



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
ENGENHARIA DE MATERIAIS



ENG 02298 TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO

**OBTENÇÃO DE BIOMATERIAIS POROSOS UTILIZANDO SÍLICA COLOIDAL COMO
AGLUTINANTE**

Gabriela Benderóvicz Mendes Ribeiro

Matrícula 00135884

Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos

Porto Alegre

Novembro 2009

AGRADECIMENTOS

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a elaboração deste trabalho, o meu reconhecimento e a minha sincera homenagem:

À UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – pelo excelente ensino público, gratuito e de qualidade.

Ao Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos, pelo apoio e orientação neste trabalho de diplomação e por todo o aprendizado durante meu período de bolsista de iniciação científica, bem como ao LABIOMAT – Laboratório de Biomateriais da Escola de Engenharia da UFRGS.

Ao pessoal do LACER, em especial Rafael Trommer e Antônio Takimi, pelo auxílio para realização deste trabalho, pelas úteis discussões e pela amizade.

Aos amigos do LABIOMAT, Jéferson Luis de Moraes Machado, Tiago Moreno Volkmer, Samanta Vearick, Vanusca Jahno, Roselen Costela e Loreley, pela ajuda, incentivo e momentos de descontração.

A todos os meus amigos, Dani, Ana Lígia, Du, Carla, Pablinho, Bernardo, Mari, Gabi, pela compreensão e carinho; aos amigos que conquistei na EPCOS do Brasil, Alex, Rafa, Karina, Muriel, Susana, Gustavo, pelo apoio, ao meu chefe e grande amigo Vander, pelos dias que precisei faltar ao trabalho e pelas palavras de incentivo.

Aos meus pais, por além de terem me colocado no mundo, terem me dado suporte afetivo e psicológico nos momentos difíceis. Tudo o que sou hoje devo a eles.

Ao meu irmão Eduardo, pelo carinho e compreensão.

Aos meus tios e padrinhos Regi e Tadeu, aos primos Camila, Demétrio e Haina, pelo incentivo, carinho e por me acolherem em sua casa durante os primeiros anos na capital. Sem o apoio deles não teria chegado até aqui.

Aos meus avós Nahir e José por acreditarem em mim, e por todas as orações que certamente me ajudaram a alcançar meus objetivos.

RESUMO

Biocerâmicas porosas têm sido utilizadas como suporte para crescimento de células ósseas por guiarem o crescimento celular, mimetizando a matriz extracelular e outras moléculas biológicas, o que facilita a formação de tecidos e órgãos funcionais. Fosfatos de cálcio são conhecidos pela sua grande similaridade química e morfológica com a parte mineral dos tecidos ósseos. Essa similaridade permite a osteocondução, sendo este biomaterial substituído por tecido ósseo novo com o tempo e com a vantagem de não desencadear processos inflamatórios e de corpo estranho, com eventual expulsão do material implantado. Este estudo teve como objetivo obter materiais de fosfato de cálcio poroso, com potencial uso como *scaffolds* ou arcabouços para uso em engenharia de tecidos através de um método simples e de baixo custo, por meio da utilização de sílica coloidal, fosfato tricálcico e microesferas de parafina como agente formador de poros. Neste trabalho foi abordada a utilização de β -TCP na confecção dos suportes tridimensionais através da variação das quantidades de pó e de microesferas de parafina avaliando-se suas influências na porosidade e resistência mecânica dos corpos porosos obtidos. A porosidade dos *scaffolds* fabricados com esferas de parafina foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e seu comportamento mecânico foi avaliado a partir de testes de compressão. São necessários maiores estudos para avaliar a citotoxicidade desse material e seu comportamento em cultivo celular e quando implantado.

Palavras chave: Fosfato tricálcico, *scaffolds*, microesferas de parafina, biocerâmicas, biomateriais.

SUMÁRIO

RESUMO	3
SUMÁRIO	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
LISTA DE TABELAS	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO	10
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 BIOMATERIAIS	11
3.2 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOMATERIAIS	12
3.3 APLICAÇÃO DOS BIOMATERIAIS	13
3.4 BIOCERÂMICAS	14
3.4.1 Hidroxiapatita	15
3.4.2 Fosfato Tricálcico (TCP)	17
3.4.3 Outros Fosfatos de Cálcio	18
3.4.4 Biovidros	20
3.5 ENGENHARIA DE TECIDOS	21
3.5.1 Materiais para Scaffolds	22
3.5.1.1 Scaffolds de Biopolímeros	23
3.5.1.2 Scaffolds de Biocerâmicas	24
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	26
4.1 OBTENÇÃO DO FOSFATO TRICÁLCICO (TCP)	26
4.2 OBTENÇÃO DAS ESFERAS DE PARAFINA	26
4.3 OBTENÇÃO DOS BIOMATERIAIS POROSOS	26
4.4 CARACTERIZAÇÃO	28
4.4.1 Difração de raios X	28
4.4.2 Espectroscopia de Infravermelho	28
4.4.3 Difração de Laser (granulometria)	28
4.4.4 Análise Termodiferencial	29
4.4.5 Porosidade	29
4.4.6 Resistência Mecânica a Compressão	30
4.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO FOSFATO TRICÁLCICO	32
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS ESFERAS DE PARAFINA	35
5.3 OBTENÇÃO DOS MATERIAIS POROSOS	37
5.3.1 Influência da formulação dos corpos porosos sobre a porosidade	39
5.3.2 Influência da formulação dos corpos porosos sobre a resistência mecânica	44
6. CONCLUSÕES	46
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1: Aplicação de Biocerâmicas: A. Reparos cranianos; B. Lentes Oculares; C. Otorrinolaringologia; D. Reconstrução maxilofacial; E. Implantes Dentários; F. Aumento de Rebordo Alveolar; G. Preenchimento de cavidade periodontal; H. Acessos Percutâneos; I. Válvulas cardíacas; J. Cirurgias de Coluna; K. Reparo de Crista Ilíaca; L. Preenchimento de Cavidades Ósseas; M. Aplicações Ortopédicas sobre Carga; N. Fixação Ortopédica; O. Articulações (Hench, 1993).	14
Figura 3.2: Estrutura cristalina da hidroxiapatita (McGregor, 1998).	16
Figura 3.3: Diagrama de Hench (Hench 1993).	21
Figura 3.4: Técnica da engenharia de tecidos (Freed <i>et al.</i> , 1993).	22
Figura 4.1: Fluxograma de obtenção dos corpos porosos.....	27
Figura 5.1: Histograma da distribuição de tamanho de partículas para o fosfato tricálcico obtido após 30 minutos de moagem em álcool.....	32
Figura 5.2: Espectroscopia de infravermelho do pó de fosfato tricálcico calcinado a 1000°C. ..	33
Figura 5.3: Difrátograma de raios X do pó de fosfato tricálcico calcinado a 1000°C.	34
Figura 5.4: Fotomicrografia da amostra do fosfato tricálcico calcinado a 1000°C.	35
Figura 5.5: Fotomicrografia mostrando as microesferas de parafina utilizadas na confecção de poros dos corpos de prova.....	36
Figura 5.6: Termograma mostrando a curva de degradação da parafina.....	37
Figura 5.7: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T1,5:P1 (10 g de sílica coloidal, 15 g de fosfato tricálcico e 10 g de esferas de parafina).	40
Figura 5.8: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T1,5:P1,5 (10 g de sílica coloidal, 15 g de fosfato tricálcico e 15 g de esferas de parafina). .	40
Figura 5.9: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T1,5:P2 (10 g de sílica coloidal, 15 g de fosfato tricálcico e 20 g de esferas de parafina).	41
Figura 5.10: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T2:P1 (10 g de sílica coloidal, 20 g de fosfato tricálcico e 10 g de esferas de parafina).	42
Figura 5.11: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T2:P1,5 (10 g de sílica coloidal, 20 g de fosfato tricálcico e 15 g de esferas de parafina).	42
Figura 5.12: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T2:P2 (10 g de sílica coloidal, 20 g de fosfato tricálcico e 20 g de esferas de parafina).	43

Figura 5.13: Gráfico mostrando a variação da porosidade com relação à quantidade de parafina e TCP utilizados na confecção dos corpos de prova. 44

Figura 5.14: Gráfico mostrando a variação da resistência mecânica com relação à quantidade de parafina e TCP utilizados na confecção dos corpos de prova. 45

Figura 5.15: Gráfico mostrando a variação da densidade com relação à quantidade de parafina e TCP utilizados na confecção dos corpos de prova. 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Forma, Fase e Função de Biocerâmicos (Hench, 1993).....	15
Tabela 3.2: Classificação e resposta biológica de compostos de fosfato de cálcio (Le Geros, 1991).	18
Tabela 3.3: Crescimento tecidual de acordo como tamanho dos poros (Matsura, 1995).	24
Tabela 5.1: Formulações dos corpos de prova produzidos.....	39

1. Introdução

O aumento da expectativa de vida, devido a avanços da medicina e da maior preocupação com a alimentação e saúde tem resultado no aumento da população de idosos e consequentemente de doenças relacionadas à velhice. A osteoporose e a perda de massa óssea são algumas das doenças que afetam idosos, entretanto os problemas de estrutura óssea não são apenas “doenças de velhos”, indivíduos jovens também estão sujeitos a estes problemas em decorrência de acidentes, notadamente os automobilísticos e os de trabalho (Kawachi, 2000).

A magnitude desses problemas tem levado pesquisadores à procura de materiais que possam substituir de forma apropriada os ossos danificados. O desenvolvimento de biomateriais mostra-se fundamentalmente importante uma vez que representa um aumento na expectativa de vida, na saúde em geral e no bem estar da população. Dessa forma, observa-se nos últimos anos um aumento significativa no interesse e na produção de novas tecnologias nessa área.

Um componente chave para a regeneração óssea são os *scaffolds*, suportes tridimensionais que servem como um molde para interações celulares e a formação da matriz extracelular para fornecer a sustentação estrutural ao novo tecido formado. Existem muitos critérios para um *scaffold* ideal para regeneração óssea e nenhum material ou *scaffold* foi até hoje desenvolvido de forma a atender todas essas necessidades. Simplificando, *scaffolds* são geralmente desenhados para imitar a estrutura e propriedades dos órgãos os quais eles substituem (Jones, 2008).

Entretanto, imitar ossos é complexo, uma vez que os ossos têm uma estrutura hierárquica complicada. Esses têm duas macroestruturas: osso cortical denso e compacto e uma estrutura suporte de osso trabecular que é uma teia de macroporos abertos (osso trabecular: poroso e esponjoso). Sua nanoestrutura consiste de uma matriz de fibras de colágeno que promove resistência à tração e tenacidade, algumas outras proteínas (~5%), e nanocristais de hidroxiapatita. Um *scaffold* bem sucedido irá imitar essa estrutura e será reabsorvido ao longo do tempo promovendo total regeneração óssea sem evidência de tecido cicatricial. Portanto o material não deve apenas estimular e suportar o crescimento em três dimensões, mas deve também degradar a taxa na qual o tecido se forma, e importante, este deve ainda ter habilidade adicional para resistir às condições de carregamento experimentadas *in situ*. O suporte mecânico deve continuar à medida que o material degrada, até que o novo tecido possa suportar a carga (Jones, 2008).

A utilização de certos materiais como implantes não é um conceito novo. Os biomateriais são utilizados desde o tempo em que o homem dava seus primeiros passos na medicina e na odontologia, mas só depois da segunda guerra mundial houve um avanço significativo nesse ramo da engenharia de materiais.

Cerâmicas porosas à base de hidroxiapatita e fosfato de cálcio possuem grande potencial de aplicação na área de implantes ósseos, principalmente na reconstituição, reparos

e preenchimento de cavidades ósseas decorrentes de processos inflamatórios, acidentes ou osteoporose (Ravaglioli, 1995; Hench, 1993). Os implantes porosos possuem uma elevada área superficial, o que permite uma maior área de contato entre o implante e o tecido hospedeiro, o que aumenta a resistência da interface e evita mobilidade do implante, diminuindo assim as chances de respostas inflamatórias. A presença de macroporosidade interconectada provê um reticulado permeável que permite a incorporação e crescimento de tecido ósseo em seu interior. (Ravaglioli, 1995; Hench, 1993)

Existem diversos métodos para a obtenção de cerâmicas porosas, sendo os mais usuais (Sepúlveda, 1997): controle da sinterização; sol-gel; replicação de estruturas poliméricas porosas; formação de espuma em suspensões cerâmicas; incorporação de materiais voláteis eliminados durante a queima, ou seja, a fração, tamanho e distribuição do volume de poros produzidos são determinados pela quantidade e tamanho da fase volátil, que pode ser naftaleno, cera, farinha, carvão, polímeros diversos. Após a sinterização, o corpo final apresenta poros com o mesmo tamanho das fases orgânicas inseridas na mistura.

O desenvolvimento de estruturas porosas de fosfato de cálcio é de grande utilização em engenharia de tecidos, além de outras áreas da traumatologia. Existem diversos trabalhos publicados na área de biomateriais no Brasil, em especial sobre a obtenção e caracterização de hidroxiapatita na forma de pó. Entretanto, são poucos os trabalhos sobre o sistema β -fosfato tricálcico (β -TCP), e principalmente não há muitos trabalhos nacionais referentes à obtenção de estruturas porosas desses materiais. Apesar disso, a obtenção de materiais porosos requer tecnologias de processamento de pós e de caracterização de biomateriais que são disponíveis no país, o que pode permitir a obtenção de materiais com custos relativamente baixos e de elevada qualidade.

2. Objetivo

O objetivo do trabalho é a obtenção de fosfato de cálcio poroso, com potencial uso como *scaffolds* ou arcabouços para uso em engenharia de tecidos, através de um método simples e de baixo custo, por meio da utilização de sílica coloidal, fosfato tricálcico e microesferas de parafina como agente formador de poros.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Biomateriais

A aplicação de biomateriais remonta à pré-história, no entanto, a palavra “biomaterial” como a utilizamos atualmente, há poucos anos foi introduzida na nomenclatura médica (Gutierrez et. al., 2006).

A definição de biomateriais mais aceita atualmente é a da Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas, de 1982, a qual conceitua biomaterial como “Toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais” (Williams, 1987).

Inúmeros fatores devem ser considerados antes que um material possa ser utilizado como implante. Como característica imprescindível, estes materiais devem ser biocompatíveis, ou seja, devem atender aos requisitos para os quais foram projetados, não estimulando ou provocando o mínimo de reações alérgicas ou inflamatórias (Vallet-Regí et. al., 1997).

Assim, biocompatibilidade pode ser entendida como a habilidade do material e de seus possíveis produtos de degradação de serem tolerados pelos tecidos envoltórios e não causarem prejuízo ao organismo a curto e longo prazo. Para um material ser aceito como um material de implante é necessário que ele atenda a alguns requisitos fundamentais:

- O material deve ser biocompatível, ou seja, sua presença não deve causar efeitos nocivos no local do implante ou no sistema biológico;
- Os tecidos não devem causar a degradação do material, como por exemplo corrosão em metais, ou pelo menos de forma tolerável;
- O material deve ser biofuncional, ou seja, deve ter as características mecânicas adequadas para cumprir a função desejada, pelo tempo desejado;
- O material deve ser esterilizável.

