids sintering. **Biomaterials**, v. 25, p. 3335 – 3340, 2004.

TAKAMORI, E.R. **Estudo *in vitro* da citotoxicidade do osso bovino misto quimicamente tratado.** Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade Estadual de Campinas, Bauru, 2004.

THAMARAISELVI, T.V.; RAJESWARI, S. Biological Evaluation of Bioceramic Materials: a review. **Trends Biomater. Artif. Organs**, v. 18, n.1, p. 9-17, 2004.

THOMSON, R.C. et al. Hydroxyapatite fiber reinforced poly (α -hydroxy ester) foams for bone regeneration. **Biomaterials**, v. 19, p. 1935-1943, 1998.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

TIAN, J.; TIAN, J. Preparation of porous hydroxyapatite. **Journal of materials science** v.36, p. 3061-3066, 2001.

TORO, M.E.N. **Desarrollo y Caracterización de Materiales Biodegradables para Regeneración Ósea**. Tese (Doutorado em Ciências) - Universitat Politècnica de Catalunya, Abr. 2005.

VACCARO, A.R. The Role of the Osteoconductive Scaffold in Synthetic Bone Graft. **Orthopedics**, v.25, n.5, s.571-8, 2002.

VALLET-REGÍ, M., GONZÁLEZ-CALBET, J.M. Calcium phosphates as substitution of bones tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 32, p. 1-31, 2004.

VAZ, G.J.O. et al. **Cerâmicas com Alta Porosidade para Scaffolds**. *IN*: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 4. Agosto, 2006.

VERCIK, L. C. O. et al. Recobrimento de Apatitas “In Vitro” sobre Titânio: Influência do Tratamento Térmico. **Eclética Química**, v. 28, n. 1, 2003.

VITAL, C.C. et al. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.2, p.175-183, 2006.

VOLKMER, T. M., BREUER, D., SANTOS, L. A. **Avaliação da Microestrutura de Blocos Porosos Obtidos por Gelcasting de Espumas**. *IN*: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 4. Agosto, 2006.

WINN, S.R. et al. Gene therapy approaches for modulating bone regeneration. **Adv Drug Deliv Rev.** v. 20, n. 42, p. 121-38, 2000.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

WHANG, K. et al. Engineering bone regeneration with bioabsorbable scaffolds with novel microarchitecture. **Tissue Eng.** v. 5, n. 35, 1999.

YASZEMSKI, M.J.; PAYNE, R.F.; HAYES, W.C.; LANDER, R.; MIKOS, A.G. Evolution of bone transplantation: molecular, cellular and tissue strategies to engineer human bone. **Biomaterials** v.17, p. 175–85, 1996.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)