Embora biomateriais sejam primeiramente usados para aplicações médicas, também são usados em diversas aplicações, tais como dispositivos para crescimento de células em uma cultura, para análise de proteínas sanguíneas em laboratório clínico, em equipamentos para processamento de biomoléculas, entre outras.

3.2 Classificação dos Biomateriais

Os materiais podem ser classificados de acordo com seu comportamento biológico, baseado na resposta do tecido hospedeiro, em (Hench & Wilson, 1993):

Biotoleráveis: materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes por meio da formação de camada envoltória de tecido fibroso. Esta camada é induzida por meio da liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. Quanto maior a espessura a camada de tecido fibroso formada, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos como também a grande maioria dos metais.

Bioinertes: materiais também tolerados pelo organismo, mas em que a formação de tecido envoltório fibroso é mínima, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, o faz em quantidades mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima, a resposta fagocítica será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após o implante. Em alguns casos esta camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio, ligas de titânio e carbono.

Bioativos: materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo (osteointegração). Em função da similaridade química entre estes materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a eles, permitindo a osteocondução por meio do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio.

Reabsorvíveis: materiais que, após certo período de tempo em contato com os tecidos, acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas em função de ser desnecessária nova intervenção cirúrgica para a retirada do material de implante. Os principais exemplos desses materiais são o fosfato tricálcico (TCP) e o poli(ácido láctico).

Outra classificação dos biomateriais é dada por (Vallet-Regí et. al., 1997):

Biomédicos: a qual considera todos os materiais, biocompatíveis, de origem artificial.

Biológicos: a qual considera todos os materiais, biocompatíveis, de origem natural.

Pode-se ainda classificar os biomateriais segundo sua composição química em: metais e ligas metálicas, cerâmicos, polímeros e compósitos (Gutierrez et. al., 2006).

3.3 Aplicação dos Biomateriais

Devido ao aumento na expectativa de vida, aumenta o número de pacientes nos hospitais em função principalmente da ocorrência de osteoporose e acidentes com lesões graves por meio de veículos de transporte. Esta demanda por próteses, implantes e equipamentos médicos, gera a necessidade de avanços no campo dos biomateriais e pesquisas em biotecnologia.

O critério de seleção de biomateriais é baseado principalmente na aplicação a que se destinam. Por exemplo, para dispositivos que fiquem em contato com o sangue, esses materiais são:

- Componentes de dispositivos extracorpóreos que removem e retornam sangue do corpo;
- Dispositivos que são inseridos em um vaso sanguíneo;
- Dispositivos que ficam permanentemente implantados.

Para dispositivos de aplicações em tecidos moles, os materiais se propõem a aumentar ou redefinir o tecido (ex.: implantes de seios e implantes faciais). Em aplicações ortopédicas e odontológicas, os materiais são componentes de implantes estruturais (ex.: próteses de juntas e implantes de raiz de dentes) ou são usados para reparar defeitos ósseos (ex.: parafusos e pinos inseridos em osso) (Prado da Silva, 2007).

Entre os principais biomateriais para implantação em tecido ósseo utilizado nas áreas de odontologia e ortopedia, estão as cerâmicas vítreas e de cálcio/fosfato, os metais e os polímeros.

Os biomateriais devem ser isentos de produzir qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja: o material deve ser não-tóxico, não-carcinogênico, não-antigênico e não-mutagênico. Em aplicações sanguíneas, eles devem também ser não-trombogênicos. As complicações oriundas dos dispositivos implantados irão variar de acordo com a sua aplicação. Por exemplo, infecções e biodegradação irão afetar dispositivos que têm aplicações de longa duração como próteses permanentes e válvulas cardíacas (Prado da Silva, 2007).

Ao ser aplicado, deve manter as suas propriedades e características estruturais, mas simultaneamente substituir a função para a qual foi criado.

É também importante que permita uma boa adesão celular à sua superfície, tenha uma resistência mecânica adequada, não tenha características oncogênicas, seja hemostático, esterilizável e, por fim, que a sua produção em grandes quantidades seja fácil e com custos aceitáveis (Gutierrez et. al., 2006).

3.4 Biocerâmicas

Cerâmicas projetadas e fabricadas para reparar e reconstruir partes do corpo danificadas ou doentes são chamadas biocerâmicas. Entre as aplicações clínicas das biocerâmicas estão reparos no sistema esquelético, articulações e dentes, e utilização em válvulas cardíacas. Formulações especiais de vidros também são usadas terapêuticamente para o tratamento de tumores (Hench, 1993).

Biocerâmicas são também usadas para preencher espaço enquanto o processo natural de reparo restaura sua função. Em outras situações a cerâmica é usada como revestimento em um substrato, ou como uma segunda fase em um compósito, combinando as características de ambos em um novo material com propriedades bioquímicas e mecânicas reforçadas. A Figura 3.1 apresenta uma variedade de aplicações para as biocerâmicas (Hench, 1993).

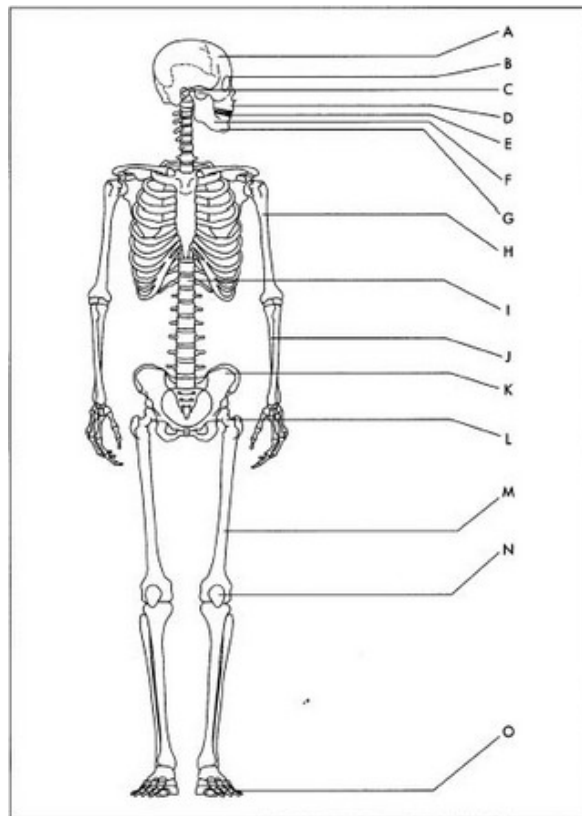


Figura 3.1: Aplicação de Biocerâmicas: A. Reparos cranianos; B. Lentes Oculares; C. Otorrinolaringologia; D. Reconstrução maxilofacial; E. Implantes Dentários; F. Aumento de Rebordo Alveolar; G. Preenchimento de cavidade periodontal; H. Acessos Percutâneos; I. Válvulas cardíacas; J. Cirurgias de Coluna; K. Reparo de Crista Ilíaca; L. Preenchimento de Cavidades Ósseas; M. Aplicações Ortopédicas sobre Carga; N. Fixação Ortopédica; O. Articulações (Hench, 1993).

As biocerâmicas são produzidas em uma variedade de formas e fases e servem para diferentes funções no reparo do corpo, as quais estão resumidas tabela 3.1. A fase ou fases usadas dependem das propriedades e funções requeridas.

Tabela 3.1: Forma, Fase e Função de Biocerâmicos (Hench, 1993).

Forma	Fase	Função
Pó	Policristalino	Preenchimento de espaço, tratamento terapêutico, regeneração de tecidos
	Vidro	
Revestimento	Policristalino	Ligação tecidual, tromboresistência, proteção contra a corrosão
	Vidro	
	Vitrocerâmico	
Carga	Monocristal	Substituição e aumento de tecido, substituição de partes funcionais
	Policristalino	
	Vidro	
	Vitrocerâmico	
	Compósito (Multi-fase)	

3.4.1 Hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HA) é um fosfato de cálcio hidratado de composição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, componente majoritário (cerca de 95%) da fase mineral dos ossos e dentes humanos. A hidroxiapatita é o material que compõe o esqueleto dos vertebrados, devido à sua capacidade de atuar como reserva de cálcio e fósforo.

Apatitas biológicas são conhecidas pela sua ocorrência em forma não-estequiométrica, usualmente com baixa razão Ca/P, e contêm, apesar das suas imperfeições e defeitos estruturais, quantidades substanciais de íons estranhos tais como CO_3^{2-} , citrato, Mg^{2+} , Na^+ e traços de Cl^- , F^- , K^+ , Sr^{2+} , e outros íons metálicos (Hench & Wilson, 1993).

A estrutura da hidroxiapatita pertence ao sistema hexagonal, grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$ (caracterizado por um eixo C de 6 unidades perpendiculares a 3 eixos equivalentes mantendo um triângulo de 120°), com dimensões de célula cristalina de $a = 0,9423 \text{ nm}$ e $c = 0,6875 \text{ nm}$. Esses valores das dimensões de célula unitária valem para hidroxiapatita mineral ou hidroxiapatita pura preparada por reação em estado sólido ou precipitação e sinterização a 1100°C . A célula unitária de hidroxiapatita tem seis grupos PO_4^{-3} , cinco grupos Ca^{+2} e dois grupos OH^- . A estrutura cristalina da hidroxiapatita é mostrada na figura 3.2.

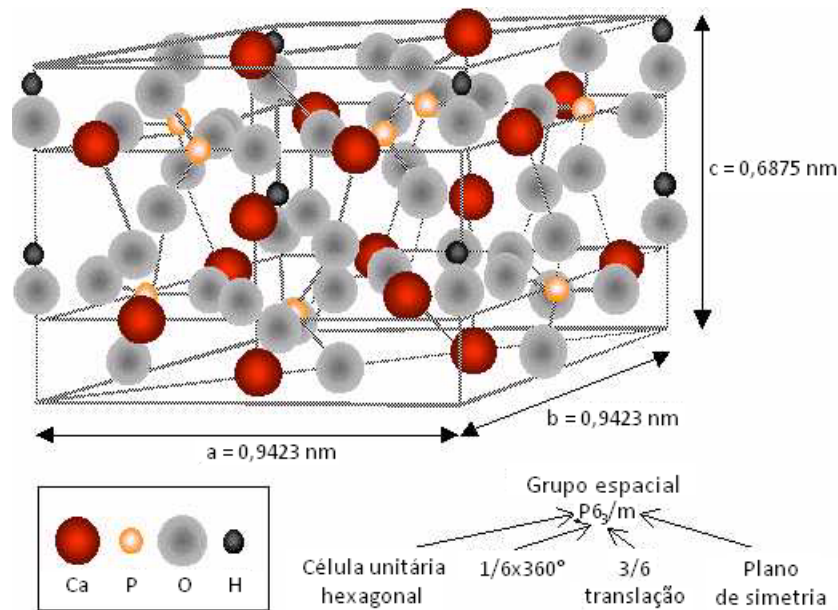


Figura 3.2: Estrutura cristalina da hidroxiapatita (McGregor, 1998).

Devido à grande similaridade química da hidroxiapatita com a fase mineral dos tecidos ósseos, a HA é um dos materiais mais biocompatíveis conhecidos, favorecendo o crescimento ósseo para os locais em que ela se encontra (osteocondutor), estabelecendo ligações de natureza química com o tecido ósseo, permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo que as células não distinguem entre a hidroxiapatita e a superfície óssea.

A biocompatibilidade da HA sintética não é apenas sugerida pela sua composição, mas também pelos resultados da implantação *in vivo*, a qual não produziu toxicidade local e sistêmica, inflamação e nenhuma resposta a corpo estranho. Este contato parece ser direto, sem a intervenção de uma camada fibrosa. Durante testes mecânicos, fratura frequentemente ocorre através do osso e/ou HA, e não na interface osso-HA. O vínculo íntimo do novo osso e HA é a principal vantagem do uso de HA como um substituto ao enxerto ósseo (Hench & Wilson, 1993).

A superfície da hidroxiapatita permite a interação de ligações do tipo dipolo, fazendo que moléculas de água, proteínas e colágeno sejam adsorvidas na superfície induzindo, assim, a regeneração tecidual. As principais aplicações da hidroxiapatita são reparos de defeitos ósseos em aplicações odontológicas e ortopédicas, aumento de rebordo alveolar, regeneração guiada de tecidos ósseos, reconstrução bucomaxilofacial, equipamentos percutâneos, reparo e substituição de paredes orbitais, substituição do globo ocular e recobrimento de implantes metálicos.

A hidroxiapatita é solúvel em soluções ácidas, enquanto que em soluções alcalinas a HA se apresenta insolúvel, e fracamente solúvel em água destilada. Porém, a solubilidade da hidroxiapatita em água destilada aumenta com a adição de eletrólitos (Aoki, 1991).

A solubilidade da hidroxiapatita sintética é extremamente baixa, sendo que para a HA sinterizada a taxa de solubilidade em tecido subcutâneo é cerca de 0,1 mg/ano. Entretanto, a hidroxiapatita pode apresentar-se em diferentes formas, porosidade, cristalinidade, defeitos cristalinos, entre outros, o que interfere diretamente na solubilidade e capacidade de absorção pelo organismo do material. Assim, é possível obter-se hidroxiapatita desde praticamente não absorvível até totalmente absorvível em meio fisiológico em função dos diferentes métodos e condições de obtenção (AOKI, 1991). É importante ressaltar que a solubilidade da hidroxiapatita não cristalina – deficiente em cálcio – é menor que a hidroxiapatita pura – estequiométrica.

A hidroxiapatita apresenta uma estrutura favorável à invasão vascular, mas a lentidão de reabsorção e integração assim como a dificuldade em manter os grânulos no local do defeito ósseo, levou à necessidade de criar compósitos e pastas com características de biofuncionalidade superiores às dos seus constituintes individualmente (Gutierrez et. al., 2006).

3.4.2 Fosfato Tricálcico (TCP)

O fosfato tricálcico (TCP) é o composto que apresenta relação Ca/P mais similar à hidroxiapatita, como se pode observar através da tabela 3.2 (LE GEROS, 1991), demonstrando-se como constituinte mais provável de aceitação na resposta biológica. O TCP existe sob duas formas alotrópicas: α e β , contendo cerca de 39% de cálcio e 20% de fósforo (Gutierrez et. al., 2006).

O fosfato tricálcico é solúvel em soluções ácidas, enquanto que em soluções alcalinas o TCP se apresenta insolúvel. Além disso, a solubilidade do fosfato tricálcico modifica-se na presença de aminoácidos, proteínas, enzimas e outros compostos orgânicos. Contudo, sua taxa de solubilidade depende diretamente da forma, porosidade, tamanho de cristal, cristalinidade, defeitos, etc.

Tabela 3.2: Classificação e resposta biológica de compostos de fosfato de cálcio (Le Geros, 1991).

Composto	Sigla	Fórmula Química	Ca/P	Resposta Biológica
Metafosfato de Cálcio	CMP	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5	Forte atividade macrofágica
Pirofosfato de Cálcio	CPP	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1	Forte atividade macrofágica
Fosfato Dicálcico Anidro	DCP	CaHPO_4	1	Fraca atividade macrofágica
Fosfato Dicálcico Dihidratado	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1	Fraca atividade macrofágica
Fosfato Octacálcico Pentahidratado	OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,33	Absorvível
Fosfato Tricálcico	TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	Absorvível
Hidroxiapatita	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	Ativo biologicamente
Fosfato Tetracálcico	TeCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2	Sem relevância clínica

As principais desvantagens do TCP, comparativamente com a hidroxiapatita, referem-se a sua falta de suporte estrutural provocada pela sua reabsorção relativamente rápida, em função da sua macroporosidade (Gutierrez et. al., 2006).

3.4.3 Outros Fosfatos de Cálcio

Além da hidroxiapatita discutida anteriormente em virtude da sua importância e extensivo uso comercial, existe ainda uma extensa lista de compostos de fosfato de cálcio. Os compostos de fosfato de cálcio são substâncias similares quimicamente às que ocorrem nos processos biológicos, podendo ou não ser utilizadas como biomaterial em decorrência de sua resposta biológica.

Materiais para implantes de fosfato de cálcio são compostos dos mesmos íons os quais compõem a maior parte do mineral do osso natural. Devido a isso, esses materiais quando implantados no osso são capazes de participar em soluções sólidas de fosfato de cálcio em equilíbrio com sua superfície. Os íons de cálcio e fosfato necessários para estabelecer seu equilíbrio podem ser derivados do implante, do osso que o cerca ou de ambos (Hench, 1993).

O termo “cimentos de fosfato de cálcio” foi primeiramente utilizado por Gruninger e colaboradores (Driessens et al. 1993) e é descrito como uma mistura de pós, que se misturada à água ou a uma solução aquosa forma uma pasta que reage a temperatura ambiente precipitando cristais de fosfatos de cálcio que endurecem através do entrelaçamento dos mesmos.

O primeiro cimento ósseo de fosfato de cálcio foi sinterizado por Brown e Chow em 1985, através da mistura de pós de tetracálcio fosfato (TTCP) e dicálcio fosfato (DCPA), que davam pega quando misturados à água devido à dissolução dos fosfatos cálcio e à precipitação de cristais de hidroxiapatita (HA). Apesar de apresentar várias formulações possíveis, os CFCs podem apenas resultar em dois produtos finais: hidroxiapatita precipitada (PHA, apatita) e dicálcio fosfato diidratado (DCPD, bruchita).

Esses cimentos reúnem uma série de vantagens que permitem o seu uso como preenchimento e substituição de partes danificadas do sistema ósseo sendo as principais:

- Não ser necessário dar forma ao preenchimento;
- Mínima cavidade do preenchimento;
- A preparação é realizada durante o ato cirúrgico;
- Existe um ótimo contato entre osso e implante;
- Biocompatibilidade e bioatividade.

Para que este material tenha aplicabilidade clínica algumas exigências devem ser satisfeitas, tais como (Lemaitre et al., 1987): ausência de toxicidade, perfeita adesão ao tecido duro, ausência de propriedades alógenicas ou carcinogênicas, fácil manipulação, dar pega e endurecer *in vivo* dentro de um tempo razoável, resistência mecânica apropriada e permanente, reabsorbilidade, ser condutor e estimulador da formação de novo tecido ósseo, ter tempos de pega e endurecimento controláveis.

Portanto, um cimento ósseo ideal apresenta as seguintes características (Driessens et al. 1997):

- O tempo requerido para a mistura deve ser curto: 1 min ou menos;
- O tempo de pega deve ser tal que permita a manipulação apropriada do material sem ser demasiadamente longo: a pega deve iniciar-se por volta de 5 min e finalizar-se entre 15 ou 20 min;
- O tempo de preparo da massa (tempo durante o qual se pode moldar o material sem afetar sua resistência final) deve ser próximo ao tempo de pega inicial: por volta de 5 min;
- O tempo de coesão (o momento a partir do qual o cimento não se incha nem se desintegra em contato com os fluidos corporais) deve ser mais curto que o tempo de preparo e de pega inicial;

- A resistência à compressão final deve ser pelo menos similar à do tecido reparado;
- Não deve produzir calor durante a pega;
- O pH deve ser neutro (6,5 - 8,5) durante e depois da pega para evitar efeitos citotóxicos.

3.4.4 Biovidros

Em escala de estrutura atômica, o que difere os materiais vítreos dos materiais cristalinos é a ausência de periodicidade. Os vidros são normalmente formados por tratamento térmico de fusão seguido de um resfriamento rápido até a solidificação sem que haja cristalização (Gutierrez et. al., 2006). A taxa de resfriamento é extremamente importante para estes materiais, uma vez que taxas excessivamente lentas permitem o rearranjo dos átomos que se encontram dispersos na fase líquida, provocando a cristalização do material.

A constituição dos vidros é essencialmente à base de sílica (vidros silicatados) ou de fósforo (vidros fosfatados), consoante o formador de vidro usado. Estes últimos são mais facilmente fundidos e quimicamente mais instáveis que os silicatados (Gutierrez et. al., 2006). Vidros podem também ser formados utilizando-se modificadores de rede, normalmente íons alcalinos (Na, K). Tais componentes permitem a formação de materiais vítreos devido à ocupação pelos íons alcalinos de sítios aleatórios na estrutura da sílica, o que ocasiona a formação de uma estrutura que não apresenta periodicidade. Outros íons podem ainda ser adicionados a essa estrutura aleatória, permitindo a modificação de suas propriedades.

Larry Hench (Hench, 1993) foi o pioneiro da utilização de vidros bioativos para fins biomédicos. Biovidro (Bioglass®), desenvolvido em 1971 por Hench, Universidade da Flórida – Gainesville, é o nome dado a uma série de composições de vidros baseados no sistema SiO_2 , Na_2O , CaO , P_2O_5 e que permitem a ligação do tecido ósseo a esses materiais, por meio da deposição de uma camada de hidroxicarbonatoapatita (HCA) biológica, que permite a ligação interfacial. A ligação resultante é extremamente resistente, equivalendo ou superando a resistência mecânica do material de implante ou do tecido ligado ao implante (Hench, 1993).

A capacidade de um vidro se ligar ao tecido ósseo, sofrer biodegradação e formar uma camada de apatita superficial, varia em função da sua composição e relação dos seus constituintes (Gutierrez et. al., 2006). O diagrama de Hench ilustra, para vidros silicatados, este conceito de comportamento biológico em função da composição química.

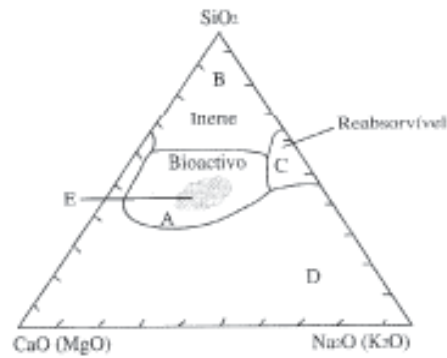


Figura 3.3: Diagrama de Hench (Hench 1993).

Os biovidros da zona:

A - estabelecem uma união com o osso

B - são inertes

C - são reabsorvíveis

D - não tem interesse biomédico

E - ligam-se quer aos tecidos ósseos quer aos tecidos moles

As principais aplicações dos biovidros são: recomposição do assoalho das órbitas oculares, substituição dos ossículos do ouvido médio, preenchimento de cavidades, equipamentos percutâneos, tratamento de doença periodontal, recobrimento de próteses de quadril.

3.5 Engenharia de Tecidos

A engenharia de tecidos (ET) é uma nova área promissora de pesquisa interdisciplinar (Rob, 2008; O'shea, 2008), combinando o conhecimento de pesquisadores em ciências da saúde, biologia, ciência dos materiais e engenharia, a qual é uma potencial fonte para tratamento de várias doenças e cirurgias reparadoras.

A ET compreende todos os métodos e esforços para criar ou induzir a formação de tecidos específicos em local específico, através da seleção e manipulação de três elementos principais (Muschler, 2002; O'shea, 2008; Khang, 2007): (1) células, células que são colhidas e dissociadas do tecido doador, incluindo nervos, fígado, pâncreas, cartilagens, bem como embrionárias/estaminais adultas ou células precursoras; (2) biomateriais como *scaffolds* (suportes biológicos ou sintéticos) nos quais as células serão atacadas e cultivadas, resultando em implantação no local desejado; e (3) fatores de crescimento que promovam e/ou evitem adesão celular, proliferação, migração e diferenciação regulando a síntese de proteínas,

fatores de crescimento e receptores. A figura 3.4 adaptada de Freed e colaboradores (Freed et al, 1993) ilustra o desenvolvimento idealizado da técnica da engenharia de tecidos.

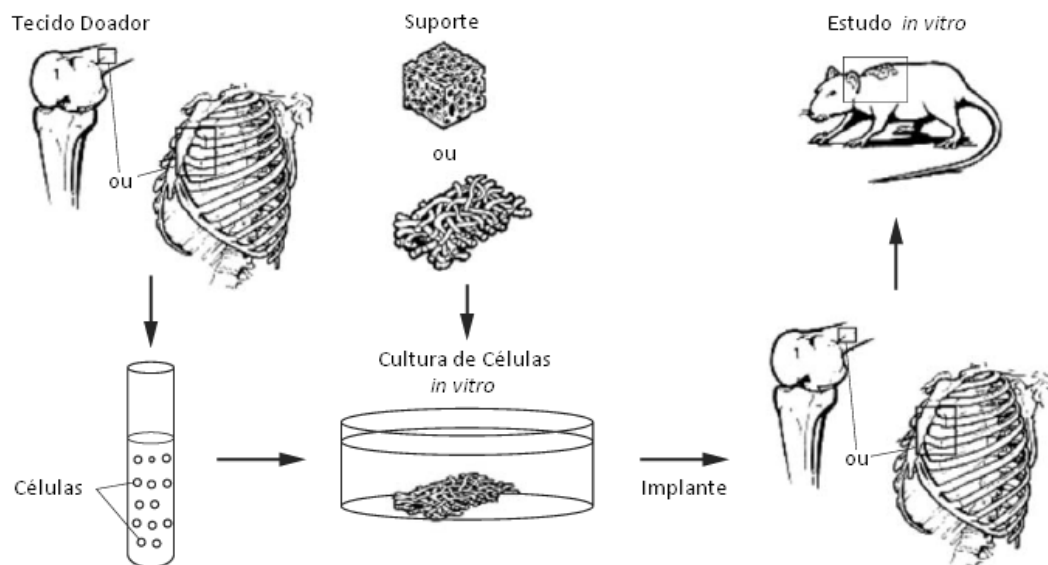


Figura 3.4: Técnica da engenharia de tecidos (Freed *et al.*, 1993).

Buscando uma padronização tanto na terminologia como na metodologia de pesquisa e aplicação dos produtos preparados pela engenharia de tecidos, a regulamentação vem sendo feita por normas ASTM (entre elas F2312-03, F2027-00e1 e F2150-02e1) e por órgãos governamentais de países da Europa, Japão, Canadá e outros (Lloyd-Evans, 2004). De uma forma geral, a preparação dos produtos da engenharia de tecidos seguem as seguintes etapas:

- Seleção e processamento do suporte;
- Inoculação da população celular sobre o suporte;
- Crescimento do tecido prematuro;
- Crescimento do tecido maturado em sistema fisiológico (bioreator);
- Reimplante cirúrgico;
- Assimilação do produto.

3.5.1 Materiais para Scaffolds

Para um *scaffold* para regeneração óssea ser bem sucedido em uma implantação direta em qualquer tipo de defeito ósseo, este deve (Jones, 2008):

- Ser biocompatível (ou seja, induzir resposta mínima ou imune *in vivo*);
- Promover adesão celular, aderir ao osso e estimular osteogênese;
- Agir como suporte para o crescimento ósseo e, portanto deve ter uma estrutura porosa interconectada que possa permitir o crescimento celular interno, vascularização e fornecimento de nutrientes;
- Ser reabsorvível com segurança no corpo e ter uma taxa de degradação controlável;
- Exibir propriedades mecânicas similares às do osso hospedeiro;
- Ter processo de fabricação que permita ao *scaffold* ser moldado a se adequar à faixa de defeitos geométricos; e
- Ser esterilizável e encontrar os requisitos regulatórios para uso clínico.

3.5.1.1 Scaffolds de Biopolímeros

Biopolímeros podem ser empregados à engenharia de tecidos visando promover a adesão celular, manutenção da função de diferenciação celular sem impedir a proliferação, como moldes para organizar e direcionar o crescimento de células e auxiliar na função da matriz extracelular (Yang, 2003). *Scaffolds* de polímeros biodegradáveis são o principal interesse nesse campo, como uma amostra tridimensional para guiar a regeneração tecidual em diferentes aplicações (Shum, 2004).

Células são semeadas e cultivadas para se desenvolverem em tecidos ou *scaffolds* biodegradáveis, que eventualmente desaparecem com o tempo. Tipicamente, *scaffolds* desenvolvidos a partir de polímeros biodegradáveis são fabricados usando lixiviação de partículas, tecnologias têxteis ou técnicas de impressão tridimensionais. No método de lixiviação de partículas, uma matriz é criada através da moldagem de uma solução polimérica saturada de partículas solúveis em água, tais como NaCl. Evaporando o solvente e posteriormente o sal, tem-se como produto um *scaffold* poroso (Chen, 2003).

O poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido lático) (PLA), e seus copolímeros Poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) são uma família de poliésteres alifáticos lineares frequentemente utilizados em engenharia de tecidos (Ma, 2004; Zhang, 2001; Pachence, 2000). Esses polímeros degradam através da hidrólise de suas ligações éster.

O PGA é um dos polímeros mais utilizados na fabricação de *scaffolds*. Devido a sua hidrofiliabilidade relativamente natural, o PGA degrada rapidamente em soluções aquosas ou *in vivo*, e perde a integridade mecânica entre duas a quatro semanas (Ma, 1995).

O PLA também é um biopolímero amplamente utilizado para fabricação de *scaffolds*. O grupo metil extra na unidade repetitiva do PLA (comparado com o PGA) faz com que tenha maior hidrofobicidade e uma menor taxa de hidrólise. São necessários muitos meses ou alguns

anos para um implante ou *scaffold* de PLA perder a integridade mecânica *in vitro* ou *in vivo* (MA, 1995). Para obter-se uma taxa de degradação intermediária entre PGA e PLA são utilizadas razões entre ácido lático e ácido glicólico para sintetizar PLGAs. Esses polímeros (PLA, PGA e PLGAs) são alguns dos muitos polímeros sintéticos aprovado pela *US Food and Drug Administration* (FDA) para aplicações clínicas humanas.

Estudos realizados com *scaffolds* porosos, utilizando PLLA com uma estrutura similar a matriz extracelular natural para suportar a diferenciação neural e o crescimento de células neurais *in vitro*, foram realizados por Yang e colaboradores (Yang, 2002), a escolha do PLLA como polímero foi devido as suas propriedades biológicas e físico-químicas.

3.5.1.2 Scaffolds de Biocerâmicas

Uma classe importante de *scaffolds* para engenharia tecidos ósseos é baseada em cerâmicas bioativas e biodegradáveis e vidros, incluindo: hidroxiapatita, vidros bioativos de silicato e fosfatos de cálcio. Existem também fortes pesquisas na produção de *scaffolds* a partir de outros óxidos cerâmicos, tais como alumina, titânia e zircônia. Apesar destes não serem cerâmicas biodegradáveis, podem ser utilizados em aplicações *ex vivo* ou em bioreatores. (Yunos, 2008)

Tentativas de reproduzir a estrutura porosa do tecido ósseo natural levaram ao desenvolvimento das cerâmicas porosas. A razão para a utilização de cerâmicas porosas é fornecer local para o tecido ósseo crescer e fixar o implante biologicamente. Para o crescimento ocorrer, o tamanho do poro deve ser grande o bastante para acomodar as células juntamente com o sistema de irrigação sanguínea, ficando por volta de 100 a 200 μm de diâmetro (Hulbert et al., 1971; Karageorgiu, 2005)

O tecido responde diferentemente ao diâmetro do poro do material e é resumido na tabela 3.3 (Matsura, 1995).

Tabela 3.3: Crescimento tecidual de acordo como tamanho dos poros (Matsura, 1995).

Tamanho dos poros	Resposta do tecido
Menor que 10 μm	Sem crescimento
Entre 10 e 50 μm	Crescimento fibrovascular
Entre 50 e 150 μm	Formação de osteóide
Acima de 150 μm	Crescimento ósseo

Embora a morfologia específica ideal para a rede porosa ainda não esteja clara, é evidente que o tamanho de interconexão é o parâmetro mais importante da rede de poros para o crescimento do osso 3D. Deve-se ainda ressaltar que o osso deve ser vascularizado para sobreviver. Se as veias sanguíneas não povoam o *scaffold*, qualquer novo tecido que se formar morrerá (Jones, 2008).

Uma das aplicações para cerâmicas porosas que tem grande destaque no campo de biomateriais é a utilização destes materiais para a reconstituição, reparos e preenchimento de cavidades ósseas decorrentes de processos inflamatórios, acidentes ou osteoporose (Hench, 1993). Para tal, utilizam-se matérias primas de elevada pureza química e que não produzam reações tóxicas quando colocadas em contato com tecidos vivos.

4. Procedimento Experimental

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) do Departamento de Engenharia de Materiais da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.1 Obtenção do Fosfato Tricálcico (TCP)

O fosfato tricálcico utilizado para a fabricação dos *scaffolds* foi obtido da empresa IQUIMM Indústria Química, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

O TCP fornecido pela empresa IQUIMM foi o comercial de uso farmacêutico por ser matéria prima nacional de alto grau de pureza.

4.2 Obtenção das esferas de parafina

Para a obtenção de parafina na forma de microesferas utilizou-se uma solução aquosa contendo 500 mL de água deionizada, 4 g de poli(álcool vinílico) (PVAI) (Kuraray Poval) e 5 g de sulfato de sódio (Na_2SO_4) (Synth). A solução foi aquecida à 100°C e então adicionou-se parafina comercial (Petrobrás), aguardando-se a sua total fusão ($T_{m_{\text{parafina}}} = 67^\circ\text{C}$). O sistema foi colocado sob agitação mecânica (400 rpm) durante aproximadamente 10 minutos. Após a formação de uma espuma consistente, foi desligado o aquecimento e resfriou-se rapidamente com adição de água fria ($T_{\text{água}} \approx 5^\circ\text{C}$).

A mistura foi então colocada em uma torre de peneiras, e as esferas lavadas com água deionizada e separadas em três faixas de granulometria: 100 a 250 μm , 250 a 350 μm e 350 a 850 μm . As esferas foram secas à temperatura ambiente e armazenadas em dessecador.

4.3 Obtenção dos Biomateriais Porosos

Para a obtenção dos corpos porosos foi utilizada sílica coloidal da marca Bindzil, produzida pela Akzo Nobel, com pureza de 30%.

Primeiramente foi feita a correção do pH inicial da sílica coloidal (~ 11) para um valor igual ou próximo a 7. O ajuste de pH foi realizado através da adição de ácido acético (30% v/v) à sílica.

Após a correção do pH, foram adicionadas as microesferas de parafina à sílica coloidal, em proporção variada para determinação da quantidade de poros necessária para atender aos requisitos de um *scaffold* ideal.

Adicionou-se então o pó de fosfato tricálcico e a mistura foi homogeneizada, obtendo-se assim uma pasta. Esta pasta foi conformada em um molde confeccionado em aço inoxidável contendo cavidades de 13 mm de diâmetro e 19 mm de altura. Mesmo sendo todas as cavidades internas devidamente polidas, o molde foi lubrificado manualmente com uma fina camada de desmoldante de silicone para facilitar a retirada dos corpos-de-prova para todas as formulações.

A pasta proveniente da mistura sílica coloidal + microesferas de parafina + fosfato tricálcico foi mantida no molde por aproximadamente 24 horas em temperatura ambiente para que ocorresse seu endurecimento. Posteriormente os corpos de prova foram removidos do molde permanecendo em temperatura ambiente por mais 24 horas e então submetidos a tratamento térmico. A queima das peças foi realizada a temperatura 700°C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min e um patamar de duas horas. A figura ilustra o processo de obtenção dos corpos porosos.

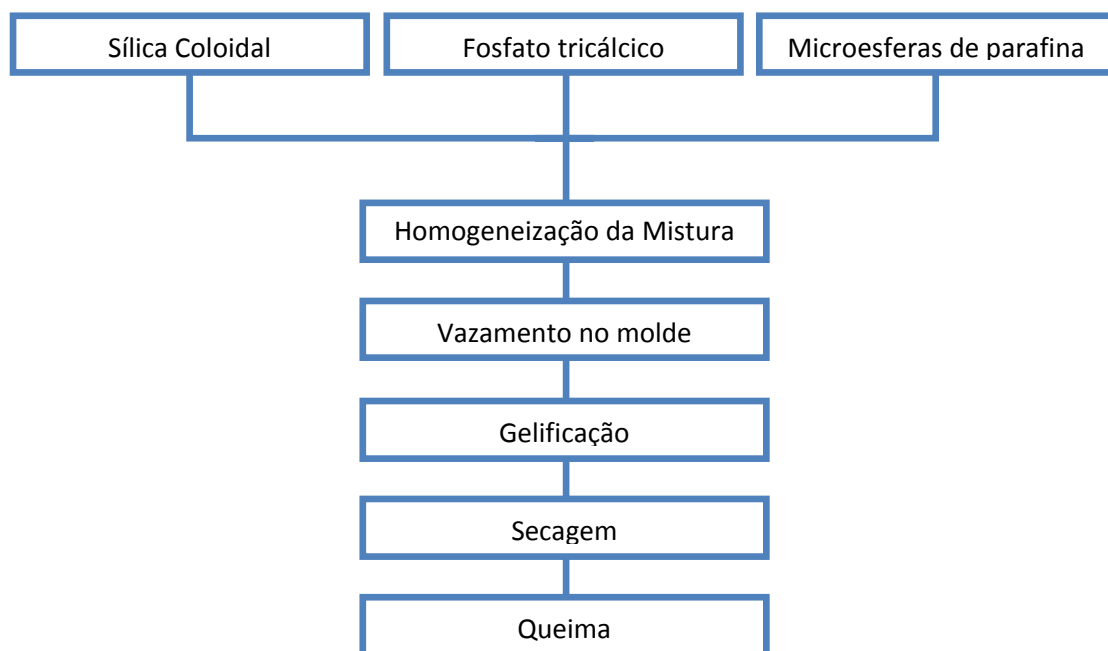


Figura 4.1: Fluxograma de obtenção dos corpos porosos.

4.4 Caracterização

As propriedades e características do fosfato tricálcico, das microesferas de parafina e dos arcabouços foram investigadas utilizando-se as técnicas descritas a seguir.

4.4.1 Difração de raios X

A avaliação da composição de fases do fosfato tricálcico foi realizada através de um difratômetro de raios X, marca comercial *PHILLIPS*[®], modelo *X'Pert MPD*. O limite mínimo de detecção de fases cristalinas dispersas capazes de serem detectadas no equipamento utilizado está na faixa de 4%. Para a realização da análise utilizou-se um programa com intervalo de varredura angular de 20 a 50°, com avanço gradual de 0,02° a cada intervalo de tempo de 1 s. A configuração do aparelho contou com uma máscara com abertura de 15 mm na saída do tubo, uma corrente no filamento de 40 mA e uma tensão de aceleração dos elétrons de 40 kV.

4.4.2 Espectroscopia de Infravermelho

Esta técnica é utilizada como complemento à técnica de difração de raios X, uma vez que esta detecta as frequências de vibração das ligações químicas no sólido. Nesta técnica, as amostras foram caracterizadas num intervalo de 500 a 4000 cm^{-1} em um espectrômetro *Spectrum 1000*. Para tanto, fez-se necessária a confecção de uma pastilha envolvendo o pó de fosfato tricálcico e uma porcentagem de KBr de grau espectroscópico na proporção de 0,3 mg de pó para 300 mg de KBr.

4.4.3 Difração de Laser (granulometria)

Para um controle do processo de beneficiamento da matéria prima determinou-se a distribuição do tamanho das partículas (DTP) do pó sintetizado para frações volumétricas da amostra de 10%, 50% e 90%.

O tamanho médio de partícula é calculado com relação a todo o intervalo de tamanhos de partículas medido no granulômetro, diferente da distribuição que demonstra as faixas de concentração de certos tamanhos de partícula.

Para a distribuição do tamanho das partículas foi utilizado o método de espalhamento de radiação laser num granulômetro de marca comercial *CILAS*[®], modelo *1180*. O método experimental escolhido foi a úmido, no qual a amostra fica suspensa em um fluido durante as medidas de distribuição de partículas. Tal método é preferencialmente usado por eliminar as

chances de que duas partículas passem ao mesmo tempo pelo detector, provocando erro nos resultados. Como fluido optou-se pela utilização de água.

Usando a teoria de difração de Fraunhofer, os valores de intensidade foram então usados para determinar a distribuição e o tamanho médio de partículas das amostras.

4.4.4 Análise Termodiferencial

A técnica de análise termodiferencial foi utilizada como uma ferramenta de controle para o entendimento dos fenômenos envolvidos na reação dos precursores químicos utilizados durante a etapa de síntese da matéria prima.

Quando uma substância sofre uma mudança física ou química, observa-se uma variação correspondente na entalpia. Se o processo for promovido por uma variação controlada de temperatura, isto constitui a base das técnicas conhecidas com análise térmica diferencial (DTA). A DTA permite medir a diferença de temperatura entre a amostra e um material de referência (inerte) em função da temperatura enquanto ambos são aquecidos nas mesmas condições. A análise pode ser realizada com um programa de aquecimento ou resfriamento, com velocidade de variação de temperatura programável (em geral, na faixa de 5 a 20 K/min). Há ainda a possibilidade de o sistema ser mantido a uma temperatura constante, isto é, operar no modo isotérmico, a qualquer temperatura dentro da faixa de operação do equipamento, durante um tempo determinado. Assim, as áreas sob os picos serão proporcionais às variações de entalpia que ocorrem em cada transformação. O registro da curva é expresso em termos de fluxo de calor (miliwatts, mW) versus temperatura (°C) ou tempo (min).

As reações exotérmicas são representadas por picos, enquanto as reações endotérmicas são representadas por vales na curva termodinâmica. A interpretação destas variações permite identificação das reações ocorridas.

O programa de execução da análise seguiu uma taxa de aquecimento de 10K/min até a temperatura de 700°C em uma termobalança, marca comercial *HARROP*[®], modelo *ST-736*. A atmosfera utilizada foi a ambiente com fluxo de ar forçado com vazão de 30L/h.

4.4.5 Porosidade

A porosidade das amostras foi calculada como porcentagem da densidade teórica do fosfato tricálcico, que é 3,07 g/cm³ (Marchi, 2006; Miranda, 2005). Para tanto foram medidos o diâmetro e a altura de todas as amostras, assim como suas respectivas massas. As peças foram pesadas em balança com precisão de 0,002 g e tiveram suas dimensões medidas com uso de um paquímetro.

O valor de densidade, ρ , foi calculado segundo a equação (1):

$$\rho = \frac{4.m}{d^2 .\pi.h} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde m é a massa das amostras (g), d é o diâmetro (mm) e h é a altura (mm) dos corpos de prova.

A partir da densidade da amostra, a percentagem de porosidade foi calculada em relação à densidade teórica do fosfato tricálcico ($3,07 \text{ g/cm}^3$), utilizando-se a fórmula abaixo:

$$\text{Porosidade (\%)} = \left[1 - \left(\frac{\rho}{3,07} \right) \right] .100 \quad \text{Equação (2)}$$

4.4.6 Resistência Mecânica a Compressão

Para determinação da resistência mecânica a compressão foram utilizados os corpos-de-prova obtidos após conformação em molde de aço e posterior queima em forno, conforme descrito anteriormente. Estes foram previamente submetidos a uma análise visual direta, com o intuito de verificar a sua integridade e acabamento superficial. Como critério de exclusão, foram descartados os corpos-de-prova que apresentaram defeitos visíveis como quebras, bolhas ou falta de preenchimento.

Para a avaliação da resistência mecânica à compressão, foi utilizada uma máquina universal de ensaios *ATS*, modelo *1105 C* a uma velocidade de travessa de 5 mm/min . Com o ensaio de resistência mecânica pode-se determinar a carga máxima necessária para o cálculo da resistência mecânica dos corpos-de-prova. A resistência mecânica a compressão é dada pela tensão de ruptura última do corpo-de-prova, que é dependente da força atuante na área efetiva da seção reta do corpo-de-prova. A resistência mecânica a compressão foi calculada de acordo com a equação (3).

$$\sigma = F/A \quad \text{Equação (3)}$$

Onde σ é a tensão de ruptura (MPa), F é a força (N) necessária para a fratura e A é a área da seção reta dos corpos-de-prova (mm^2).

4.4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise por microscopia teve como objetivo auxiliar as investigações das características microestruturais dos materiais investigados. A microestrutura pode ser considerada uma ponte entre o processamento cerâmico e as propriedades tecnológicas de interesse presentes no corpo cerâmico. O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi um equipamento marca *JEOL*[®], modelo *JSM-6060*. As amostras analisadas sofreram a aplicação de uma camada fina de ouro via *sputtering*.

5. Resultados e Discussão

5.1 Caracterização do Fosfato Tricálcico

Para avaliação da distribuição de partículas do fosfato tricálcico calcinado a 1000°C utilizou-se como meio dispersante água e um tempo de ultrassom de 60 s. O resultado obtido pela técnica foi uma distribuição de tamanho de partículas estreita e com valor médio de 4,01 μm .

A distribuição granulométrica de uma composição cerâmica influencia diretamente importantes características como: porosidade e resistência a verde, reologia de suspensões, temperatura de sinterização, resistência mecânica, etc. Justifica-se assim, a necessidade básica do controle da granulometria de um material cerâmico e a existência de diversos modelos teóricos de distribuição granulométrica (Pileggi et al., 1998).

A figura 5.1 mostra a distribuição de tamanho de partículas médio do TCP, obtido por difração a laser.

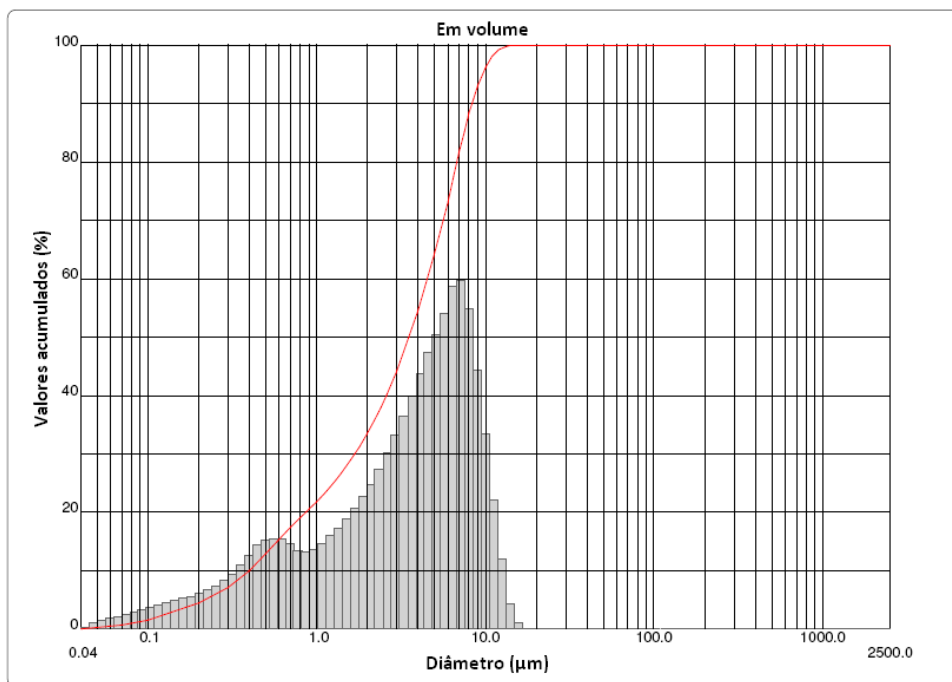


Figura 5.1: Histograma da distribuição de tamanho de partículas para o fosfato tricálcico obtido após 30 minutos de moagem em álcool.

Pode-se observar a partir do histograma, uma configuração bimodal na distribuição de tamanho de partículas do TCP analisado. Esta configuração está provavelmente associada a uma diferença de tamanho presente no pó analisado, possivelmente devido a uma fase

diferente da fase β -TCP estar presente no pó. A presença dessas partículas menores pode contribuir para um melhor empacotamento da matriz, visto que elas podem se alocar entre os poros resultantes do encontro entre agregados maiores.

A análise por espectroscopia de infravermelho (figura 5.2) mostra os grupos químicos presentes no fosfato tricálcico calcinado a 1000°C. Observa-se que o espectro do TCP apresenta bandas largas, o que demonstra a baixa cristalinidade do material (Le Geros, 1991). O pico definido em 560 e 611 cm^{-1} é característico dos fosfatos de cálcio (Le Geros, 1991), referente à ligação P-O e se relaciona aos grupos PO_4^{3-} . Outros picos correspondentes às ligações PO_4^{3-} são o em 1044 e em 2925 cm^{-1} . O pico em 727 cm^{-1} é referente à ligação C-O de grupos CO_3^{2-} no β -TCP. Os picos em 1629 cm^{-1} e na região de 3200 a 3600 cm^{-1} correspondem à água absorvida.

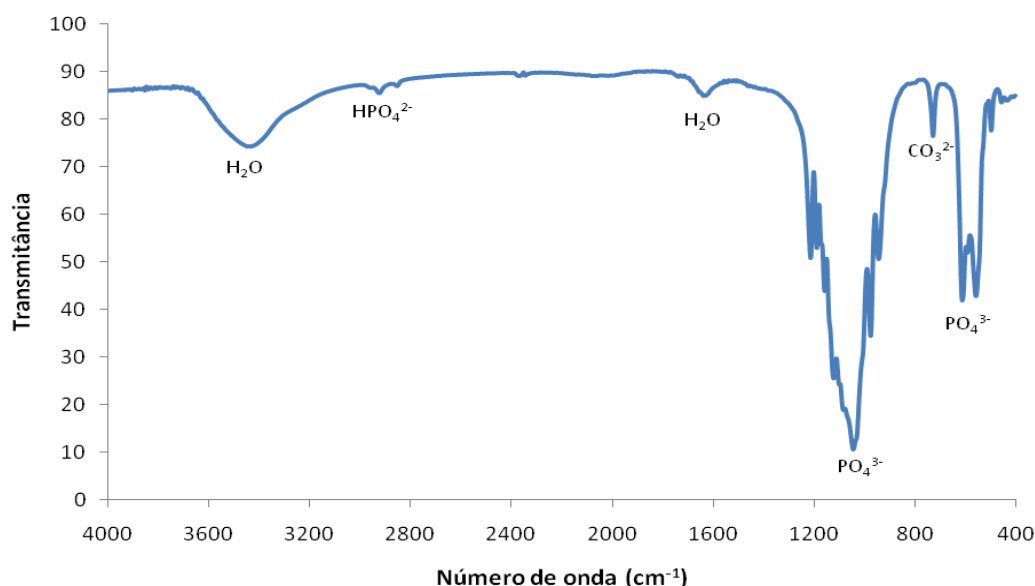


Figura 5.2: Espectroscopia de infravermelho do pó de fosfato tricálcico calcinado a 1000°C.

A análise de difração de raios X do TCP calcinado é apresentada na figura 5.3. O difratograma apresenta a fase majoritária de β -TCP, como se pode observar pelos picos identificados a partir da ficha padrão de difração número 09-0169 do *Joint Committee on Powder Diffraction Standards – JCPDS*. Observa-se também a presença minoritária de pirofosfato de cálcio (CPP). A presença da fase de CPP pode ser devido ao TCP utilizado ser comercial, podendo ter havido erro na formulação, com falta de cálcio ou não homogeneidades durante a reação, levando à formação do pirofosfato de cálcio.

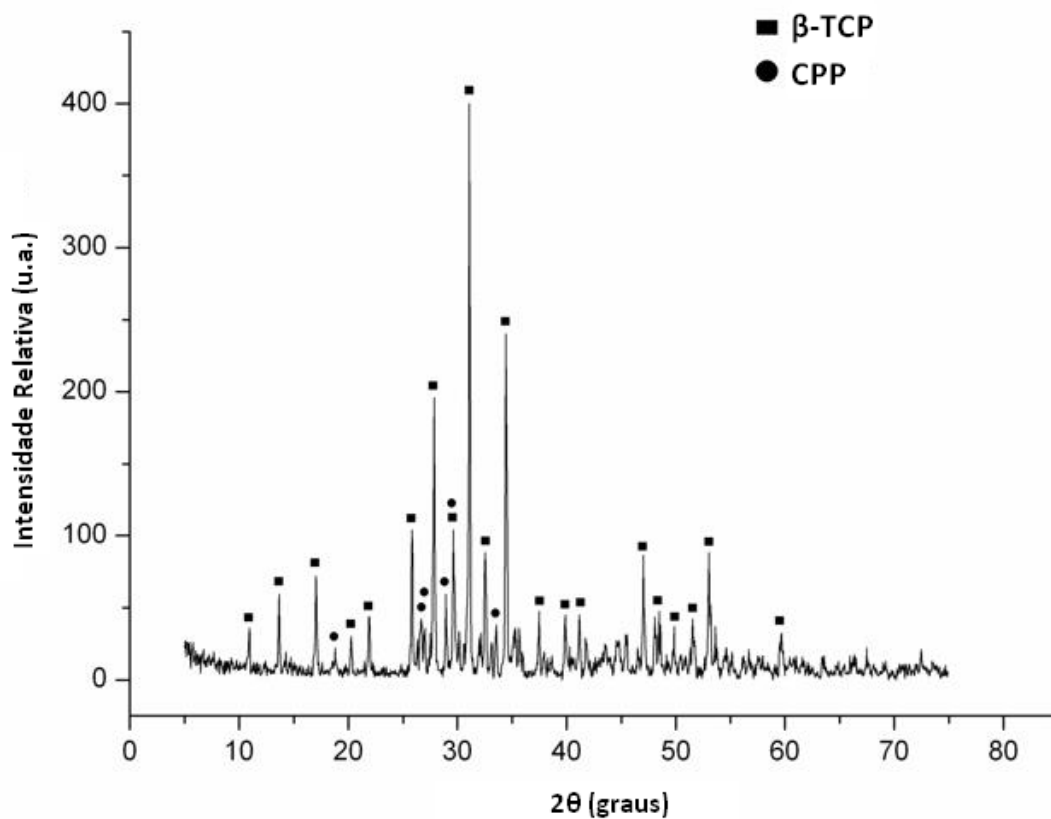


Figura 5.3: Difratoograma de raios X do pó de fosfato tricálcico calcinado a 1000°C.

A fotomicrografia do fosfato tricálcico calcinado é apresentada na figura 5.4. Pode-se observar pela micrografia que os grãos não apresentam um tamanho muito uniforme e estão interligados a partículas maiores. Resultados semelhantes foram encontrados na literatura por Motisuke (2009) para pós de TTCP e β -TCP.

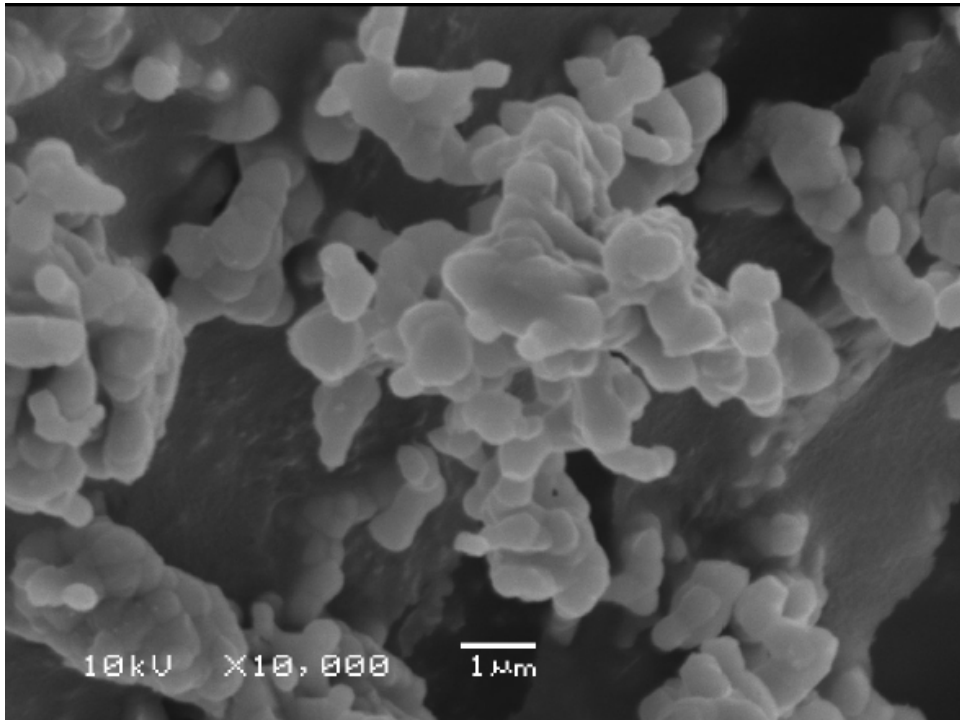


Figura 5.4: Fotomicrografia da amostra do fosfato tricálcico calcinado a 1000°C.

5.2 Caracterização das esferas de parafina

As esferas de parafina foram confeccionadas com o objetivo de se obter corpos orgânicos que poderiam, após queima a uma determinada temperatura, proporcionar a formação de poros de formato, tamanho e distribuição de tamanho controlados. Além disso, é importante que haja a interconexão desses poros para possibilitar o crescimento tecidual.

A parafina foi escolhida por ser um material orgânico de baixo ponto de fusão, o que possibilita facilidade no processamento; ter inércia química, não causando nenhuma reação com o cimento ou a fase líquida; e ser de baixo custo.

Para obtenção das esferas de parafina foram feitos testes iniciais baseados na literatura (Shum, 2005) apenas com a utilização de álcool polivinílico (PVA) na solução de agitação. Não foram obtidos resultados satisfatórios, pois parte das esferas formadas ficaram com um tamanho acima do esperado e unidas em aglomerados. A partir do trabalho de Mizutani *et al.* (2005), que utilizou Na_2SO_4 na obtenção de esferas de poli(ácido L-láctico) (PLLA), determinou-se que este também seria importante na obtenção de esferas de parafina. A espuma formada sob agitação da solução de PVA e Na_2SO_4 se tornou mais espessa visualmente, com maior estabilidade, o que permitiu a formação de esferas de parafina de menor tamanho, sem aglomerados e pedaços disformes. Na figura 5.5 pode-se observar uma maior homogeneidade na forma e tamanho das esferas de parafina utilizando essa técnica. A distribuição de tamanho fez-se através da separação por uma torre de peneiras. As esferas

utilizadas foram da faixa de 100 a 250 μm , uma vez que segundo a literatura (Matsura, 1995), o tamanho de poro ideal para o crescimento de tecido ósseo é acima de 150 μm .

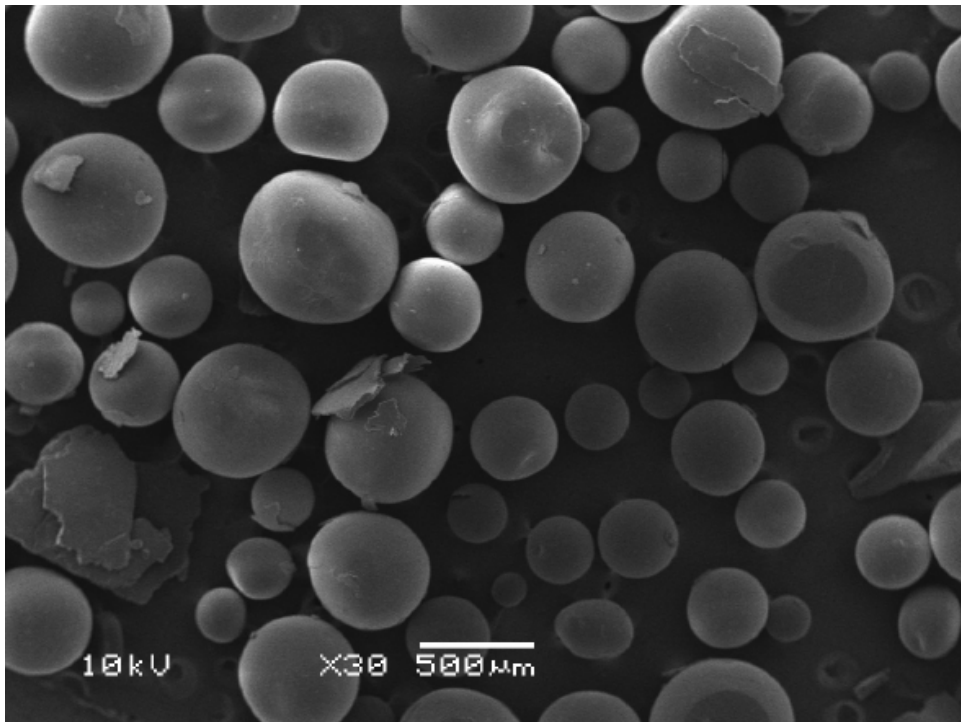


Figura 5.5: Fotomicrografia mostrando as microsferas de parafina utilizadas na confecção de poros dos corpos de prova.

A análise termogravimétrica da parafina mostrou que esta tem seu pico de degradação a uma temperatura de aproximadamente 350°C, sendo que a degradação completa ocorre um pouco antes dos 550°C, como pode ser visualizado no termograma da figura 5.6.

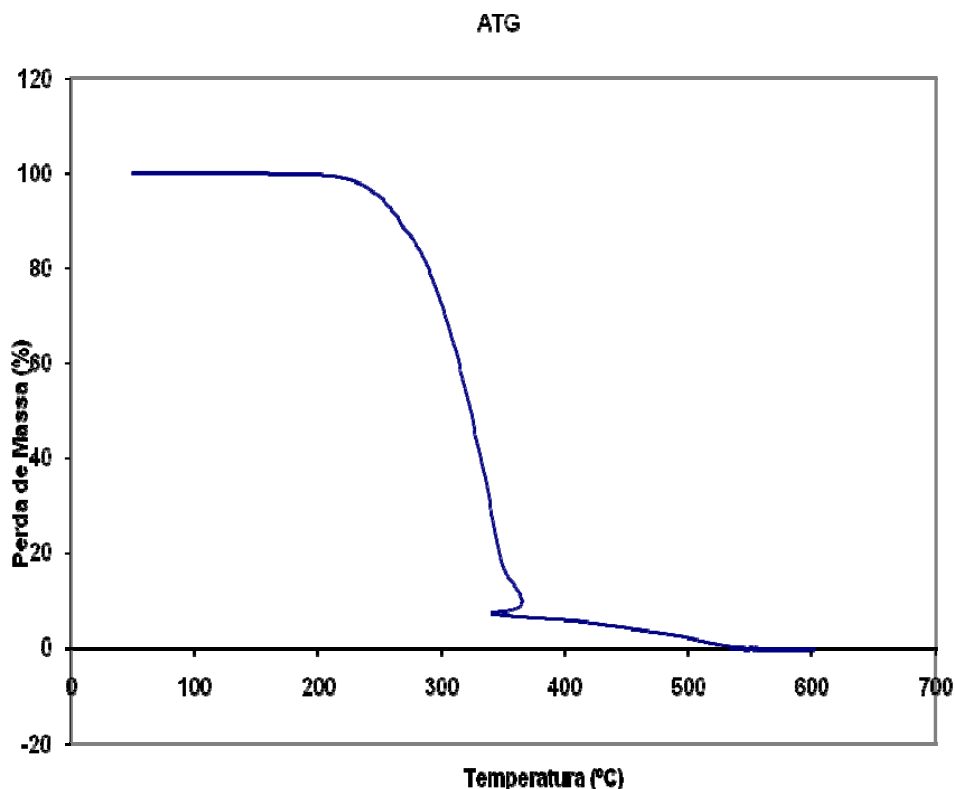


Figura 5.6: Termograma mostrando a curva de degradação da parafina.

Devido à baixa temperatura de degradação da parafina empregada, não se fez necessário o estudo de outros materiais para utilização como agentes porogênicos, ou mesmo parafinas de menor tamanho de cadeia, os quais apresentam maior custo que a parafina comercial, material esta de custo extremamente baixo e fácil acesso.

5.3 Obtenção dos Materiais Porosos

Para a extração das esferas de parafina e produção dos corpos porosos, utilizou-se uma temperatura de 700°C, visto que a esta temperatura ocorreria a total degradação da parafina, conforme estudo termogravimétrico previamente mostrado.

Maiores estudos da influência da temperatura nas fases cristalinas de fosfatos de cálcio podem ser úteis para a obtenção de materiais contendo mais de uma fase cristalina (α -TCP, β -TCP, hidroxiapatita) e com diferentes cristalinidades, e portanto com solubilidades e comportamentos *in vivo* diferenciados, o que pode ser útil em aplicações tais como liberação controlada de medicamentos, preenchimento de grandes cavidades, entre outras. Além disso, o aumento da cristalinidade e da temperatura de calcinação pode resultar em valores de resistência mecânica mais elevados e próximos dos tecidos a serem substituídos.

Shum *et al.* (Shum, 2005) ao produzirem *scaffolds* poliméricos utilizando parafina como agente formador de poros removeram a parafina dos seus *scaffolds* mergulhando os corpos em hexano a temperatura ambiente por 2 dias, trocando o hexano três vezes ao dia. Após esses dois dias, os corpos foram deixados em uma solução de hexano com ciclohexano a uma temperatura de -20°C por 6h, seguido de uma secagem a -10°C por 2 dias e uma secagem à vácuo por uma semana para total extração do solvente. O processo de extração da parafina para obtenção dos *scaffolds* foi muito lento e dispendioso, mas necessário devido ao fato de que o material utilizado era um polímero com ponto de fusão relativamente baixo, impossibilitando a utilização de um método térmico, pois, além de degradar a parafina, degradaria o polímero.

A literatura (Zorzi, 2001) comenta que a extração de ceras de corpos cerâmicos deve ser feita a uma taxa e aquecimento mais baixa possível. Segundo Trunec (1997), a extração de ligantes é o passo mais crítico na moldagem por injeção, onde a parafina é muito usada como ligante, sendo que a sua quantidade pode chegar a 50% em volume. A parafina deve ser removida lentamente, em um processo que requer a gradual formação de canais ao longo da peça. Estes canais permitem que a parafina saia da peça sem causar o colapso da mesma (Mutsuddy e Ford, 1995). O diâmetro dos canais depende do tamanho das partículas do pó e da porosidade da peça e sua forma é altamente variável dentro da peça injetada. Os canais têm um alto nível de interconectividade e são tortuosos, de tal forma que o ligante fluido percorre uma distância muito maior que a espessura da peça cerâmica (Mutsuddy e Ford, 1995).

Machado (2007) utilizou um pré-tratamento do corpo de prova em estufa a temperatura de aproximadamente 100°C durante aproximadamente 2h. O tratamento foi realizado com o auxílio de papel absorvente que ficava em contato com o corpo de prova. Como a temperatura de fusão da parafina é em torno de 60°C, essa temperatura foi suficiente para a fusão da parafina e para que esta fosse absorvida pelo papel na medida em que fluía para fora do corpo de prova. Desta maneira restava pouca parafina no corpo de prova e os micronais conseguiam eliminar a parafina residual e seus subprodutos de decomposição sem causar um aumento exagerado de pressão dentro dos poros, e conseqüentemente sem colapsar o corpo de prova. Zorzi (2001), Mutsuddy e Ford (1995) explicam em seus trabalhos que uma variante da extração térmica é chamada de *wicking*, processo no qual um ligante líquido, com baixa viscosidade é “sugado” por forças capilares em um meio poroso que envolve a peça cerâmica. É o processo conhecido como fluxo capilar em leito poroso (*wicking*). O fluxo capilar do líquido através do meio poroso que envolve a peça impede que se forme uma descontinuidade líquido-vapor na superfície do corpo, que poderia provocar a formação de defeitos na peça. Dessa forma foi possível colocar o corpo de prova no forno a uma taxa mais alta sem a destruição da estrutura. A taxa usada foi de 10°C/min e os corpos mantiveram sua estrutura de poros intacta.

Para razão de estudo da influência do teor de esferas de parafina na porosidade dos *scaffolds* e do teor de pó de fosfato tricálcico na resistência mecânica, foram confeccionados corpos de prova com diferentes quantidades de parafina, mantendo-se fixa a proporção de fosfato tricálcico e fase líquida utilizada (sílica coloidal). Duas razões de pó foram utilizadas

para a variação de quantidade de esferas. As composições dos corpos porosos estão descritas na tabela 5.1.

Tabela 5.1: Formulações dos corpos de prova produzidos.

Formulação (proporção)	Teor de Sílica Coloidal (g)	Teor de TCP (g)	Teor de microesferas de parafina (g)
S1:T1,5:P1	10	15	10
S1:T1,5:P1,5	10	15	15
S1:T1,5:P2	10	15	20
S1:T2:P1	10	20	10
S1:T2:P1,5	10	20	15
S1:T2:P2	10	20	20

5.3.1 Influência da formulação dos corpos porosos sobre a porosidade

As fotomicrografias da superfície de fratura dos materiais produzidos com as formulações S1:T1,5:P1, S1:T1,5:P1,5 e S1:T1,5:P2 podem ser vistas nas figuras 5.7, 5.8 e 5.9.

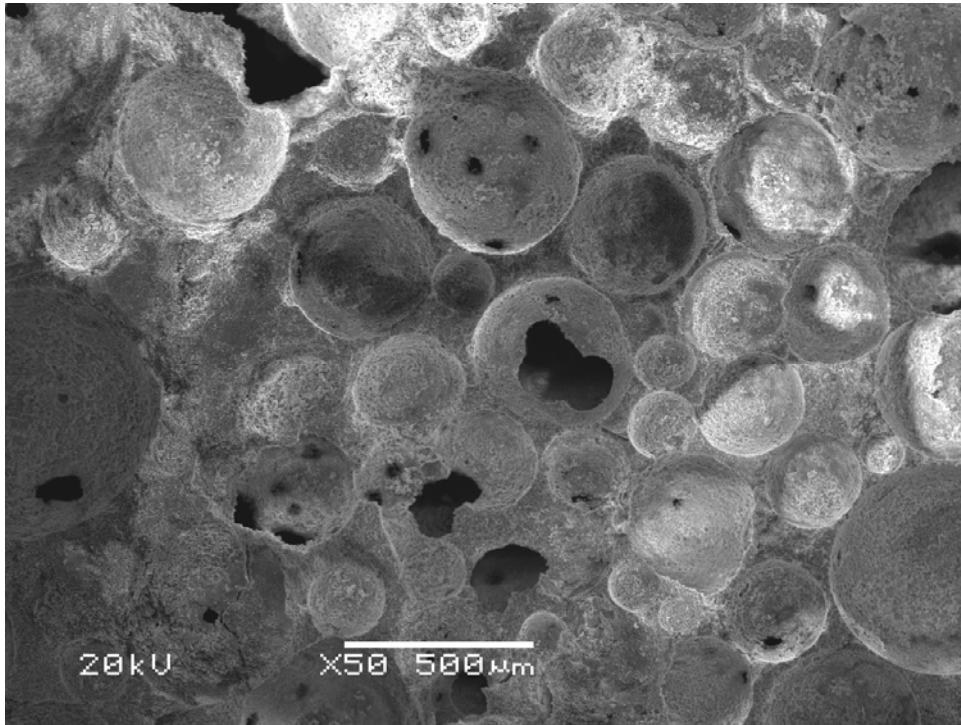


Figura 5.7: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T1,5:P1 (10 g de sílica coloidal, 15 g de fosfato tricálcico e 10 g de esferas de parafina).

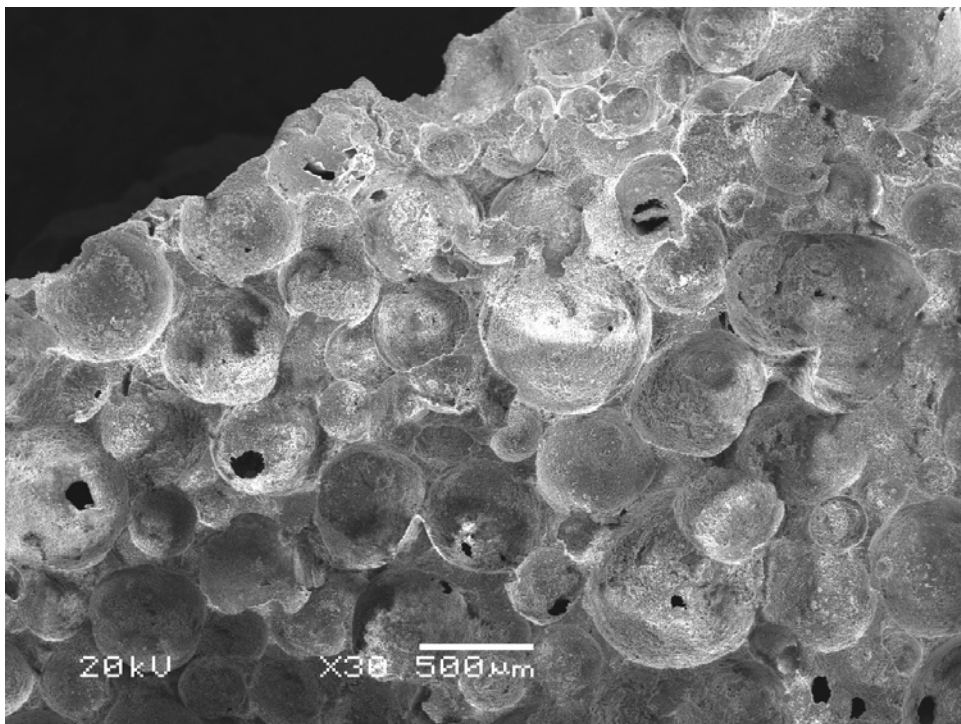


Figura 5.8: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T1,5:P1,5 (10 g de sílica coloidal, 15 g de fosfato tricálcico e 15 g de esferas de parafina).

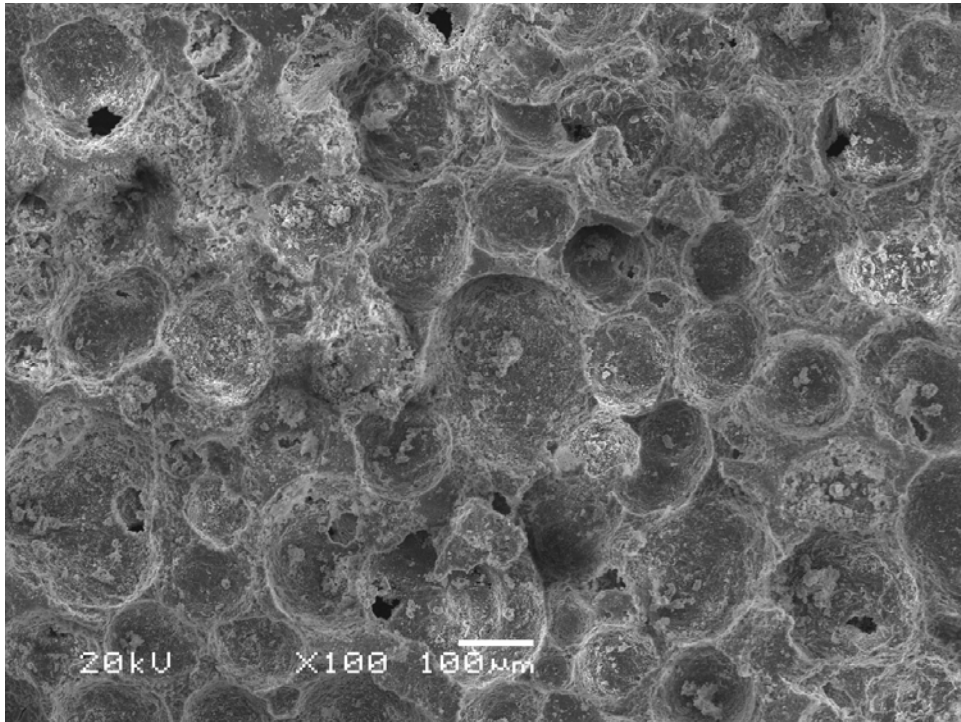


Figura 5.9: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T1,5:P2 (10 g de sílica coloidal, 15 g de fosfato tricálcico e 20 g de esferas de parafina).

Pode-se observar visualmente um aumento na quantidade de poros e à medida que se aumentou o teor de microesferas, entretanto não se observa interconectividade significativa entre os poros. Não foram encontrados dados na literatura que demonstrem a quantidade de esferas mínima necessária para obter-se interconectividade. A quantidade de esferas está relacionada à formação de uma camada mínima de cimento entre as esferas, de forma que elas possam entrar em contato umas com as outras e, assim, após a retirada da parafina, serem formadas interconexões entre os poros oriundos das esferas de parafina.

Nas figuras 5.10, 5.11 e 5.12 são mostradas as micrografias da superfície dos corpos porosos obtidos com 20 g de fosfato tricálcico, também variando-se a proporção de microesferas de parafina nas proporções S1:T2:P1, S1:T2:P1,5 e S1:T2:P2.

Pelas imagens pode-se perceber um maior empacotamento dos corpos de prova confeccionados com maior teor de pó de fosfato tricálcico e menor teor de vazios que o observado nas formulações com 15 g de TCP. O formato dos poros encontrado para ambas as formulações é irregular e a distribuição de poros é larga, semelhante ao encontrado por Neville (1997), para cimento Portland.

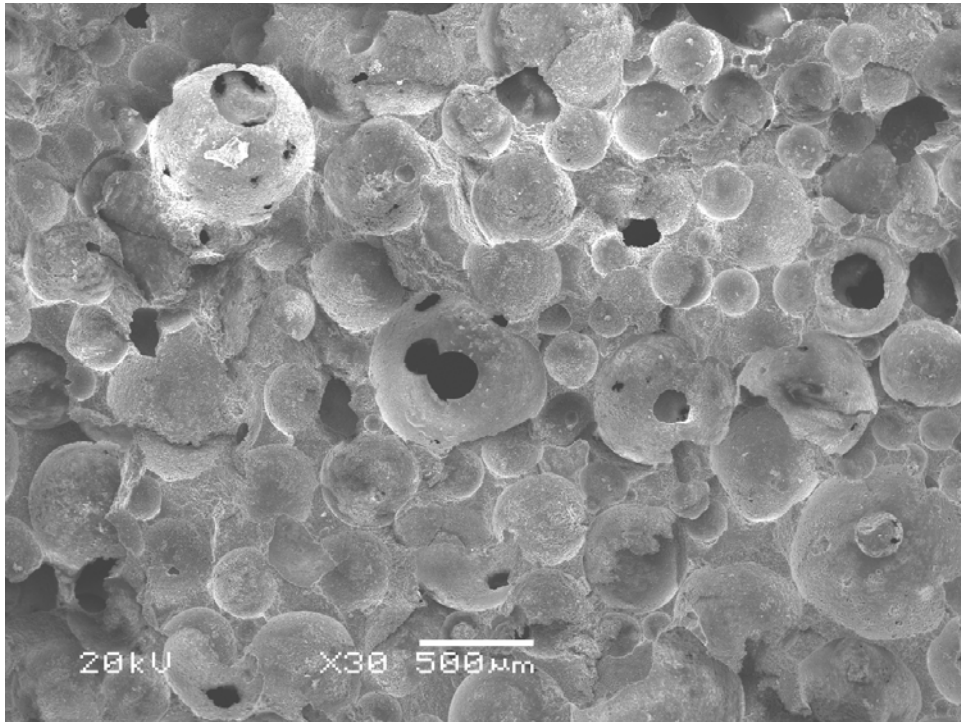


Figura 5.10: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T2:P1 (10 g de sílica coloidal, 20 g de fosfato tricálcico e 10 g de esferas de parafina).

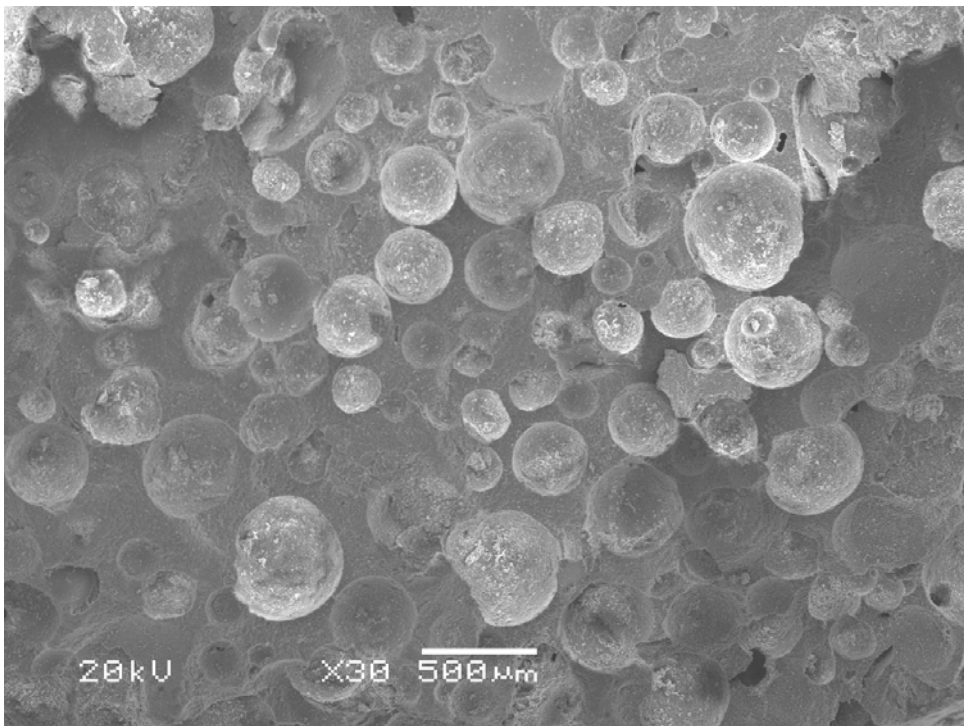


Figura 5.11: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T2:P1,5 (10 g de sílica coloidal, 20 g de fosfato tricálcico e 15 g de esferas de parafina).

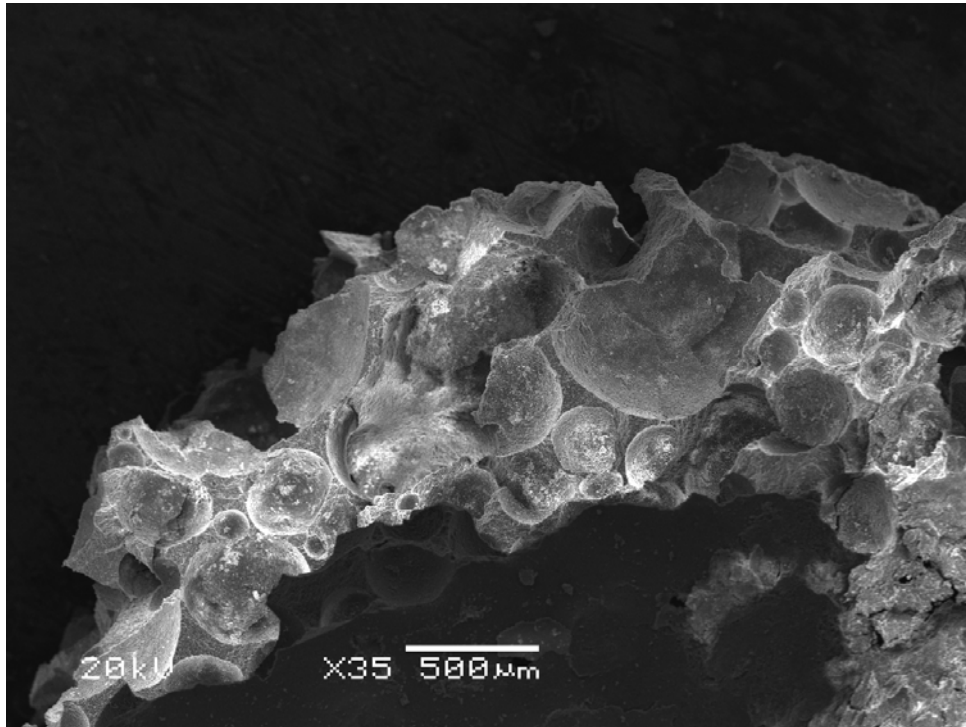


Figura 5.12: Fotomicrografia da microestrutura dos corpos de prova com a formulação S1:T2:P2 (10 g de sílica coloidal, 20 g de fosfato tricálcico e 20 g de esferas de parafina).

Os valores de porosidade dos arcabouços em relação à quantidade de parafina e TCP podem ser vistos no gráfico da figura 5.13. Os valores de porosidade encontrados para ambas as formulações são semelhantes aos descritos na literatura (Machado, 2007), mostrando a linearidade com que cresce a porosidade na medida em que se adiciona matéria orgânica para a obtenção de poros. O valor de R^2 das curvas comprova suas linearidades. A pequena inclinação das retas representa a necessidade de uma maior quantidade de matéria orgânica para que se tenha um pequeno aumento na porosidade.

Sendo a porosidade aberta considerada um fator favorável à osteocondução (MA, 2004; Alves, 2005), permitindo o crescimento de tecidos no interior dos poros, pode-se dizer que todas as formulações possuem tendência a favorecer este comportamento biológico, tendo em vista que todas as formulações apresentam porosidade elevada.

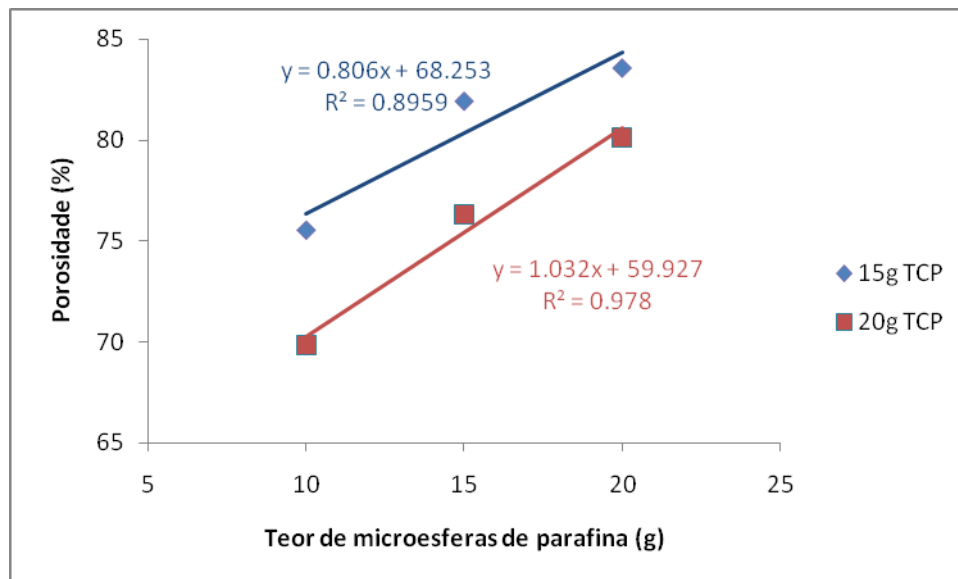


Figura 5.13: Gráfico mostrando a variação da porosidade com relação à quantidade de parafina e TCP utilizados na confecção dos corpos de prova.

5.3.2 Influência da formulação dos corpos porosos sobre a resistência mecânica

Este estudo teve como objetivo analisar a influência do teor de TCP e das microesferas de parafina na resistência mecânica e porosidade dos corpos porosos obtidos. O gráfico da figura 5.14 compara as resistências mecânicas sob compressão obtidas para as formulações com 15 e 20 g de fosfato tricálcico. Pode-se perceber que há um aumento na resistência mecânica com o aumento do teor de TCP. Este aumento deve-se ao maior empacotamento e contato das partículas de cimento da matriz na formulação com maior teor de TCP. Entretanto, com o aumento do teor de esferas a resistência mecânica das peças diminui, o que era de se esperar já que é conhecido que a resistência mecânica (σ_r) dos materiais cerâmicos decresce exponencialmente com a fração volumétrica porosidade (P), de acordo com a relação $\sigma_r = \sigma_0 \cdot \exp(-nP)$ (Callister, 2006).

Segundo Callister (2006), a porosidade exerce um efeito negativo sobre a resistência mecânica dos materiais cerâmicos por dois motivos: (1) os poros reduzem a área da seção reta através da qual uma carga é aplicada, e (2) os poros atuam como concentradores de tensões.

A figura 5.15 faz uma comparação dos valores de densidade geométrica dos corpos obtidos com teor de TCP de 15 e 20 g. Pode-se observar que a densidade dos corpos porosos é maior para a formulação com maior quantidade de fosfato tricálcico. Em relação à quantidade de microesferas de parafina, conforme a quantidade de vazios aumenta, a densidade do material diminui.

Machado (2007) estudou a influência da quantidade de fase líquida na resistência de seus arca-bouços e concluiu que à medida que aumente a fração líquida no cimento, a densidade diminui, aumentando a fração de vazios e conseqüentemente diminuindo a

resistência mecânica à compressão dos corpos porosos. Para diminuir o teor de vazios e aumentar o empacotamento dos *scaffolds* Machado (2007) utilizou uma solução com defloculante na composição da fase líquida.

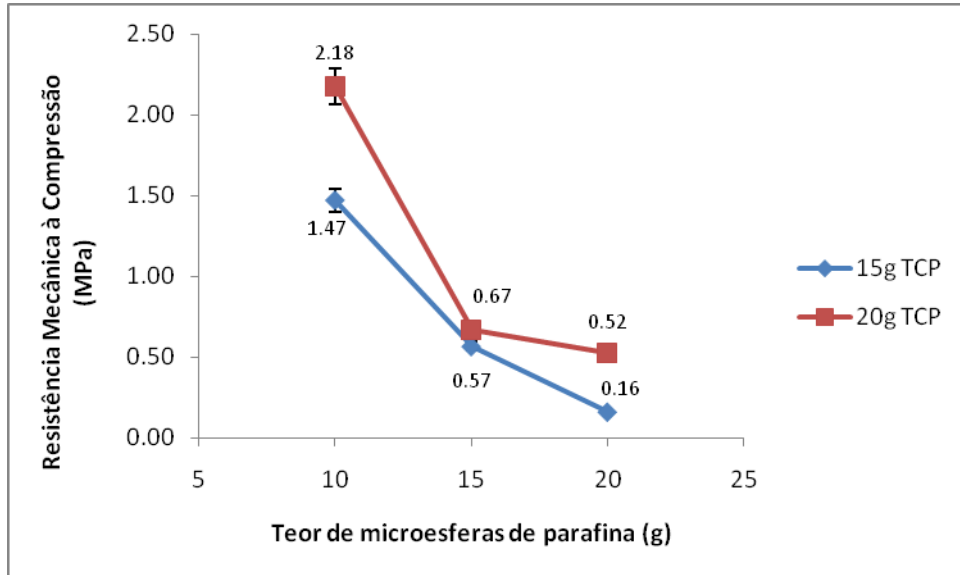


Figura 5.14: Gráfico mostrando a variação da resistência mecânica com relação à quantidade de parafina e TCP utilizados na confecção dos corpos de prova.

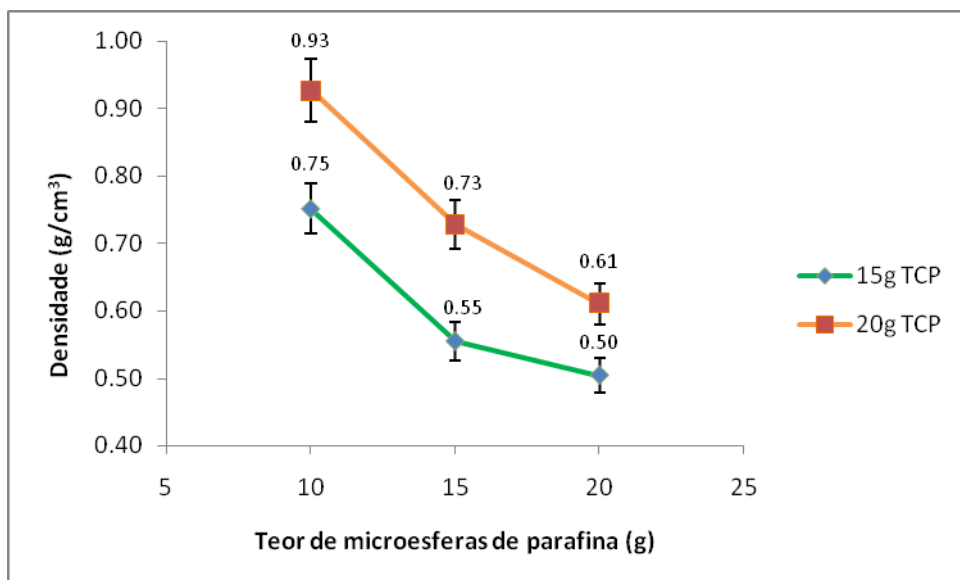


Figura 5.15: Gráfico mostrando a variação da densidade com relação à quantidade de parafina e TCP utilizados na confecção dos corpos de prova.

6. Conclusões

Foram obtidos e caracterizados materiais porosos com potencial uso como *scaffolds* para crescimento celular e tecidual a partir de fosfato de tricálcico utilizando-se sílica coloidal, observando-se que:

- Obteve-se esferas de parafina com diâmetro na ordem de micrometros (faixa utilizada: 100 a 250 μm), utilizando-se método reportado na literatura;
- Obteve-se corpos porosos de fosfato tricálcico com a adição das esferas de parafina e posterior extração das mesmas após cura utilizando-se método térmico;
- A temperatura para a extração da parafina do corpo poroso foi estabelecida em 700°C por ocorrer total extração da parafina a esta temperatura e não ocorrer mudança de fase do fosfato tricálcico, como descrito na literatura;
- Os *scaffolds* obtidos com esferas de parafina tiveram alta porosidade (máx. 83,6%), poros com formato esférico e pouco interconectados;
- Através da microscopia eletrônica de varredura pode-se observar a estrutura porosa obtida pela utilização das microesferas de parafina;
- A variação na quantidade de fosfato tricálcico assim como na quantidade de microesferas de parafina provoca modificações na porosidade do *scaffold* obtido. Quanto maior a quantidade de TCP, maior a densidade e maior a resistência mecânica, sendo que a porosidade mínima foi de 69,8% para a formulação com 20 g de TCP e 10 g de microesferas, e a resistência mecânica máxima (para a menor porosidade) foi de 1,26 MPa;
- O formato dos poros foi irregular e o tamanho pequeno para favorecer o crescimento de tecido ósseo em suas cavidades, o que fez com que tais composições fossem descartadas para o uso como *scaffolds* celulares;
- Os arcabouços obtidos apresentaram valores de resistência mecânica muito baixos, o que impossibilita sua utilização em locais com solicitação de carga;
- A resistência mecânica obtida para os corpos de prova com 15 g de TCP e 20 g de esferas (0,16 MPa) pode ser considerada adequada para locais onde haja baixa solicitação mecânica;
- São necessários estudos posteriores para melhorar a interconectividade dos poros obtidos e avaliar os materiais obtidos em culturas celulares e em animais para que os materiais desenvolvidos possam ser considerados como *scaffolds* para crescimento tecidual.

7. Sugestões para Trabalhos Futuros

Como sequência do presente trabalho, são sugeridos os seguintes estudos:

- Utilização de novas faixas de granulometria de microesferas e estudo da sua influência na resistência mecânica e porosidade;
- Estudo da influência de diferentes tamanhos de poros na condução de tecidos e biocompatibilidade;
- Estudo das condições de preparação e sinterização dos corpos porosos sobre a resistência mecânica e porosidade;
- Estudo de outros métodos para obtenção dos corpos porosos, como *gelcasting* de espumas e técnica da réplica;
- Análise do comportamento dos corpos porosos *in vitro* e posterior estudo da implantação *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, H. L. **Cimento ósseo de fosfato tricálcico: síntese e influência de aditivos na sua injetabilidade**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2005.
- AOKI, H. **Science and medical applications of hydroxyapatite**. 1 ed. Tokyo: JAAS, 1991.
- BERMUDEZ, O. ; Boltong, M. G. ; Driessens, F. C. M. ; Planell, J. A. ; Development of some calcium phosphate cements from combinations of α -TCP, MCPM and CAO. **Journal of Materials Science : Material in Medicine** 5, p.160-163, 1994.
- CALLISTER Jr., W. D. **Fundamentos da Ciência e Engenharia de Materiais – Uma Abordagem Integrada**, 2ª Ed., LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 2006.
- CARRODÉGUAS, R. G. Hydrothermal Method for Preparing Calcium Phosphate Monoliths. **Materials Research**, v.6, n.3, 2003.
- CHAMIRÉ, C. L. et al. Correlating crystallinity and reactivity in an α -tricalcium phosphate. **Biomaterials**, v.26, p.2787-2794, 2004.
- CHEN, C-C. et al. Preparation and characterization of biodegradable PLA polymeric blends. **Biomaterials**, v.24, p.1167-1173, 2003.
- CHOW, L. C. evelopment of Self-Setting Calcium Phosphate Cements. **Journal of Ceramic Society of Japan International Edition**, v.9, p.927-933, 1991.
- CHOW, L. C.; Markovic, M.; Takagi, S.; Cherg, M. Injectable calcium phosphate cements: effects of cement liquid on the physical properties of the cement. **Innov Tech Med**, v. 18, 1997.
- DRIESENS, F. C. M.; Boltong, M. G.; Bermudez, O.; Planell, J. A. Formulation and setting times of some calcium orthophosphate cements: a pilot study. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.4, p.503-508, 1993.
- DRIESENS, F. C. M.; Fernández, E.; Ginebra, M. P.; Boltong, M. G.; Planell, J. A. Calcium phosphates and ceramic bone cements vc. acrylic cements. **Anal. Quim. Int. Ed.**, v.93, p.S38-S43, 1997.
- FERNÁNDEZ, E.; Planell, J. A.; Best, S. M. Precipitation of carbonates apatite in the cement system. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.47, p.466-471, 1999.
- FREED, L. E.; Marquis, J. C.; Nohria, A.; Emmanuel, J.; Mikos, A. G. & Langer, R. **J. Biomed. Mater. Res.**, 27, p.11, 1993.
- GBURECK, U. et al. Mechanical activation and cement formation of β -tricalcium phosphate. **Biomaterials**, v.24, p.4123-4131, 2003.

- GINEBRA, M. P. et al. The effects of temperature on the behavior of an apatitic calcium phosphate cement. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.6, p.857-860, 1995.
- GRUNINGER, S. E., et al. Evaluation of biocompatibility of a new calcium-phosphate setting cement. **Journal of Dentistry Research**, v.63, 1984.
- GUTIERRES, M. et al. Substitutos Ósseos – Conceitos Gerais e Estado Actual. **Arquivos de Medicina**. v. 19 (4), p. 153-162, 2006.
- HENCH, L. L.; Andersson, Ö. Bioactive Glass Coatings. In: HENCH, L.L., Wilson, J. (eds), **An Introduction to Bioceramics**, 1 ed., capítulo 13, Gainesville, USA, World Scientific, 1993.
- HENCH, L. L.; Andersson, Ö. Bioactive Glasses. In: HENCH, L.L., Wilson, J. (eds), **An Introduction to Bioceramics**, 1 ed., capítulo 3, Gainesville, USA, World Scientific, 1993.
- HULBERT, S. F.; Talbert, C. D.; Klawitter, J.J. Investigation of the potential of ceramics for surgical applications. In: BELMONT JUNIOR, A. L. (ed), **Biomaterials: Bioengineering applied to materials for hard and soft tissue replacement**, 1 ed., p. 3-77, Washington: Battelle Seattle Research Center and the University of Washington Press, 1971.
- JONES, J.R. New trends in bioactive scaffolds: The importance of nanostructure, **Journal of the European Ceramic Society**, 2008, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2008.08.003
- KARAGEORGIU, V.; Kaplan, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, v. 26, p. 5474-5491, 2005.
- KHANG, G.; Kim, M. S.; Lee, H. B. **A Manual for Biomaterials/Scaffold Fabrication Technology**, World Scientific Publishing Company, 2007.
- KLEIN, C. P.A.T.; Wolke, J. G. C.; de Groot, K. Stability of Calcium Phosphate Ceramics and Plasma Sprayed Coating. In: HENCH, L.L., Wilson, J. (eds), **An Introduction to Bioceramics**, 1 ed., capítulo 11, Gainesville, USA, World Scientific, 1993.
- LE GEROS, R. Z. **Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine**, EUA, 1991.
- LEMAITRE, J.; Mirtchi, A.; Mortier, A. Calcium phosphate cement for medical use: state of the art and perspectives of development. **Sil. In. Ceram. Sci.. Technol.**, v.52, p.141-146, 1987.
- LLOYD-EVANS, M. Regulating tissue engineering. **Materials Today**, May, p.48, 2004.
- MA, P. X.; Langer, R. Degradation, structure and properties of fibrous poly(glycolic acid) scaffolds for tissue engineering. In: MIKOS, A. G.; *et al* (eds), **Polymers in Medicine and Pharmacy**, Materials Research Society, PA, 99, 1995.
- MA, P. X. Tissue Engineering. In: KROSCHWITZ, J. I. (ed), **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**, 3 ed., John Wiley & Sons, NJ, 2004.

MACHADO, J. L. M. **Desenvolvimento de Cimento Ósseo de Fosfato de Cálcio como Suporte para o Crescimento de Tecidos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2007.

MARCHI, J., et. al. Influence of Mg-substitution on the physicochemical properties of calcium phosphate powders. **Materials Research Bulletin**, v. 42, p. 1040-1050, 2007.

MATSURA, E. **Notas de aulas de Prótese Buco-Maxilo-Facial**, Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, São Paulo, 1995.

MIRANDA, P., et. al. Sintering and Robocasting of β -Tricalcium Phosphate Scaffolds for Orthopedic Applications. **Acta Biomaterialia**, v. 2, p. 457-466, 2006.

MITZUTANIA, Y., et al. Poly(L-lactic acid) short fibers prepared by solvent evaporation using sodium tripolyphosphate. **Polymer**, v.46, p.3789-3794, 2005.

MOTISUKE, M; Lambert, C. S.; Carrodéguas, R. G.; Zavaglia, C. A. C. Fosfatos de Cálcio para reconstituição Buco-maxilo-crânio-facial. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Campinas, **Anais...** Campinas: Brasil, 2005. Disponível em: <<http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/tPO31.pdf>>. Acesso em: 22 de novembro de 2009.

MUSCHLER, G. F.; Midura, R. J. Connective tissue progenitors: practical concepts for clinical application. **J. Clin. Orthop.**, v. 395, p. 66-80, 2002.

NEVILLE, A. M. **Propriedades do concreto**. São Paulo: Pini. Brasil, 1997.

PACHENCE, J. M.; Kohn, J. Biodegradable Polymers. In: LANZA, R. P.; *et al* (eds), **Principles of Tissue Engineering**, 2 ed., Academic Press, San Diego, 263, 2000.

PILEGGI, R. G. et al. Desenvolvimento e aplicação de um software que automatiza o processo de combinação de matérias-primas na obtenção de produtos cerâmicos. **Cerâmica**, v.44, n.289, 1998.

PRADO DA SILVA, M. H. **Apostila de Biomateriais**. CERAMED, 2007.

ROB B.M., et al. Ethical Aspects of Tissue Engineering: A Review, **Tissue Engineering: Part B**. v.14 (4), 2008.

SANTOS, L. A. **Desenvolvimento de Cimento de Fosfato de Cálcio Reforçado por Fibras**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2002.

SHUM, A.W.T; Li, J.; Mak A. F. T. Fabrication and structural characterization of porous biodegradable poly(DL-lactic-co-glycolic acid) scaffolds with controlled range of pore sizes. **Polymer Degradation and Stability**, v.87, p. 487-493, 2004.

O'SHEA, T. M; Miao, X. Bilayered Scaffolds for Osteochondral Tissue Engineering, **Tissue Engineering: Part B**. v.14 (4), 2008.

VALLET-REGÍ, M.; Rodríguez-Lorenzo, L. M.; Salinas, A. J. Synthesis and Characterization of Calcium Deficient Apatite. **Solid State Ionics**, v.101-103, p.1279-1285, 1997.

VOLKMER, T. M. **Obtenção e Caracterização de Hidroxiapatita Porosa pelo Método Gel-casting de Espumas para uso como Implantes.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2006.

WILLIAMS, D. F. **Definitions in Biocompatibility.** N. Amsterdam: CSR Press, v.1, 1987.

WILSON, J.; Yli-Urpo, A.; Happonen, R-P. Bioactive Glasses: Clinical Applications. In: HENCH, L.L., Wilson, J. (eds), **An Introduction to Bioceramics**, 1 ed., capítulo 4, Gainesville, USA, World Scientific, 1993.

YANG, S., et al. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part II. Rapid Prototyping Techniques; **Tissue Engineering**. 8 (1), 2002.

YUNOS, D. M.; Bretcanu, O.; Boccaccini, A. R. Polymer-bioceramic composites for tissue engineering scaffolds, **J. Mater Sci**, v. 43, p. 4433-4442, 2008.

ZHANG, R.; Ma, P. X. Processing of polymer scaffolds: Phase separation. In: ATALA, A.; Lanza, R. (eds), **Methods of Tissue Engineering**. Academic Press, San Diego, 715, 2001.

ZORZI, J. E. **Produção de peças de cerâmica avançada com perfil complexo.** Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil, 2001.